



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**GABRIEL ANGELO DE AQUINO**

**EFEITO CICATRIZANTE DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO EM MODELO ANIMAL DE  
LESÃO POR PRESSÃO ASSOCIADO ÀS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E  
NEUROQUÍMICAS**

**FORTALEZA**

**2021**

GABRIEL ANGELO DE AQUINO

EFEITO CICATRIZANTE DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO EM MODELO ANIMAL DE  
LESÃO POR PRESSÃO ASSOCIADO ÀS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E  
NEUROQUÍMICAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Neuropsicofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- A669e Aquino, Gabriel Angelo de.  
Efeito cicatrizante do ácido alfa-lipóico em modelo animal de lesão por pressão associado às alterações comportamentais e neuroquímicas / Gabriel Angelo de Aquino. – 2021.  
112 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos.
1. ácido lipóico. 2. lesão por pressão. 3. camundongos. 4. cicatrização. 5. depressão. I. Título.  
CDD 615.1
-

GABRIEL ANGELO DE AQUINO

EFEITO CICATRIZANTE DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO EM MODELO ANIMAL DE  
LESÃO POR PRESSÃO ASSOCIADO ÀS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E  
NEUROQUÍMICAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia. Área de concentração: Neuropsicofarmacologia.

Aprovada em: 29/11/2021.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Caren Nádia Soares Sousa (Coorientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Solange Gurgel Alexandre  
Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC)

**A minha mãe, Vilani Aquino.**

Por ser meu maior exemplo de força e perseverança.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Vilani Aquino, pelo apoio incondicional em todas as minhas decisões, pela paciência e compreensão nos momentos de dificuldade durante minha caminhada, pelo exemplo de garra e de pessoa de boa índole que me ensinou e me ensina todos os dias como ser uma pessoa melhor. Minha eterna gratidão por estar comigo em tudo desde o princípio. À minha família, pela paciência e compreensão nos muitos momentos em que estive ausente e também pela confiança que sempre foi depositada em mim.

À meu namorado, Iago Costa, pela companhia acolhedora e pelo conforto nas horas de sufoco, pela paciência e compreensão nos momentos que mais precisei, sou-lhe eternamente grato.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Silvânia Vasconcelos, por ter me acolhido tão prontamente e por todos os ensinamentos, pela confiança que foi depositada e por todas as oportunidades recebidas. Serei externamente grato.

As professoras Caren, Kalyne e Solange pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões. Em especial a Profa Kalyne, pelo auxílio no desenvolvimento da tecnologia utilizada no estudo. A Profa Caren, por sempre acreditar no meu potencial e no meu estudo, por todos os ensinamentos compartilhados e o apoio na realização dos experimentos.

Aos meus amigos do Laboratório de Neuropsicofarmacologia, em especial o Manuel Alves, Letícia Régia e Naiara Ximenes, por todo o apoio nos experimentos realizados, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas, sem vocês eu não teria conseguido.

Aos meus amigos e parceiros de trabalho do curso de Odontologia da UFC, Nara Raquel, Alain Peixoto, Elizabeth Feitosa, Helaine Cristina, Júlio César, Laís Bastos e Maria Gorete, pela compreensão nos meus momentos de ausência, pela força e apoio na reta final do mestrado.

À Universidade Federal do Ceará, pelo apoio financeiro e estrutural fornecido para a realização da pesquisa.

A minha gratidão a todos!

“Não considere nenhuma prática como imutável. Mude e esteja pronto a mudar novamente. Não aceite verdade eterna. Experimente.” (B. F. Skinner)

## RESUMO

Um desfecho muito recorrente em pacientes de longa permanência em hospitais ou mesmo no cuidado domiciliar que estão restritos ao leito é o aparecimento de lesões por pressão. Além de elevarem os custos do tratamento e o tempo de permanência do usuário nos serviços de saúde, as LP causam sofrimento físico e emocional. Esse desgaste gerado tem sido sugerido como um fator relacionado com o desenvolvimento de quadros depressivos, um transtorno psiquiátrico grave e incapacitante. Nesse sentido, substâncias com atividade antioxidante e anti-inflamatória estão sendo discutidas como novas formas de tratamento e cicatrização precoce de uma LP. Assim, estudos recentes tem buscado demonstrar o papel cicatrizante do ácido alfa-lipóico (ALA) baseado nessas ações. Dessa forma, o presente estudo se propôs a investigar o efeito cicatrizante da aplicação tópica de ALA em modelo de lesão por pressão animal associado às alterações comportamentais e neuroquímicas, objetivando desenvolver uma nova perspectiva terapêutica para a cicatrização de LP e assim evitar suas complicações. Para o desenvolvimento do estudo foram utilizados camundongos Swiss machos (25-30g), divididos nos seguintes grupos experimentais: controle, SHAM, creme base, creme ALA e Hidrogel com Alginato (fármaco referência), os quais, durante 4 dias consecutivos foram submetidos ao ciclo de isquemia/reperusão (I/R), através da colocação de dois imãs na pele da região dorsal. Os animais tiveram suas LP tratadas durante 5 dias por via tópica com creme ALA ou com Hidrogel com Alginato e filme de poliuretano como cobertura secundária. Os animais do grupo controle não tiveram a indução da lesão, os do grupo creme base receberam somente o veículo do ALA e os do grupo SHAM tiveram a indução da lesão, mas não receberam nenhum tratamento tópico. Os animais foram submetidos aos testes comportamentais: campo aberto, borrifagem de sacarose, suspensão de cauda e interação social, seis horas após a aplicação do tratamento tópico nos dias 1 e 5 de tratamento. Imediatamente após os testes comportamentais os animais foram eutanasiados por rápida decapitação e seu córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC), a lesão/cicatriz foram removidos e o plasma coletado para a determinação da atividade da enzima Mieloperoxidase (MPO). Somente a lesão/cicatriz foi utilizada para determinar a concentração da citocina TNF- $\alpha$  e para a realização da avaliação histopatológica. As fotos da lesão foram obtidas no dia 1 e 5 de tratamento. Já o peso corporal foi mensurado no início do protocolo e no fim dos tratamentos. No teste de campo aberto, o grupo SHAM demonstrou uma redução do número de travessias, enquanto todos os tratamentos reduziram esse efeito. Os animais do SHAM demonstraram um aumento no tempo de imobilidade no teste de suspensão da cauda, enquanto todos os tratamentos reduziram esse efeito. No teste de borrifagem de sacarose, o grupo SHAM mostrou aumento da latência para grooming e diminuição do número e tempo de grooming, enquanto o creme ALA minimizou o efeito em todos os parâmetros, os outros tratamentos só tiveram efeito de minimização sobre o número e tempo de grooming. Além disso, os animais do SHAM mostraram uma redução importante da interação social, enquanto todos os tratamentos conseguiram minimizar esse efeito. Em suma, os comportamentos depressivos símile que foram mitigados devido ao efeito cicatrizante/anti-inflamatório dos tratamentos foram a redução das travessias no campo aberto, o aumento de imobilidade na suspensão de cauda; aumento da latência, diminuição do número e tempo de grooming na borrifagem de sacarose e redução da interação social. Já no quesito de variação de peso, foi revelado que a indução da LP leva a redução do peso dos animais e nenhum tratamento foi capaz de reduzir. No que diz respeito a atividade enzimática de MPO, o grupo SHAM também obteve aumento do parâmetro avaliado em CPF, HC, plasma e lesão, e os tratamentos foram capazes de minimizar esse efeito em todos os tecidos investigados. Na avaliação de TNF- $\alpha$  da lesão, o grupo SHAM causou um aumento na concentração e os tratamentos foram capazes de reduzir esse efeito. Além disso, sobre os efeitos cicatriciais, houve a redução da área e o aumento da contração da lesão. Nos parâmetros histológicos, os tratamentos foram de capazes de reduzir os



escores inflamatórios causados pela LP, mas somente o creme ALA foi capaz de induzir a angiogênese. Em conjunto esses dados evidenciam que o tratamento tópico com creme ALA possui ação cicatrizante em LP e que esse tratamento local parece contribuir para uma ação antidepressiva indireta.

**Palavras-chave:** ácido lipóico; lesão por pressão; camundongos; cicatrização; depressão; inflamação.

## ABSTRACT

### **WOUND HEALING EFFECT OF ALPHA-LIPOIC ACID IN ANIMAL MODEL OF PRESSURE INJURY ASSOCIATED WITH BEHAVIORAL AND NEUROCHEMICAL CHANGES**

The development of a Pressure Injury (PI) is a very recurrent outcome in long-stay patients in hospitals or even in-home care who are bedridden. Besides raising the costs of treatment and the length of stay of the user in health services, PIs also cause suffering. This wear generated by a PI has been suggested to establish its relationship with the development of depression, a severe and disabling psychiatric disorder. In this sense, substances with antioxidant and anti-inflammatory activity are being discussed as new forms of treatment and early healing of a PI. Thus, recent studies have sought to demonstrate the healing role of alpha-lipoic acid (ALA) in skin lesions. That way, the present study aimed to investigate the wound healing effect of the topical application of ALA in an animal model of pressure injury associated with behavioral and neurochemical changes. We aimed to investigate a new therapeutic perspective for PI healing and avoid its complications. For the development of the study, we used male Swiss mice (25-30g) and separated them into the following experimental groups: control, SHAM, vehicle, ALA, and Hydrogel with Alginate. All subjects were submitted to the ischemia/reperfusion cycle (I/R) for 4 consecutive days, by placing two magnets on the skin of the dorsal region. The animals had their PI treated for 5 days topically with ALA cream or Hydrogel with Alginate and polyurethane film in the association. The control group did not have lesion induction. The vehicle group received only the ALA vehicle, and the SHAM group had the lesion-induced but received no topical treatment. The animals were submitted to the following behavioral tests: open field, splash, tail suspension, and social interaction, six hours after application of the topical treatment on days 1 and 5 of treatment. Immediately after the behavioral tests, the animals were euthanized by decapitation and their prefrontal cortex (CPF), hippocampus (HC), lesion/scar were removed, and plasma was collected for the determination of Myeloperoxidase (MPO) enzyme activity. Only the lesion/scar was used to determine the concentration of the cytokine TNF- $\alpha$ . The area of the lesion or scar was also removed for histopathological evaluation. Photos of the lesion were taken on days 1 and 5 of treatment. The body weight was measured at the beginning of the protocol and the end of the treatments. In the open field test, the SHAM group demonstrated a reduction in the number of crossings, while all treatments reversed this alteration. SHAM animals demonstrated an increase in immobility time in the tail suspension test. All treatments reversed this alteration. In the sucrose spray test, the SHAM group showed increased latency for grooming and decreased number and time of grooming. On the other hand, ALA cream reversed the alteration in all parameters. The other treatments only had a reversal effect on the number and time of grooming. Furthermore, SHAM animals showed a significant reduction in social interaction while all treatments reversed this modification. Furthermore, SHAM animals showed a reduction in social interaction, while all treatments managed to minimize this behavioral alteration. Concerning the behavioral assessment, the depressive-like behaviors that were mitigated due to the healing/anti-inflammatory effect of the treatments can be highlighted by: the reduction of crossings in the open field, the increase of immobility in the tail suspension; increased latency, decreased number, and time of grooming when spraying sucrose in the mice's back, and reduced social interaction. In terms of weight variation, it was revealed that PI induction leads to a reduction in the weight of animals, on the other hand, no treatment was able to reduce. Concerning the enzymatic activity of MPO, the SHAM group showed an increase in the parameter evaluated in CPF, HC, plasma, and lesion, and the treatments reversed this effect in all tissues investigated. When assessing the TNF- $\alpha$  in the lesion, the SHAM group caused an increase in the

concentration. All the treatments reversed this effect. About the healing effects, treatments were able to reduce the area and increase the contraction of the lesion. About the histological parameters, all treatments reduced inflammatory scores caused by PI, but only ALA was able to induce angiogenesis. Altogether, these data show that the topical treatment with ALA has a wound healing activity on PI and that this local treatment can exert an indirect antidepressant action.

**Keywords:** lipoic acid; pressure injury; mice; wound healing; depression; inflammation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Regiões do corpo mais comuns para o surgimento de LP.....	20
Figura 2	– Capilares com e sem pressão.....	21
Figura 3	– Intensidade da pressão nas regiões corporais.....	22
Figura 4	– Relação entre a intensidade e duração de pressão.....	23
Figura 5	– Forças de fricção e cisalhamento.....	24
Figura 6	– Estrutura química dos isômeros ópticos de ALA.....	29
Figura 7	– Mecanismo do aumento de permeabilidade da BHE.....	32
Figura 8	– Procedimento experimental sobre a colocação dos ímãs magnéticos na pele do animal.....	40
Figura 9	– Filme transparente de poliuretano.....	42
Figura 10	– Hidrogel com alginato.....	42
Figura 11	– Protocolo Experimental.....	44
Figura 12	– Teste de campo aberto.....	46
Figura 13	– Teste de Suspensão de cauda.....	47
Figura 14	– Teste de borrifagem de sacarose.....	47
Figura 15	– Teste de Interação Social.....	48
Figura 16	– Alterações comportamentais no teste de campo aberto associadas a modelo de lesão por pressão em camundongos.....	53
Figura 17	– Alterações no comportamento depressivo-símile associadas ao modelo de lesão por pressão em camundongos submetidos ao teste de suspensão da cauda.....	55
Figura 18	– Alterações no comportamento depressivo-símile associadas ao modelo de lesão por pressão em camundongos submetidos ao teste de borrifagem de sacarose.....	57
Figura 19	– Alterações no comportamento depressivo-símile associadas ao modelo de lesão por pressão em camundongos submetidos ao teste de interação social.....	59
Figura 20	– Efeitos da indução do modelo de lesão por pressão sobre o peso corporal de camundongos.....	60
Figura 21	– Alterações na atividade de mieloperoxidase em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos do modelo de lesão por pressão.....	61
Figura 22	– Alterações na atividade de mieloperoxidase no plasma de camundongos do modelo de lesão por pressão.....	63
Figura 23	– Alterações na atividade de mieloperoxidase nas áreas de feridas de camundongos do modelo de lesão por pressão.....	64

Figura 24 – Alterações nas concentrações de TNF- $\alpha$ em pele de camundongos do modelo de lesão por pressão.....	65
Figura 25 – Efeito dos tratamentos sobre a área da ferida (cm <sup>2</sup> ) no modelo experimental de lesão por pressão.....	66
Figura 26 – Efeito dos tratamentos sobre a porcentagem de contração da ferida no modelo experimental de lesão por pressão.....	67
Figura 27 – Fotografias do efeito dos tratamentos sobre a cicatrização em diferentes dias no modelo experimental de lesão por pressão.....	68
Figura 28 – Efeito dos tratamentos sobre os scores histopatológicos de feridas no modelo experimental de lesão por pressão.....	69
Figura 29 – Fotomicrografias representativas de cortes histológicos da ferida de camundongos submetidos ao modelo de lesão por pressão e seus tratamentos.....	71

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação dos estágios/categoria de Lesão por pressão aceitas pela NPUAP.....	16
Quadro 2 – Classificações adicionais aceita pela NPUAP.....	18
Quadro 3 – Quantitativo de animais segundo a necessidade para cada teste.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALA	Ácido $\alpha$ -lipóico
BHE	Barreira Hematoencefálica
CEUA	Comissão de Ética em Uso de Animais
cm	Centímetros
CPF	Córtex pré-frontal
DTNB	Reagente de Ellman
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
FC	Fatores de crescimento
FGF	Fator de crescimento fibroblástico
g	Grama
GSH	Glutationa reduzida
h	Hora
HC	Hipocampo
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
i.p.	Intraperitoneal
I/R	Isquemia/Reperusão
Kg	Quilograma
LP	Lesão por pressão
LP	Lipopolissacarídeo
Mcg	Micrograma
MEC	Matriz Extra Celular
mg	Miligrama
MMP	Metaloproteinases de matriz
min	Minutos
ml	Mililitro
MPO	Mieloperoxidase
NMDA-R	Receptor de N-metil D-Aspartato
NO	Óxido nítrico

NO <sub>2</sub>	Dióxido de nitrogênio
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Nitrito
Nm	Nanômetro
NPIAP	<i>National Pressure Injury Advisory Panel</i>
NPUAP	<i>National Pressure Ulcer Advisory Panel</i>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ânion superóxido
OH <sup>-</sup>	Radical hidroxila
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
pH	Potencial de hidrogênio
rpm	Rotações por minuto
RRP	Receptores de Reconhecimento e Padrões
SNC	Sistema Nervoso central
SNVS	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
TGF-β	Fator de transformação do crescimento beta
TGF-α	Fator de transformação do crescimento alfa
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
μL	Microlitro
UP	Úlcera por pressão
UTI	Unidade de terapia intensiva
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
WHO	Organização mundial de saúde



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1</b>	<b>LESÃO POR PRESSÃO .....</b>	<b>15</b>
<i>1.1.1.</i>	<i>Definição .....</i>	<i>15</i>
<i>1.1.2.</i>	<i>Classificação da Lesão por pressão (Estagiamento).....</i>	<i>15</i>
<i>1.1.3.</i>	<i>Epidemiologia.....</i>	<i>18</i>
<i>1.1.4.</i>	<i>Etiologia .....</i>	<i>19</i>
<i>1.1.5.</i>	<i>Cicatrização.....</i>	<i>24</i>
<i>1.1.4.1</i>	<i>Fase de hemostasia .....</i>	<i>25</i>
<i>1.1.4.2</i>	<i>Fase Inflamatória.....</i>	<i>25</i>
<i>1.1.4.3</i>	<i>Fase proliferativa.....</i>	<i>26</i>
<i>1.1.4.4</i>	<i>Fase de remodelamento .....</i>	<i>27</i>
<i>1.1.6.</i>	<i>Tratamento .....</i>	<i>27</i>
<b>1.2</b>	<b>ÁCIDO ALFA-LIPÓICO.....</b>	<b>28</b>
<b>1.3</b>	<b>Lesão por pressão e suas relações com os distúrbios neuroquímicos na depressão.....</b>	<b>30</b>
<b>2</b>	<b>RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>36</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1</b>	<b>MODELO DE INDUÇÃO DA LESÃO POR PRESSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2</b>	<b>ANIMAIS.....</b>	<b>40</b>
<b>4.3</b>	<b>MATERIAL DAS COBERTURAS .....</b>	<b>41</b>
<i>4.3.1.</i>	<i>Filme transparente de poliuretano .....</i>	<i>41</i>
<i>4.3.2.</i>	<i>Hidrogel com alginato .....</i>	<i>41</i>
<i>4.3.3.</i>	<i>Ácido alfa-Lipóico.....</i>	<i>42</i>
<i>4.3.4.</i>	<i>Formulação farmacêutica do Ácido alfa-Lipóico.....</i>	<i>42</i>
<b>4.4</b>	<b>DESENHO E PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>43</b>
<b>4.5</b>	<b>TESTES COMPORTAMENTAIS.....</b>	<b>46</b>
<i>4.5.1.</i>	<i>Teste do Campo Aberto .....</i>	<i>46</i>
<i>4.5.2.</i>	<i>Teste Suspensão de Cauda.....</i>	<i>46</i>

4.5.3.	<i>Teste de Borrifagem de Sacarose</i> .....	47
4.5.4.	<i>Teste de Interação Social</i> .....	48
4.6	AVALIAÇÃO DA VARIAÇÃO DE PESO .....	48
4.7	PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS NAS ÁREAS CEREBRAIS, NO PLASMA E NA LESÃO... 49	
4.7.1.	<i>Determinação dos níveis de TNF-<math>\alpha</math></i> .....	49
4.7.2.	<i>Atividade da enzima mieloperoxidase</i> .....	49
4.8	AVALIAÇÃO DO EFEITO CICATRIZANTE.....	50
4.8.1.	<i>Análise macroscópica</i> .....	50
4.8.1.1	<i>Determinação da área da lesão por pressão de planimetria</i> .....	50
4.8.1.2	<i>Contração da área da lesão</i> .....	50
4.8.2.	<i>Análise Histopatológica</i> .....	50
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
5	RESULTADOS .....	52
5.1	EFEITOS SOBRE O COMPORTAMENTO.....	52
5.1.1.	<i>Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade locomotora e exploratória</i> .....	52
5.1.2.	<i>Efeitos da lesão por pressão sobre o comportamento depressivo-símile</i> .....	54
5.2	EFEITOS SOBRE O PESO CORPORAL.....	59
5.3	EFEITOS DA LESÃO POR PRESSÃO EM PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS NEURAI, PLASMÁTICO E TEGUMENTARES.....	60
5.3.1	<i>Atividade de Mieloperoxidase</i> .....	60
5.3.1.1	<i>Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade de mieloperoxidase em áreas cerebrais</i> .....	60
5.3.1.2	<i>Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade de mieloperoxidase no plasma</i> .....	62
5.3.1.3	<i>Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade de mieloperoxidase nas feridas</i> .....	63
5.4	CONCENTRAÇÃO DE TNF-A.....	64
5.4.1.	<i>Efeitos da lesão por pressão sobre a concentração de TNF-<math>\alpha</math> na lesão</i> .....	64
5.5	EFEITOS SOBRE O PROCESSO CICATRICIAL .....	65
5.5.1.	<i>Efeitos da lesão por pressão e dos tratamentos tópicos sobre a área e porcentagem de contração da ferida</i> .....	65
5.5.2.	<i>Efeitos da lesão por pressão e dos tratamentos tópicos sobre os parâmetros histopatológicos</i> .....	69
6	DISCUSSÃO.....	73
7	CONCLUSÃO .....	88

<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>89</b>
<b>ANEXO A – DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....</b>	<b>107</b>

## **1 INTRODUÇÃO**

### **1.1 Lesão por pressão**

#### ***1.1.1. Definição***

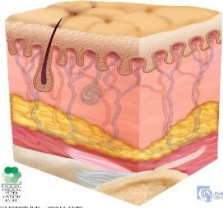
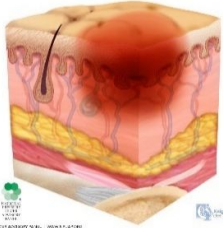
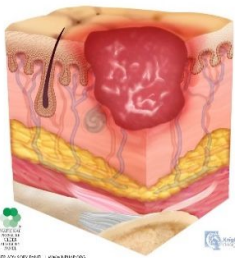

Um desfecho muito recorrente em pacientes de longa permanência em hospitais ou mesmo no cuidado domiciliar que estão restritos ao leito é o aparecimento de Lesão por Pressão (LP). A LP é um agravo situado na pele e/ou tecidos moles subjacentes, comumente sobre uma proeminência óssea ou relacionada ao uso de dispositivo médico ou a outro artefato (NPUAP, 2016). Essas lesões poderão se mostrar em pele íntegra ou como úlcera aberta, na maioria das vezes dolorosa. A incidência aumenta proporcionalmente à combinação de fatores de risco: idade avançada, restrição ao leito, obesidade, hipotensão, desnutrição, incontinência, anasarca, sepse, exposição da pele à fricção, cisalhamento e umidade (DOMANSKY; BORGES, 2014).



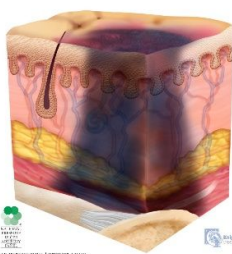
Até o ano de 2016 o termo utilizado para caracterizar esse tipo de ferida era úlcera por pressão (UP), mas a *National Pressure Ulcer Advisory Panel* (NPUAP), atualmente nomeada de *National Pressure Injury Advisory Panel* (NPIAP), optou por substituir a denominação antiga, úlcera por pressão, utilizada para classificar o dano provocado pela pressão aos tecidos moles, pela expressão "lesão por pressão". O termo "lesão" mostrou-se mais inclusivo para todos os seis estágios (SOBEST, 2016).

#### ***1.1.2. Classificação da Lesão por pressão (Estagiamento)***

Existem diferentes classificações para as LP, a mais utilizada atualmente é a da NPUAP (2016). Com seis estágios e dois adicionais, essa classificação leva em conta o grau de comprometimento tecidual (Quadro 1 e 2).

Quadro 1- Classificação dos estágios/categoria de Lesão por pressão aceitas pela NPUAP

<p>Healthy Skin – Lightly Pigmented</p> 	<p><b>Pele sem lesão</b></p>
<p>Stage 1 Pressure Injury – Lightly Pigmented</p> 	<p><b>Lesão por Pressão Estágio 1: Pele íntegra com eritema que não embranquece</b>  Pele íntegra com área localizada de eritema que não embranquece e que pode parecer diferente em pele de cor escura. Presença de eritema que embranquece ou mudanças na sensibilidade, temperatura ou consistência (endurecimento) podem preceder as mudanças visuais. Mudanças na cor não incluem descoloração púrpura ou castanha; essas podem indicar dano tissular profundo.</p>
<p>Stage 2 Pressure Injury</p> 	<p><b>Lesão por Pressão Estágio 2: Perda da pele em sua espessura parcial com exposição da derme</b>  Perda da pele em sua espessura parcial com exposição da derme. O leito da ferida é viável, de coloração rosa ou vermelha, úmido e pode também apresentar-se como uma bolha intacta (preenchida com exsudato seroso) ou rompida. O tecido adiposo e tecidos profundos não são visíveis. Tecido de granulação, esfacelo e escara não estão presentes. Essas lesões geralmente resultam de microclima inadequado e cisalhamento da pele na região da pélvis e no calcâneo. Esse estágio não deve ser usado para descrever as lesões de pele associadas à umidade, incluindo a dermatite associada à incontinência (DAI), a dermatite intertriginosa, a lesão de pele associada a adesivos médicos ou as feridas traumáticas (lesões por fricção, queimaduras, abrasões).</p>
<p>Stage 3 Pressure Injury</p> 	<p><b>Lesão por Pressão Estágio 3: Perda da pele em sua espessura total</b>  Perda da pele em sua espessura total na qual a gordura é visível e, frequentemente, tecido de granulação e epíbolo (lesão com bordas enroladas) estão presentes. Esfacelo e /ou escara pode estar visível. A profundidade do dano tissular varia conforme a localização anatômica; áreas com adiposidade significativa podem desenvolver lesões profundas. Podem ocorrer descolamento e túneis. Não há exposição de fáscia, músculo, tendão, ligamento, cartilagem e/ou osso. Quando o esfacelo ou</p>

	<p>escara prejudica a identificação da extensão da perda tissular, deve-se classificá-la como Lesão por Pressão Não Classificável.</p>
<p>Stage 4 Pressure Injury</p> 	<p><b>Lesão por pressão Estágio 4: Perda da pele em sua espessura total e perda tissular</b></p> <p>Perda da pele em sua espessura total e perda tissular com exposição ou palpação direta da fáscia, músculo, tendão, ligamento, cartilagem ou osso. Esfacelo e /ou escara pode estar visível. Epíbolo (lesão com bordas enroladas), descolamento e/ou túneis ocorrem frequentemente. A profundidade varia conforme a localização anatômica. Quando o esfacelo ou escara prejudica a identificação da extensão da perda tissular, deve-se classificá-la como Lesão por Pressão Não Classificável.</p>
<p>Unstageable Pressure Injury - Dark Eschar</p> 	<p><b>Lesão por Pressão Não Classificável: Perda da pele em sua espessura total e perda tissular não visível.</b></p> <p>Perda da pele em sua espessura total e perda tissular na qual a extensão do dano não pode ser confirmada porque está encoberta pelo esfacelo ou escara. Ao ser removido (esfacelo ou escara), Lesão por Pressão em Estágio 3 ou Estágio 4 ficará aparente. Escara estável (isto é, seca, aderente, sem eritema ou flutuação) em membro isquêmico ou no calcâneo não deve ser removida.</p>
<p>Deep Tissue Pressure Injury</p> 	<p><b>Lesão por Pressão Tissular Profunda: descoloração vermelha escura, marrom ou púrpura, persistente e que não embranquece.</b></p> <p>Pele intacta ou não, com área localizada e persistente de descoloração vermelha escura, marrom ou púrpura que não embranquece ou separação epidérmica que mostra lesão com leito escurecido ou bolha com exsudato sanguinolento. Dor e mudança na temperatura frequentemente precedem as alterações de coloração da pele. A descoloração pode apresentar-se diferente em pessoas com pele de tonalidade mais escura. Essa lesão resulta de pressão intensa e/ou prolongada e de cisalhamento na interface osso-músculo. A ferida pode evoluir rapidamente e revelar a extensão atual da lesão tissular ou resolver sem perda tissular. Quando tecido necrótico, tecido subcutâneo, tecido de granulação, fáscia, músculo ou outras estruturas subjacentes estão visíveis, isso indica lesão por pressão com perda total de tecido (Lesão por Pressão Não Classificável ou Estágio 3 ou Estágio 4). Não se deve utilizar a categoria Lesão por Pressão Tissular Profunda (LPTP) para descrever condições vasculares, traumáticas, neuropáticas ou dermatológicas.</p>

Quadro 2 – Classificações adicionais aceita pela NPUAP

<p><b>Lesão por Pressão Relacionada a Dispositivo Médico</b> Essa terminologia descreve a etiologia da lesão. A Lesão por Pressão Relacionada a Dispositivo Médico resulta do uso de dispositivos criados e aplicados para fins diagnósticos e terapêuticos. A lesão por pressão resultante geralmente apresenta o padrão ou forma do dispositivo. Essa lesão deve ser categorizada usando o sistema de classificação de lesões por pressão.</p>
<p><b>Lesão por Pressão em Membranas Mucosas</b> A lesão por pressão em membranas mucosas é encontrada quando há histórico de uso de dispositivos médicos no local do dano. Devido à anatomia do tecido, essas lesões não podem ser categorizadas.</p>

Fonte: Pressure Ulcer Stages Revised – NPUAP (2016)

### ***1.1.3. Epidemiologia***

A incidência de LP é um indicador do grau de qualidade nos serviços prestados em equipamentos de saúde, onde a assistência deve ocorrer de forma segura, adequada e efetiva, sendo este um indicador de qualidade da assistência e considerado um evento adverso que pode ocorrer durante o cuidado em saúde, este indicador serve para orientar principalmente as medidas de prevenção à lesão.

Apesar de ser um dado bem variável e que sofre a influência de alguns fatores, como por exemplo o ambiente clínico e as características do paciente, foi visto que em pacientes agudamente hospitalizados ou naqueles que necessitam de cuidados institucionais de longo prazo, as LP tendem a ocorrer com maior frequência (SANDERS; PINTO, 2012; NPUAP, 2016).

Em estudos tanto internacionais, quanto nacionais, a taxa de incidência varia consideravelmente. Mas, dados da população norte-americana mostram que a incidência varia de acordo com a população e os locais de assistência e estão entre 3% e 30%. Já os estudos nacionais mais atuais apontam uma incidência média que varia de 25% a 40% em pacientes hospitalizados (GEOVANINI, 2014; CARVALHO et al., 2020). Já em relação à incidência em cuidado intensivo, essas taxas aumentam, estudos nacionais apontaram valores que variam de 20% a 62 % em média (TEIXEIRA et al., 2017).

Outro estudo aponta uma informação importante, em mais de 90% dos casos, a LP não é a causa original das internações, e sim outras comorbidades que tem influência no aparecimento das LP. Dados norte-americanos reforçam essa problemática mostrando um aumento no número de internações envolvendo este tipo de lesão em aproximadamente 80%

entre os anos de 1993 e 2006 (BERLOWITZ, 2016).

No Brasil, de acordo com o Relatório Nacional de Incidentes relacionados à Assistência à Saúde, foram notificados ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) no período de janeiro/2014 a julho/2017, dos 134.501 incidentes notificados, 23.722 (17,6%) corresponderam às notificações de lesão por pressão, sendo então o terceiro tipo de evento mais frequentemente notificado pelos Núcleos de Segurança dos Pacientes dos serviços de saúde do país. Quanto aos óbitos notificados ao SNVS (766), no período de janeiro de 2014 a julho de 2017, 34 pacientes foram a óbito devido à lesão por pressão (ANVISA, 2017).

Ainda, de acordo com a Anvisa, no mais atual Relatório de Incidentes relacionados à Assistência à Saúde no cenário brasileiro, nos meses de setembro de 2020 a agosto de 2021, a LP é o tipo de incidente com maior frequência de notificações. Já no tocante a eventos mais graves, chamados de “never events” (eventos que nunca deveriam ocorrer em serviços de saúde), foram notificados cerca de 7.006, sendo 5.004 (71,42%) decorrentes de lesão por pressão estágio 3 e 1.719 (24,53%), resultantes de lesão por pressão estágio 4, ou seja, quase a totalidade dos casos graves de eventos adversos. O cenário, no estado do Ceará, mostra a mesma tendência do cenário nacional, sendo a LP o tipo de incidente com maior frequência de notificações e os “never events” de lesão por pressão estágio 3, 532 (68,91%), e estágio 4, 235 (30,44%), sendo assim a maioria dos casos notificados (ANVISA, 2021).

Com esse alto índice de LP nos serviços de saúde, vale salientar que o desenvolvimento de condutas que objetivem a prevenção deve ser a meta de qualquer serviço, sabe-se que existe a questão dos altos custos envolvidos no cuidado e tratamento de LP. Um estudo que avaliou o prontuário de 60 pacientes de um hospital de médio porte no período de um semestre demonstrou que média de custo semestral do tratamento de LP, por paciente é de R\$ 1.886,00 e o custo total semestral de todos os pacientes foram de R\$ 113.186,00, dados que contribuem para a reflexão do planejamento adequado da assistência, visando o direcionamento do uso racional e eficiente de recursos muitas vezes escassos nos serviços de saúde (DONOSO et al., 2019).

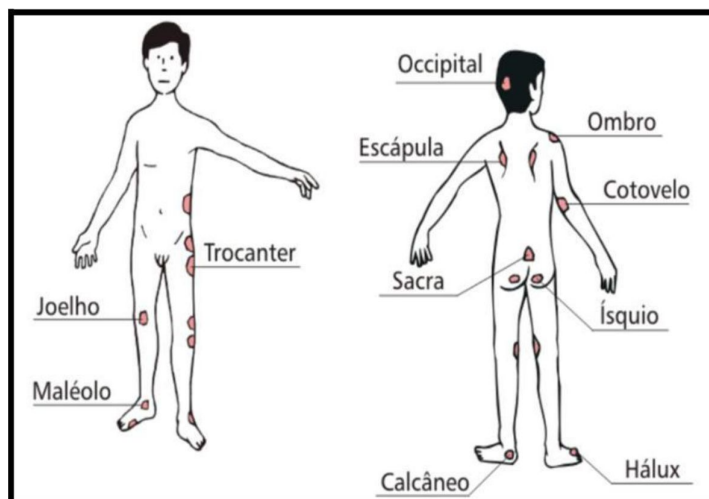
#### ***1.1.4. Etiologia***

As LP se apresentam em diversas regiões corporais e, conforme a congruência dos estudos sobre o tema, os locais mais acometidos no corpo e que necessitam de maiores cuidados são as regiões do sacro, calcanhares e trocânteres, dentre outros, sendo causadas por uma



combinação de fatores intrínsecos e extrínsecos

Figura 1 – Regiões do corpo mais comuns para o surgimento de LP.



Fonte: Matos (2010).

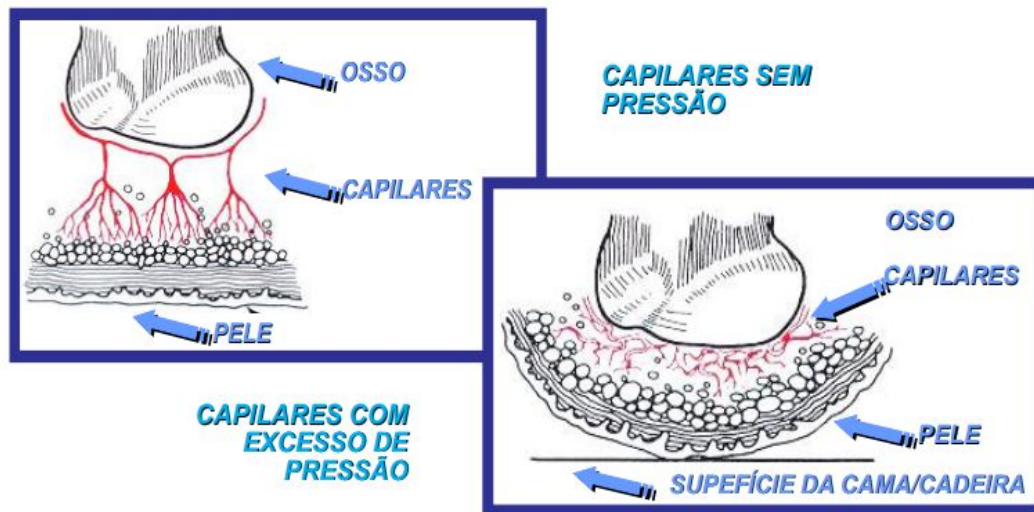
Os ciclos de isquemia e reperfusão são apontados como os principais fatores causais das LP. Todavia, outros fatores são considerados como decisórios na magnitude do dano a ser causado; entre os fatores intrínsecos estão: a idade avançada, estado nutricional desequilibrado, morbidades, desidratação, condições de mobilidade, perda sensorial, alterações de nível de consciência, tolerância tecidual à pressão, pressão arterial diastólica baixa e doenças crônicas como a diabetes e a doença vascular periférica; dentre os fatores extrínsecos estão compressão, cisalhamento, fricção e umidade, intensidade da pressão e duração da pressão exercida sobre o tecido que prejudicam o fornecimento de sangue ao tecido, levando à insuficiência vascular, anóxia tecidual e morte das células, além da falha na organização da equipe em relação ao cuidado prestado ao paciente, falta de orientação ao mesmo e seus familiares e a carência de profissionais nas unidades (HASHIMOTO; KUROSE; KAWAMATA, 2008; BRASIL, 2013).

ALP ocorre quando a pressão intersticial excede a pressão intracapilar, promovendo uma deficiência de perfusão tecidual, o que interfere no transporte de nutrientes ao tecido. Esta situação é mais comum em áreas de proeminências ósseas, pois o osso e a superfície de contato da área exercem uma pressão sobre a pele e partes moles ocasionando a isquemia no local. (WADA; NETO; FERREIRA, 2010)

A repercussão fisiopatológica do excesso de pressão pode ser relacionado a três

fatores: intensidade da pressão, tempo de duração da pressão e tolerância tecidual. A pressão capilar e a pressão de fechamento capilar exercem um importante papel na compreensão da intensidade da pressão. Sabe-se que a pressão terminal capilar arterial é de 30 a 40 mmHg, no final do capilar venoso é de 10 a 14mmg e, na porção média do capilar, é de 25mmHg. A pressão de fechamento capilar é a quantidade mínima de pressão requerida para o colapso capilar que leva à anoxia tecidual, a pressão usual para esse colapso é de 12 a 32 mmHg (PIEPER, 2000).

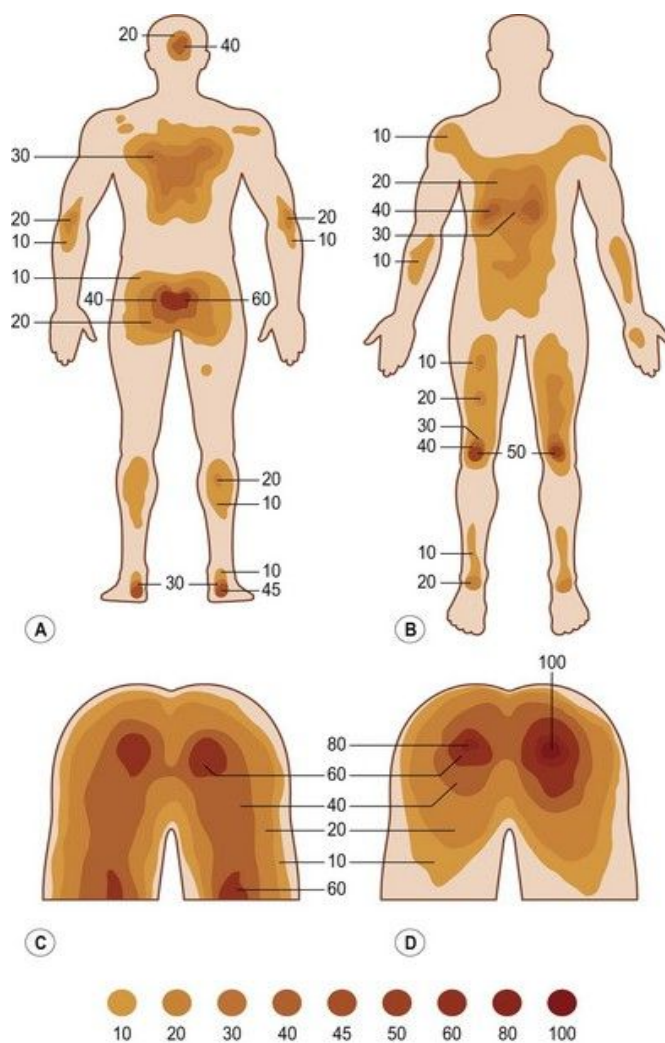
Figura 2 – Capilares com e sem pressão.



Fonte: Caliri (2018).

No dimensionamento da intensidade de pressão que é exercida externamente à pele, a pressão na interface corpo/superfície (colchão ou cadeira) é medida com o paciente sentado e em posição supina. Foi visto nos estudos que a pressão interface obtida nessas posições frequentemente excedem a pressão de fechamento capilar (BRYANT; ROLSTAD, 2001; CALIRI, 2018). Na figura 3, é apresentada a distribuição da pressão em um adulto (valores em mmHg) nas posições supina (A), prona (B), sentado, sem apoio nos pés ou “pés pendurados” (C) e sentado com o apoio nos pés (D).

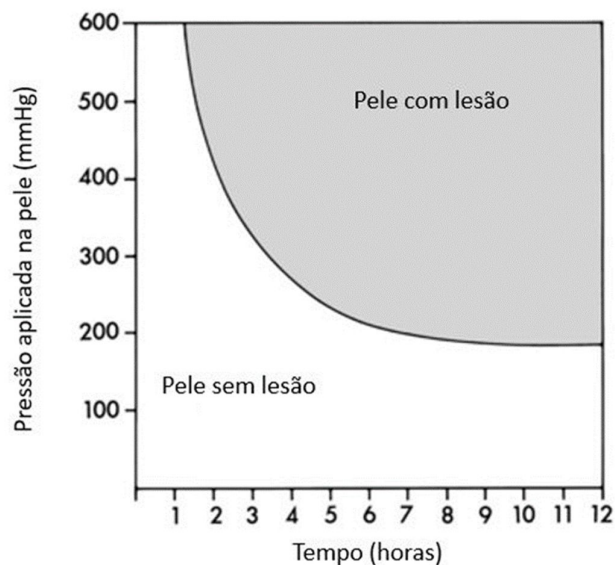
Figura 3 – Intensidade da pressão nas regiões corporais.



Fonte: Lindan, Greenway, Piazza (1965).

A duração de tempo que os tecidos são expostos a pressão é outro fator que deve ser considerado em combinação com a intensidade da pressão. Existe uma conexão inversa entre a duração da intensidade da pressão para o surgimento da isquemia tecidual. Assim, os danos podem ocorrer caso ocorra uma pressão de baixa intensidade durante um longo período de tempo ou uma pressão de alta intensidade durante um curto período de tempo (KOSIAK, 1961).

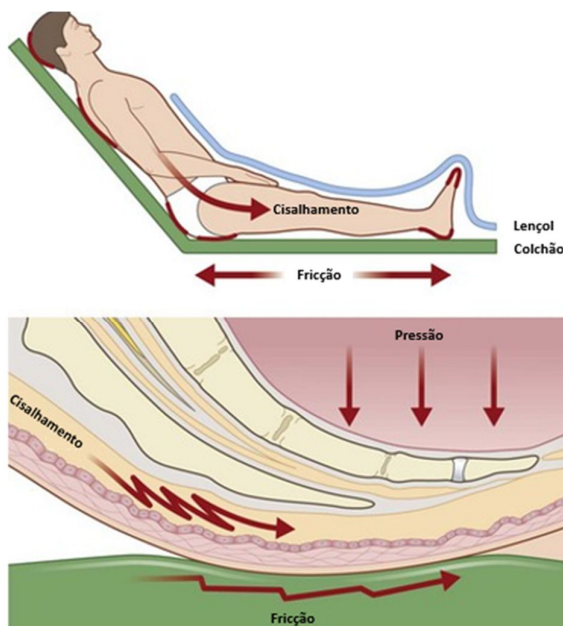
Figura 4 – Relação entre a intensidade e duração de pressão



Fonte: Kosiak (1961).

A tolerância tecidual é o último fator que define o dano causado a pele em razão ao excesso de pressão e é influenciada pela capacidade do tecido e estruturas subjacentes trabalharem juntas para redistribuírem a carga imposta aos tecidos e é influenciada por fatores como, o cisalhamento que é uma força paralela à pele e resulta da gravidade que empurra o corpo para baixo e da fricção entre o paciente e a superfície de suporte, além do microclima que refere-se à temperatura e à umidade. Estudos apontam que o aumento da umidade e da temperatura também propiciam o surgimento das LP. Já o cisalhamento causa a maior parte do dano observado nas LP, se a fricção for isolada, os danos tendem a se restringir à camadas superficiais da pele, derme e epiderme (GALETTO et al., 2019).

Figura 5 – Forças de fricção e cisalhamento.



Fonte: Kwon, Janis (2013).

Decorrente da falta de oxigênio e nutrientes, as células que permanecem íntegras passam a utilizar metabolismo anaeróbico, produzindo lactato e, por conseguinte, desenvolvendo acidose tecidual. (KOSIAK, 1961; KROUSKOP et al., 1978; REDDY; COCHRAN; KROUSKOP, 1981)

Como resultado de sua intensa sensibilidade à anoxia, o sistema linfático também sofre danos, tornando-se ineficiente na retirada de produtos tóxicos intracelulares e intersticiais que se acumulam no local, causando danos as células que resistiram à isquemia. Simultâneo ao processo de hipóxia tecidual, o fluxo sanguíneo reestabelecido durante a reperfusão aumenta o infiltrado inflamatório leucocitário, com neutrófilos predominando no início e, posteriormente, os monócitos se diferenciando em macrófagos. Estes liberam mediadores inflamatórios e espécies reativas de oxigênio. Dessa forma, somados aos danos desenvolvidos na isquemia, a reperfusão gera ainda mais destruição tecidual causando necrose e apoptose (BARRICK; CAMPBELL; OWEN, 1999; JIANG et al., 2011; KROUSKOP et al., 1978; TSUJI et al., 2005).

### ***1.1.5. Cicatrização***

Após a ação dos fatores que contribuem para o desenvolvimento da LP e com o

cessamento da pressão e do processo inflamatório que acontece simultaneamente, o corpo incentiva a restauração da homeostasia anterior à lesão. Isso acontece por conta da regeneração da integridade e função da pele. Para tanto, é requerido um processo multifacetado denominado cicatrização, no qual existem muitos mecanismos que precisam ser melhor elucidados (ABERTO BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

A cicatrização é um processo dinâmico e complexo, de limites não muito distintos, mas sobrepostos no tempo, envolvendo interações entre matriz extracelular, mecanismos celulares e moleculares. Os eventos da cicatrização iniciam-se imediatamente após o dano e são divididos em hemostasia; fase inflamatória; formação do tecido de granulação, com deposição de matriz extracelular (colágeno, elastina e fibras reticulares); e remodelação (OLIVEIRA; DIAS, 2012).

#### *1.1.4.1 Fase de hemostasia*

Essa etapa está relacionada diretamente com a atividade plaquetária e a cascata de coagulação, processo que se inicia logo após o surgimento da ferida. Uma agressão tecidual, as alterações nas células endoteliais, a ruptura de vasos sanguíneos e o extravasamento de seus constituintes incitam compostos vasoativos a promoverem uma vasoconstrição imediata, visando diminuir a perda sanguínea para o espaço extravascular (KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N; ASTER, 2010).

Após o extravasamento sanguíneo, uma cobertura primária composta por fibrina (coágulo) restabelece a hemostase e fornece um ambiente para que as plaquetas secretem fatores de crescimento (FCs), citocinas e elementos da matriz extracelular (MEC); esse coágulo age nas bordas da ferida, diminuindo a perda de sangue e fluidos e cria uma matriz provisória necessária para a migração celular (BARBUL, 2006; DÁRIO, 2008). Os mediadores do processo inflamatório recrutam macrófagos e neutrófilos, que secretam diversos fatores específicos, que regem as fases seguintes do processo de reparação tecidual (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

#### *1.1.4.2 Fase Inflamatória*

Essa fase da cicatrização é caracterizada essencialmente pelo aparecimento e aumento das células inflamatórias no tecido cicatricial. No entanto, a resposta inflamatória tem

origem com a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, favorecendo a quimiotaxia. Neutrófilos são as primeiras células a chegar à ferida, com maior concentração 24 horas após a lesão, e atuam principalmente com sua função fagocítica e produzindo radicais livres que auxiliam na eliminação bacteriana e são gradativamente substituídos por macrófagos (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

Os macrófagos são carregados para a ferida após 48-96 horas do insulto ao tecido, e são as principais células antes dos fibroblastos chegarem e iniciarem a replicação. Têm papel crucial na conclusão do desbridamento começado pelos neutrófilos e sua maior ajuda é a liberação de citocinas e fatores de crescimento, além de auxiliarem na angiogênese, fibroplasia e síntese de matriz extracelular, indispensáveis para a mudança da fase inflamatória para a proliferativa (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

#### *1.1.4.3 Fase proliferativa*

Nesta fase ocorre a reparação do tecido conjuntivo e do epitélio, sendo constituída por três etapas primordiais: angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. Esta fase tem início em torno do quarto dia após a lesão e se prolonga aproximadamente até o término da segunda semana (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; LAWRENCE; DIEGELMANN, 1994).

A angiogênese é induzida pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e é caracterizada pela migração de células endoteliais e formação de capilares, sendo crucial para a cicatrização efetiva (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

O encerramento da fase proliferativa é a construção de tecido de granulação. Os fibroblastos e as células endoteliais são as células imprescindíveis da fase proliferativa. Vale ressaltar que os fibroblastos dos tecidos próximos migram para a lesão. Entretanto precisam ser ativados para atingirem seu estado de quiescência. Um dos fatores de crescimento mais importante na proliferação e estimulação dos fibroblastos é o Fator derivado de plaquetas (PDGF12). Ele ativa os fibroblastos para a formação de colágeno tipo I e posteriormente se transformam em miofibroblastos, que ajudam na contração da ferida (WITTE; BARBUL, 1997; CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007).

#### *1.1.4.4 Fase de remodelamento*

O traço representativo desta fase é a deposição de colágeno de forma estruturada e, por consequência, tem maior relevância clínica. Essa fase se inicia com duas a três semanas após o aparecimento da lesão e pode durar um ano ou mais. O objetivo central do estágio de remodelação é atingir a resistência máxima à tração por meio da reorganização, degradação e ressíntese da matriz extracelular. Assim que a superfície da lesão é recoberta por uma monocamada de queratinócitos, sua migração epidérmica cessa e uma nova epiderme estratificada com uma lâmina basal subjacente é restabelecida desde as bordas da ferida até sua porção interna (MARTIN, 1997).

Com a evolução da cicatrização, o colágeno que é produzido primariamente é mais delgado do que o colágeno presente na pele em situações fisiológicas normais, e tem conformação paralela à pele. Com o tempo, o colágeno primário da cicatrização (colágeno tipo III) é reabsorvido e um colágeno mais denso é gerado e organizado ao longo das linhas de tensão. Essas mudanças se traduzem em incremento da força tênsil da ferida. A organização da nova matriz é um passo crucial da cicatrização. Fibroblastos e leucócitos produzem colagenases que facilitam a lise da matriz antiga. A cicatrização tem sucesso quando há harmonia entre a formação da nova matriz e a lise da matriz anterior, havendo êxito quando a deposição se sobrepõe. Mesmo após um ano de evolução a ferida mostrará um colágeno não tão organizado quanto o da pele que já foi saudável e sua força tênsil jamais retornará a 100%. A área recuperada alcançará apenas em torno de 80% da sua força tênsil anterior e isso acontece após três meses de cicatrização (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; LI; CHEN; KIRSNER, 2007).

#### *1.1.6. Tratamento*

O tratamento das LP efetivo e com uma acurácia de forma mais imediata possível é algo primordial do cuidado de enfermagem, pois a deterioração das LP devido à falta de tratamento correto acarreta desfechos desfavoráveis, como uma infecção (KHOR et al., 2014). Assim, existe um impacto direto na qualidade de vida das pessoas, com reflexo na carga econômica para os pacientes e serviços de saúde, principalmente quando não tratadas ou tratadas de forma inadequada (DEMARRÉ et al., 2015).

O tratamento de uma LP tem uma composição multifatorial, é realizado através de



avaliação diária da pele, tanto para as lesões existentes quanto a avaliação do risco de novas LP, em regiões como a isquiática, sacral, trocantérica ou de calcanhar, assim como a realização do curativo adequado nas lesões instaladas. Se faz necessário também o registro e documentação da evolução de cada ferida com periodicidade mínima, pelo menos uma vez por semana, para o acompanhamento da lesão e para avaliar a eficácia do tratamento instaurado. Outro cuidado que deve ser prestado é sobre a realização do desbridamento de tecido não viável, podendo ser: cirúrgico, autolítico, enzimático ou mecânico, pois a presença desse tipo de tecido impede uma evolução adequada da cicatrização (BREM; LYDER, 2004; EPUAP; NPIAP; PPPIA, 2019).

Para a escolha de uma cobertura adequada a ser utilizado em uma LP deve-se levar em consideração a fase de cicatrização em que a lesão se encontra, assim como o estado global da lesão, levando em conta o tipo de tecido, a quantidade de exsudato, localização e a pele adjacente (GARCÍA FERNÁNDEZ et al., 2007).

Considerando a diversidade de coberturas existentes, elas foram categorizados por função e devido a capacidade de muitos de exercerem mais de uma função, foram agrupadas com base no seu principal objetivo, onde temos o de absorção de exsudato das espumas e alginato, o de desbridamento da colagenase e papaína, o de hidratação do hidrocrolóide e hidrogel, os antimicrobianos daqueles impregnados com prata e outros que não se encaixam em nenhuma das classificações anteriores (REDDY et al., 2008; EPUAP; NPIAP; PPPIA, 2019).

Nesse sentido, novas substâncias que se tornem uma opção terapêutica e que possuam atividade antioxidante e anti-inflamatória estão sendo discutidas como formas de tratamento e cicatrização precoce de uma LP. Assim, estudos recentes tem buscado demonstrar o papel cicatrizante do ácido alfa-lipóico (ALA) baseado nessas ações.

## 1.2 Ácido alfa-lipóico

O Ácido alfa-lipóico (ALA), também conhecido como ácido 1,2-ditiolano-3-pentanóico ou ácido tiiotico, é um composto comumente encontrado na mitocôndria, necessário para diferentes funções enzimáticas. ALA foi isolado em 1951 (REED et al., 1951) como fator de substituição do acetato e seu primeiro uso clínico foi em 1959 para o tratamento de envenenamento agudo por *Amanita phalloides*, também conhecido como limite da morte (cogumelos) (BOCK; SCHNEEWEISS, 1959).

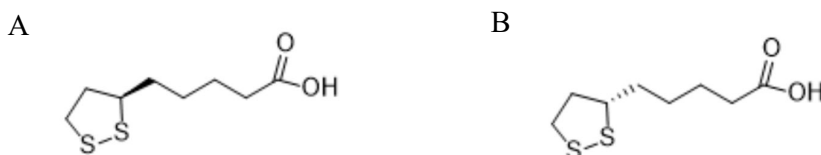
O Ácido alfa-lipóico (ALA) é um potente antioxidante natural porque promove a remoção de radicais livres e ainda aumenta os níveis de outros antioxidantes, tais como

glutathiona (GSH), tocoferol, ácido ascórbico e a coenzima Q10. Na sua fórmula estrutural existem dois grupos tiol que podem ser oxidados ou reduzidos, portanto, é um par redox. Quando ele é reduzido a sua forma biologicamente ativa, DHLA, pode agir como antioxidante no SNC e em quase todos os outros tecidos do corpo ( FERREIRA; MILITÃO; FREITAS, 2009; ARAÚJO et al., 2011; SILVA et al., 2016).

ALA é um grupo de compostos organosulfurados de baixo peso molecular possui uma porção polar e apolar, ou seja, permite que atravesse as diversas barreiras orgânicas e por isso pode reprimir radicais livres tanto em meio lipídico quanto aquoso (BIST; BHATT, 2009; CHNG et al., 2009). O ALA é considerado um antioxidante universal, tanto na sua forma oxidada, como na sua forma reduzida, DHLA (ARAÚJO *et al.*, 2011), estando também em fase de elucidação os seus possíveis efeitos como anti-inflamatório (YILDIRIM BAŞ et al., 2017).

O ALA possui duas formas enantioméricas, chamadas enantiômeros S e R, consideradas imagens espelhadas uma da outra. As formas S e R estão presentes igualmente na composição do ALA, sendo a forma isomérica R presente naturalmente, enquanto o isômero S é produzido por meio de processos químicos. Os alimentos são uma fonte natural do enantiômero R. Enquanto o ALA existe na natureza como enantiômero R, a suplementação sintética consiste em uma composição racêmica de suas formas R e S (GHIBU et al., 2009).

Figura 6 - Estrutura química dos isômeros ópticos de ALA.



Fonte: *PubChem chemistry database* (2021). A. Isômero R do ALA. B. Isômero S do ALA.

Um estudo demonstrou um possível papel do ALA relacionado a sua capacidade de cicatrização de feridas, sendo esse um ponto importante no que se refere a um possível tratamento de LP, apesar dos mecanismos não estarem totalmente elucidados devido à pouca produção na área, necessitando assim de mais estudos que busquem demonstrar sua ação na cicatrização de lesões (KÜLKAMP-GUERREIRO et al., 2013).

Um estudo realizado de forma experimental *in vitro* e *in vivo* demonstrou um possível benefício da aplicação tópica de ALA, na sua forma isolada ou em combinação com

outros agentes antioxidantes na cicatrização de feridas, atuando principalmente no aumento de expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (CHEN et al., 2012).

Dessa forma, acreditamos que o ALA pode ser uma nova perspectiva de tratamento para as LP, uma vez que mostra um efeito curativo em lesões de pele, fato que pode ser explicado por ser um antioxidante e possuir efeitos anti-inflamatórios (YILDIRIM BAŞ et al., 2017).

### **1.3 Lesão por pressão e suas relações com os distúrbios neuroquímicos na depressão**

O transtorno depressivo maior (TDM) é uma das condições psiquiátricas graves mais frequentes em todo o mundo, com uma prevalência variando entre 5% nos adultos e 15% na população em geral, significando que, aproximadamente, 280 milhões de pessoas no mundo têm depressão (ANDRADE et al., 2003; IHME, 2019). A depressão é uma condição que está duas vezes mais prevalente em mulheres quando em comparação aos homens (GRIGORIADIS; ROBINSON, 2007). O TDM é conhecido por aumentar drasticamente o risco de morte prematura por suicídio; atualmente, mais de 700.000 pessoas morrem devido ao suicídio todos os anos, sendo a quarta causa de morte entre jovens de 15 a 29 anos (CHENG et al., 2000; WHO, 2021).

Durante um episódio depressivo, a pessoa experimenta alterações do humor (sente-se triste, irritável, vazio) ou uma perda de prazer ou interesse em atividades, durante a maior parte do dia, ou quase todos os dias, por pelo menos duas semanas. Vários outros sintomas também podem estar presentes, incluindo falta de concentração, sentimento de culpa excessiva ou baixa autoestima, desesperança quanto ao futuro, pensamentos sobre morte ou suicídio, sono interrompido, alterações no apetite ou peso e sensação de cansaço ou falta de energia. Ela pode ser longa, duradoura ou recorrente, prejudicando substancialmente a habilidade de um indivíduo para executar funções no trabalho ou na escola ou lidar com a vida diária (WHO, 2021).

Nossa compreensão de neurobiologia da depressão advém da descoberta circunstancial dos antidepressivos, medicamentos que aumentam a disponibilidade das monoaminas na fenda sináptica (PEREIRA; HIROAKI-SATO, 2018). Esse conhecimento foi enriquecido pela descoberta de outros mecanismos que são chaves para o alicerce do entendimento da etiologia do transtorno depressivo: alteração na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (CARROLL et al., 2007; BAO; SWAAB, 2018), neuroinflamação

(MAES et al., 2011a), predisposição genética e influência de fatores ambientais (BONDY; ZILL, 2004; LOHOFF; FERRARO, 2010), estresse oxidativo (NG et al., 2008), além da disfunção do sistema glutamatérgico (SANACORA; TRECCANI; POPOLI, 2012).

No entanto, considerando que somente um terço dos pacientes com TDM alcançam a remissão completa dos sintomas após um único tratamento com antidepressivos clássicos (TRIVEDI et al., 2006), pode se deduzir que os mecanismos neurobiológicos da depressão não podem ser explicados somente como consequência da desregulação do sistema de monoaminas.

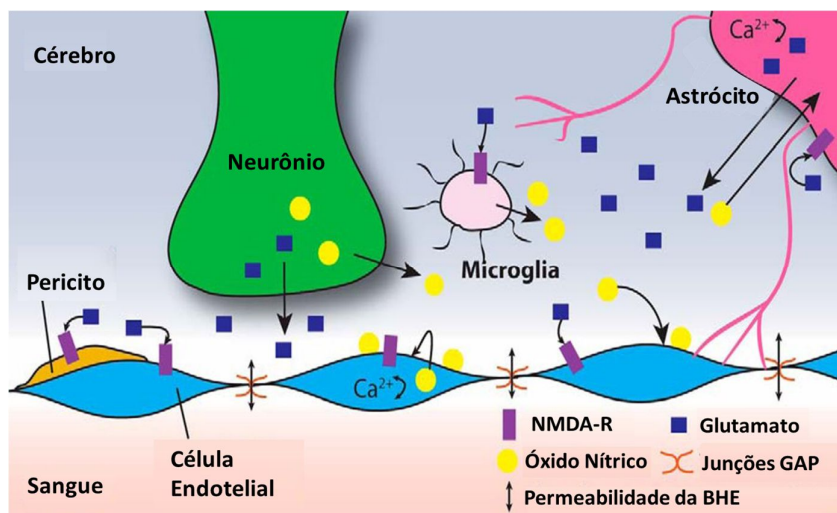
Além disso, desde as descrições iniciais por Maes et al. (1995) e Levine et al. (1999), estudos têm descrito a existência de uma forte associação entre depressão e marcadores periféricos de inflamação no sangue e no líquido cefalorraquidiano (LCR). Uma recente meta-análise relata a interleucina-6 (IL-6) e a proteína C reativa (PCR) como exemplos de marcadores inflamatórios fortemente associados à depressão (HAAPAKOSKI et al., 2015a).

Esse mecanismo de comunicação de citocinas periféricas com repercussão à nível de sistema nervoso central (SNC), está relacionado com disfunção da BHE, muitas vezes chamado de “abertura da BHE”, que tem sido descrita há muito tempo como um elemento-chave da progressão de várias doenças do SNC, existindo alguns mecanismo envolvidos na ligação de uma inflamação periférica e o SNC. Um deles é a regulação mediada por astrócitos, que são as células mais numerosas do SNC, por muito tempo considerados apenas células de suporte simples para os neurônios, mas que são os principais componentes de comunicação entre a microcirculação sanguínea e o tecido cerebral, devido ao contato próximo que eles possuem com as células endoteliais, pericitos e junções estreitas que constituem a BHE. Quando ativados, exibem uma diminuição na internalização do glutamato que negativamente impacta na produção de conexina 43, um dos principais constituintes das junções de oclusão (GIMSA; MITCHISON; BRUNNER-WEINZIERL, 2013), e através da estimulação do receptor metabotrópico de glutamato ocorre um aumento nos níveis intracelulares de cálcio, causando assim uma dilatação arteriolar (ZONTA et al., 2003; CAULI; HAMEL, 2018), que, em última análise, acaba favorecendo o aumento da permeabilidade da BHE aos mediadores periféricos de inflamação.

Outro mecanismo descrito na literatura que estaria envolvido na disfunção da BHE e aumento de sua permeabilidade, está relacionado com o papel das metaloproteinases de matriz (MMPs) na degradação da matriz neurovascular e a gênese de diferentes processos patológicos que tem sido demonstrados em vários modelos de neuroinflamação. Como a regulação e ativação da expressão das MMP são complexas e bem controladas, a perda desse controle se

encontra envolvido na fisiopatologia da quebra da BHE. Desta forma é permitido que circulem substâncias neurotóxicas para o parênquima cerebral, com a infiltração de leucócitos e ativação da microglia, promovendo uma resposta inflamatória (ROJAS; RITTER; PIZZOL, 2011).

Figura 7 – Mecanismo do aumento de permeabilidade da BHE.



Fonte: Xhima, Weber-Adrian, Silburt (2016). NMDA-R – Receptor de N-metil D-Aspartato; BHE – Barreira Hematoencefálica.

Uma condição em que as propriedades pró-inflamatórias dos glicocorticoides parecem ser altamente privilegiadas são as ocasiões de estresse. De fato, foi visto que as ações pró-inflamatórias dos glicocorticoides são exacerbadas em animais expostos a estresse agudo ou crônico, indicando que os efeitos distintos dos glicocorticoides na inflamação pode depender das circunstâncias (BELLAVANCE; RIVEST, 2014). O fato é que esses efeitos pró-inflamatórios dos glicocorticoides superam seus efeitos anti-inflamatórios dentro do contexto de estresse (DANTZER, 2018), uma vez que o estresse é um importante fator de risco para o TDM. O estresse crônico em pacientes e nos modelos animais tem sido associado de forma confiável com as anormalidades do HPA ligado a inflamação (ESPINOSA-OLIVA et al., 2011; SURGET et al., 2011; LAUGERAY et al., 2016; PARIANTE, 2017; FAROOQ et al., 2018). Isso pode explicar porque a hiperatividade e a inflamação do eixo HPA podem coexistir em pacientes com TDM, levando a altos níveis de glicocorticoides junto com marcadores inflamatórios, como IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e PCR e ativação microglial nos mesmos pacientes (CATTANEO et al., 2013).

Outro aspecto levado em conta na relação entre o eixo HPA e a inflamação está

ligado à deficiência de receptores de glicocorticoides (RG) observada na depressão em pacientes e nos modelos animais (PARIANTE, 2017). Assim, a interrupção do feedback negativo do eixo HPA no TDM foi atribuído a funções de RG prejudicadas que foram causadas por dessensibilização desses receptores a uma responsividade defeituosa. Como tal, mesmo sob altos níveis de glicocorticoide, o receptor é incapaz de cumprir seu controle regulatório sobre a atividade do eixo HPA e, portanto, para reduzir a liberação de glicocorticoides (SURGET et al., 2011).

Por isso é possível que tais déficits funcionais de RG se apliquem não apenas a seu papel regulador no que diz respeito ao eixo HPA, mas também para outras funções desse receptor, incluindo as ações imunomoduladoras. Neste caso, os RG podem se tornar incapazes de exercer seus efeitos anti-inflamatórios mesmo sob níveis elevados de glicocorticoides, resultando na elevação de citocinas pró-inflamatórias e neuroinflamação em pessoas com transtorno depressivo. Esta possibilidade se ampara nos estudos que mostraram que níveis elevados de glicocorticoides e inflamação pode ocorrer conjuntamente nos mesmos pacientes deprimidos e que a resistência do receptor de glicocorticoide é observada nesses pacientes e se aplica tanto para o eixo HPA como para as respostas inflamatórias (CARVALHO et al., 2010; CATTANEO et al., 2013).

Dessa forma, a depressão pode ser entendida como uma desordem multifatorial que tem sido discutida com frequência no meio científico. Ainda que a sua etiologia esteja em construção, muitas teorias se propõem a explicar a sua fisiopatologia, que resulta de uma interação complexa de fatores sociais, psicológicos e biológicos.

Com isso, podemos entender que as LP causam algum grau de sofrimento nas pessoas, tanto físico como emocional, por ser uma condição que gera um desgaste multifatorial associado ao estresse e a inflamação presente numa ferida, influenciando de forma direta a autoestima, o que interfere negativamente na autoimagem e na qualidade de vida, fatores que, somados, aumentam o risco de desenvolver quadros depressivos (ALMEIDA, 2013).

Uma pesquisa que avaliou, através do Inventário de Avaliação de Depressão de Beck com 73 participantes, a quantidade de sintomas e os níveis de depressão nos pacientes com feridas crônicas, mostrou que dezesseis (53,3%) pacientes que possuíam uma lesão por pressão demonstraram depressão leve à moderada e cinco (16,7%), depressão de moderada a grave. Dez pacientes com diabetes com pé ulcerado (55,60%) apresentaram depressão leve à moderada e quatro (22,20%), sem depressão ou depressão mínima, mostrando dessa forma que pacientes com lesões crônicas tendem a desenvolver quadros depressivos (SANTO et al., 2013).

As LP são classificadas como feridas crônicas complexas e que possuem uma natureza inflamatória. Os estímulos pró-inflamatórios são diversos numa lesão crônica, como o tecido necrótico e a carga bacteriana presente em lesões abertas. Geralmente as feridas crônicas não seguem uma cascata de cicatrização tão bem definida, normalmente elas estão estagnadas em um estado inflamatório persistente que impede a sua proliferação (ZHAO et al., 2016).

A infiltração excessiva de neutrófilos em feridas crônicas parece ser um aspecto crítico neste ciclo de inflamação e atua como um marcador biológico nas LP. A abundância de neutrófilos leva a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs), causando danos direto a MEC e a membrana celular. Neutrófilos e macrófagos ativados produzem citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  que não só aumenta a produção de Metaloproteinases da Matriz (MMPs), mas também reduz os inibidores de MMPs; este desequilíbrio aumenta a degradação da MEC, prejudica a migração celular e reduz os fibroblastos de proliferação e a síntese de colágeno. Os produtos de degradação da MEC promovem ainda mais a inflamação, criando um processo autossustentável. Essa resposta inflamatória inadequada combina com a resposta celular e sistêmica prejudicada do hospedeiro ao estresse, perpetuando o ciclo deletério ao organismo (MAST; SCHULTZ, 1996; DEMIDOVA-RICE; HAMBLIN; HERMAN, 2012).

Assim, podemos entender a LP como um fator que causa complicações secundárias, que vão além dos aspectos físicos de uma lesão. Os estudos citados acima sugerem uma relação desse tipo de ferida com o desenvolvimento de transtornos mentais, especialmente a depressão.

Apesar de o estresse ser algo que lidamos diariamente e que é suportado pela maioria das pessoas, quando ocorre um fracasso de adaptação bem sucedida durante as diversas situações estressantes a que somos submetidos no nosso cotidiano, isso resulta em problemas, como a depressão (MAES et al., 2000; MICHEL et al., 2007). E na literatura já foi demonstrado que o estresse tem um importante papel no desenvolvimento deste agravo (NESTLER et al., 2002).

O estresse leva ao dano oxidativo, sendo este causado por EROs e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), os radicais livres. Estas moléculas podem danificar proteínas celulares, lipídios, carboidratos e ácidos nucleicos (FILOMENI; CIRIOLO, 2006).

O cérebro parece ser mais suscetível às EROs devido ao alto teor de ácidos graxos insaturados, ao alto consumo de oxigênio e a escassez de sistemas antioxidantes de defesa (FINKEL; HOLBROOK, 2000).

O estresse crônico tem sido amplamente utilizado em pesquisas com animais para

mimetizar os distúrbios da depressão, pois esse modelo tenta reproduzir, da forma mais fidedigna, os estressores da vida cotidiana em humanos (WILLNER et al., 1987; HENN; VOLLMAYR, 2005). A LP, sendo considerada como um fator que gera um estresse recorrente aliado ao desenvolvimento de um desbalanço inflamatório, poderia estar relacionada com o desenvolvimento de quadros depressivos.

Dessa forma, percebe-se que estudos têm demonstrado que além do déficit monoaminérgico existe uma implicação do estresse, uma desregulação do eixo HPA e da inflamação no desenvolvimento da depressão.



## 2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Quando uma pessoa passa a viver com e tratar de uma ferida crônica, como uma lesão por pressão, é desencadeada uma sucessão de mudanças na vida cotidiana, como susceptibilidade ao isolamento social por certas características da ferida, necessidade de adaptação com as trocas recorrentes de curativos, alterações na atividade física e deambulação, o uso de medicamentos contínuos e, especialmente, os distúrbios de autoimagem (BEDIN et al., 2014). É importante ressaltar que todas essas transformações vividas acabam por propiciar uma desmotivação e a incapacidade para o autocuidado e para as atividades de vida e de convívio social, dimensões que quando encontram-se modificadas, muitas vezes podem estar relacionadas com o desenvolvimento de quadros depressivos e de ansiedade (DIAS et al., 2014).

Tendo em vista todas essas repercussões, a Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a depressão como o principal causador de incapacidades em todo o mundo e é um dos principais contribuintes para a carga global de doenças (WHO, 2021). Segundo um relatório divulgado pela OMS, o Brasil está em primeiro lugar no ranking latino-americano de depressão e em quinto lugar cenário global. O número de pessoas que vivem com depressão aumentou 18% entre 2005 e 2015 (WHO, 2017).

Embora existam diversos tratamentos conhecidos e eficazes para os transtornos mentais, um dado alarmante mostra que mais de 75% das pessoas que vivem em países de baixa e média renda não têm acesso a nenhum tipo de tratamento (EVANS-LACKO et al., 2018). Os níveis de gastos públicos com saúde mental são muito baixos em países de baixa e média renda. Os gastos do governo com saúde mental são inferiores a 1US\$ *per capita* em países de baixa e média baixa renda, enquanto os países de alta renda gastam mais de US\$ 80. A maioria dos gastos vai para hospitais psiquiátricos, que atendem a uma pequena proporção daqueles que precisam de cuidados mais abrangentes (WHO, 2018).

Ademais, tem se visto que a depressão está associada com a cronificação de lesões, sendo importante que os tratamentos promovam uma cicatrização mais rápida, reduzindo assim as chances de o paciente desenvolver quadros depressivos ou de ansiedade relacionados à ferida. Diante desse cenário, o avanço do tratamento local de LP, uma condição notavelmente crônica em sua maioria dos casos, ainda enfrenta dificuldades para estabelecer um produto que seja eficaz e seguro no tratamento e prevenção dessas lesões de pele.

Dados recentes evidenciaram que o animal com lesão por pressão está associado a alterações comportamentais e de parâmetros oxidativos em camundongos, demonstrando que a

LP tem a capacidade de induzir um estado de ansiedade e um fenótipo semelhante à depressão, promovendo estresse oxidativo cerebral, além de altos níveis de corticosterona plasmática nos camundongos que possuíam a LP. Juntos, esses achados demonstram as características comportamentais e fisiopatológicas encontradas na clínica da depressão (AQUINO et al., 2021).

Tomando como base a recuperação das lesões e os prejuízos citados anteriormente, o ALA tem se mostrado promissor em seu uso tópico, pela sua capacidade de cicatrização de feridas, sendo esse um ponto importante no que se refere a um possível tratamento de LP (KÜLKAMP-GUERREIRO et al., 2013). Contudo, os mecanismos envolvidos precisam ser melhor elucidados, necessitando assim de mais estudos que validem a ação cicatrizante do ALA.

Dessa forma, acreditamos que o ALA pode ser uma nova perspectiva de tratamento para as LP, pois sua ação de antioxidante e anti-inflamatória (FERREIRA; MILITÃO; FREITAS, 2009; YILDIRIM BAŞ et al., 2017) encoraja estudos sobre os seus efeitos sobre o processo inflamatório/cicatrizal e, conseqüentemente, sobre os quadros de depressão associados as lesões por pressão.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito cicatrizante da aplicação tópica de ácido alfa-lipóico em creme no modelo de lesão por pressão em camundongos associado às alterações comportamentais e neuroquímicas.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o comportamento de camundongos em modelo animal de lesão por pressão e seus tratamento tópicos;
- Avaliar a variação de peso de camundongos em modelo animal de lesão por pressão e seus tratamento tópicos;
- Determinar a atividade de mieloperoxidase em áreas cerebrais (córtex pré-frontal e hipocampo), plasma e lesões de camundongos em modelo animal de lesão por pressão e seus tratamento tópicos;
- Avaliar o efeito da aplicação tópica de ácido alfa-lipóico sobre a cicatrização de lesão por pressão em modelo animal;
- Verificar a concentração do mediador inflamatório TNF- $\alpha$ , em lesões de camundongos em modelo animal de lesão por pressão e seus tratamento tópicos;
- Realizar análise histopatológica da lesão por pressão em modelo animal.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Modelo de indução da lesão por pressão

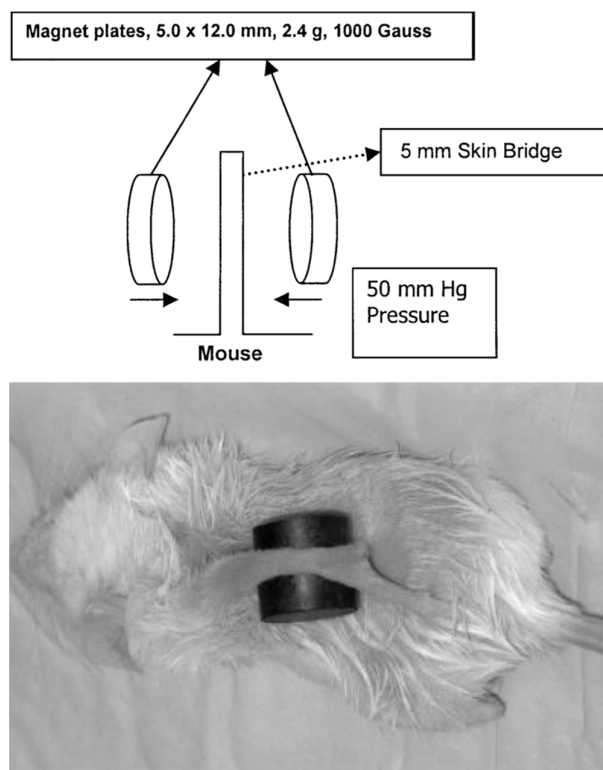
O modelo (STADLER et al., 2004) que foi executado no estudo foi adaptado, pois é menos invasivo e mais seguro na sua utilização. Neste modelo dois ímãs foram colocados na pele da região do dorso do animal, gerando uma pressão de 50 mmHg, onde um único ciclo de isquemia/reperfusão (I/R) é constituído por um período de 12 horas de posicionamento dos ímãs, seguido por liberação ou período de repouso de 12 horas. Para que as lesões obtivessem as características do tipo de lesão pensada para o estudo foram necessários 4 ciclos (CUI et al., 2013; LIMA, 2013), expressando assim a necessidade de modificação do protocolo.

Os ímãs utilizados foram placas cerâmicas magnéticas de ferrite, isotrópico (Imãtec Produtos Magnéticos, Pedreira, São Paulo, Brasil) com medidas de 12 mm de diâmetro por 5 mm de espessura, com peso médio de 2,4g e 1 Gauss de campo magnético.

Na adequação do posicionamento dos ímãs para a indução da lesão, os animais precisaram ser anestesiados durante os dias de protocolo com cetamina 10% e xilazina 2% nas doses de 100mg/Kg e 10 mg/Kg i.p., respectivamente. Para o dia inicial do protocolo, logo após a anestesia foi feita a tricotomia do dorso do camundongo e a limpeza com álcool isopropílico 70%. Em prosseguimento a pele do dorso foi suavemente mobilizada para cima e os dois ímãs posicionados, isso durante 4 dias. Durante esse período de indução da LP, nos ciclos de I/R houve a necessidade de os animais serem mantidos separados em diferentes caixas para melhor controle da indução da LP e manutenção do posicionamento dos ímãs.

Ademais, os animais não foram imobilizados ou tiveram qualquer restrição durante o período de I/R, apenas no momento de posicionamento do ímã, sendo utilizado anestesia. Depois de colocados os ímãs, dentro de alguns minutos os animais retornaram às suas atividades normais, sendo permitido alimento e água *ad libitum*.

Figura 8 - Procedimento experimental sobre a colocação dos ímãs magnéticos na pele do animal



Fonte: Stadler (2004).

## 4.2 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* machos com peso entre 25-30g, provenientes do Biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os mesmos foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ( $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), com ciclo claro/escuro de doze horas recebendo água e comida à vontade. Nesta pesquisa foram respeitados todos os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), que estão em conformidade com as normas internacionais de pesquisas científicas envolvendo animais (NIH,1996). O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) do NPDM, sob o CEUA nº 3343020519. Os procedimentos foram conduzidos visando ao máximo a minimização de dor e menor desconforto possível.

### 4.3 Material das Coberturas

#### 4.3.1. Filme transparente de poliuretano

O filme transparente de poliuretano usado foi o Advanced® (Cremer SA, SP, Brasil), que como todo filme de poliuretano transparente fino, possui certo grau de permeabilidade ao exsudato para evitar a maceração do tecido epitelial nas bordas da ferida, outra característica é a não adesão à superfície úmida das feridas. Possui como mecanismo de ação a manutenção de um ambiente úmido, favorecendo o desbridamento autolítico. A umidade natural reduz a desidratação e a formação de crostas, o que estimula a reepitelização, mantendo um meio úmido ideal para a cicatrização. Proporciona também uma barreira de proteção contra microrganismos e permite a visualização do processo de cicatrização sem a necessidade de exposição da ferida. Indicado para a prevenção das LP ou tratamento de bolhas, feridas fechadas limpas, feridas abertas limpas em granulação sem exsudação, para a proteção de pele periestomas, fixação de cateteres curtos e longos e como cobertura secundária para outros produtos (MACIEL, 2013; RODRIGUES et al., 2018).

Figura 9 - Filme transparente de poliuretano



Fonte: Cremer S.A (2021).

#### 4.3.2. Hidrogel com alginato

Foi utilizado o hidrogel com alginato Curatec® (Urgo Medical, São Paulo, Brasil), um gel amorfo, transparente, hidroativo, contendo propilenoglicol alginato de sódio, que tem como propriedade a hidratação delicada e eficaz do tecido necrótico. Propiciando um ambiente úmido ideal para a granulação e reepitelização do tecido lesionado. A presença de alginato de sódio aumenta sua absorção e a consistência, aumentando também o tempo de permanência do

hidrogel na ferida, de 24h do hidrogel simples para até 72h nesta apresentação. O hidrogel é indicado para ferida seca ou com exsudação mínima, não infectada com ou sem granulação e tem como principal característica doar umidade a ferida. Por isso, é comumente utilizado para facilitar o desbridamento de necrose presente no leito da ferida. O hidrogel com alginato foi escolhido por ser indicado para as características das lesões do modelo aqui adotado. Os estudos demonstraram que o tipo de tecido predominante é o necrótico seco tipo esfacelo e com ausência de sinais de infecção (STADLER *et al.*, 2004; LIMA, 2013).

Figura 10 – Hidrogel com alginato



Fonte: Urgo Medical (2021).

#### **4.3.3. Ácido alfa-Lipóico**

Foi utilizado o ácido  $\alpha$ -lipóico em pó (Ibero Magistral) amarelo, substância isolada com o mínimo de 99,2 % de teor de pureza para a manipulação e adição de excipientes para a produção do creme. O ALA é uma coenzima antioxidante muito eficaz, pois além de combater os radicais livres, regenera os antioxidantes oxidados e possui ação anti-inflamatória (YILDIRIM BAŞ *et al.*, 2017), seguindo as recomendações do fabricante, o pó foi armazenado em geladeira (Temperatura controlada: de +2 a +8 °C).

#### **4.3.4. Formulação farmacêutica do Ácido alfa-Lipóico**

A cobertura com o ácido  $\alpha$ -lipóico (ALA) em creme utilizada no estudo foi desenvolvida na Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Ceará. A formulação foi estabelecida previamente considerando as características do princípio ativo e das lesões cutâneas abertas (maior necessidade de oclusão). Foram realizados os controles físico-químicos e microbiológicos de acordo com a Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2019).

#### 4.4 Desenho e protocolo experimental

O protocolo (Figura 11) foi proposto para investigar o efeito cicatrizante da aplicação tópica de ácido alfa-lipóico em modelo animal de lesão por pressão associado às alterações comportamentais e neuroquímicas. A lesão por pressão foi induzida como descrita acima. A partir do 5º dia de protocolo os grupos foram submetidos aos esquemas de tratamento (ver adiante). A eutanásia para a retirada da pele do dorso foi feita nos dias 1 e 5 de início do tratamento com as coberturas. Em cada animal esperou-se duas feridas. Os testes comportamentais foram realizados nos dias 1 e 5 de tratamento, para fins de comparação entre os parâmetros. Os grupos de tratamentos foram divididos conforme descrito abaixo:

- **Grupo controle:** animais sem a indução da lesão, tiveram apenas a aplicação do anestésico do primeiro ao quinto dia do protocolo e se mantiveram separados em diferentes caixas durante todo o protocolo.
- **Grupo SHAM:** animais que foram submetidos a indução da lesão, mas não receberam nenhum tratamento.
- **Grupo Creme Base:** animais que foram submetidos a indução da lesão e foram tratados por 5 dias com uma aplicação diária do creme base e filme de poliuretano como cobertura secundária da lesão.
- **Grupo Creme ALA:** animais que foram submetidos a indução da lesão e foram tratados por 5 dias com uma aplicação diária de ALA e filme de poliuretano como cobertura secundária da lesão.
- **Grupo Hidrogel com alginato:** animais que foram submetidos a indução da lesão e foram tratados por 5 dias, os animais receberam tratamento com hidrogel e filme de poliuretano como cobertura secundária da lesão. Sendo o tratamento mais indicado para esse tipo de ferida (ROLSTAD; OVINGTON, 2012).





Quadro 3: Quantitativo de animais segundo a necessidade para cada teste.

<b>Número de Animais utilizados em cada fase do protocolo experimental</b>	<b>Testes Comportamentais</b>	<b>Análise Neuroquímica/ Plasmática/ Histórica</b>	<b>Descrição</b>
50 animais com 1 dia de tratamento	Campo aberto, borrifagem de sacarose, suspensão da cauda e interação social.	Atividade da Mieloperoxidase/ Histopatologia da ferida	Para análise dos testes comportamentais, mensuração de MPO das áreas cerebrais e da lesão, coleta de plasma assim como a avaliação dos parâmetros de cicatrização pela histopatologia foi necessário um 'n' de 10 animais por grupo. Foi extraído, de cada animal, todos os tecidos necessários para avaliação (plasma, cérebro e lesão)
50 animais com 5 dias de tratamento	Campo aberto, borrifagem de sacarose, suspensão da cauda e interação social.	Atividade da Mieloperoxidase/ Histopatologia da ferida	
40 animais com 5 dias de tratamento	-	Determinação da concentração de citocinas.	Para a dosagem da concentração de citocinas da lesão, foi necessário um 'n' de 08 animais por grupo.
<p>Para todas as avaliações necessárias ao estudo foram utilizados ao todo <b>140 animais</b> os quais, após os testes comportamentais que foram realizados nos dias 1 e 5 de tratamento, foram decapitados e os cérebros utilizados para mensuração de parâmetros inflamatórios, assim como as lesões formadas foram retiradas para avaliar os parâmetros de cicatrização, e também tiveram o sangue coletado para avaliações plasmáticas.</p>			

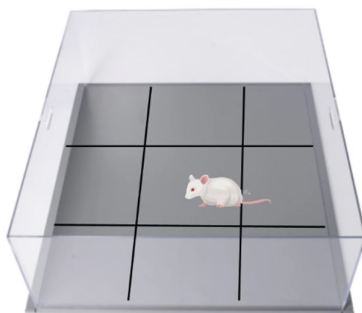
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

## 4.5 Testes Comportamentais

### 4.5.1. *Teste do Campo Aberto*

O campo aberto para camundongos é feito de acrílico (paredes transparentes e piso preto, 30 x 30 x 15 cm) dividido em 9 compartimentos proporcionais (Figura 12). O método foi utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal (ARCHER, 1973). Os parâmetros avaliados foram: número de cruzamentos com as quatro patas (“*crossing*”), número de comportamentos de autolimpeza (“*grooming*”), número de levantamentos (“*rearing*”) e tempo gasto no compartimento central, registrados durante 5 minutos, após 1 minuto de habituação.

Figura 12 – Teste de campo aberto

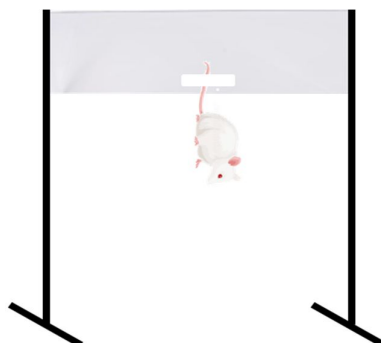


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

### 4.5.2. *Teste Suspensão de Cauda*

No teste da Suspensão pela cauda os camundongos ficaram suspensos a 50 cm do chão por uma fita fixada a 1 cm a partir da ponta da cauda e o tempo de imobilidade durante uma sessão de 5 minutos é registrado (STERU et al., 1985). Os animais foram testados individualmente, sendo considerado imóvel apenas quando permanecer passivamente suspenso.

Figura 13 – Teste de suspensão de cauda



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.5.3. Teste de Borrifagem de Sacarose

O teste foi realizado através da borrifação de sacarose 10% no dorso dos animais que foram colocados individualmente em uma caixa limpa de acrílico (30x30x20 cm). A solução de sacarose suja e adere o pelo do animal, por conta da sua viscosidade, estimulando um comportamento de autolimpeza (*grooming*) (YALCIN; AKSU; BELZUNG, 2005). Após a aplicação de sacarose a latência para início do comportamento, a frequência e o tempo total de autolimpeza foram registrados durante 5 minutos como índice de autocuidado e comportamento motivacional, considerado paralelamente a alguns sintomas de depressão, como o comportamento apático (WILLNER, 2005). O aparelho foi limpo com uma solução de álcool 70% entre os testes, a fim de esconder pistas olfativas dos animais.

Figura 14 – Teste de borrifagem de sacarose



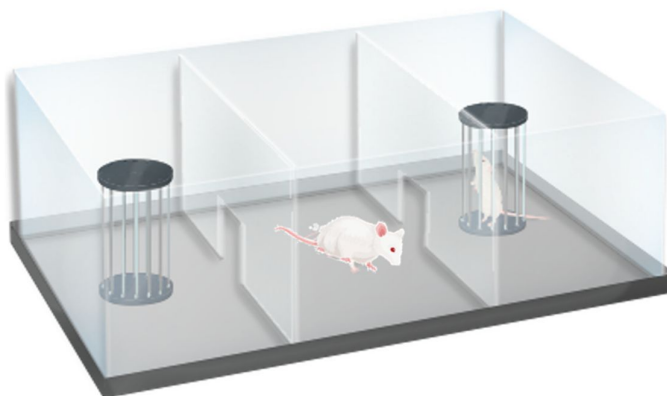
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.5.4. Teste de Interação Social

Para a avaliação da interação social, os animais foram colocados em uma caixa com 3 compartimentos. Em um dos compartimentos laterais havia um animal do mesmo sexo e idade dentro de uma gaiola, na outra lateral havia uma gaiola semelhante sem animal no seu interior e o meio da caixa permaneceu livre. Durante 5 minutos de observação foram contabilizados o tempo de permanência no compartimento com o animal e o tempo de permanência no compartimento contendo uma gaiola sem animal (KOSHIMIZU; LEITER; MIYAKAWA, 2012).

Foi medido o tempo gasto em cada uma das três câmaras e a preferência social foi definida como: (% do tempo gasto na câmara social) – (% o tempo gasto na câmara oposta).

Figura 15 – Teste de Interação Social



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

#### 4.6 Avaliação da variação de peso

Os animais foram pesados no 1º e 9º dia do protocolo a fim de analisar a variação ponderal dos animais ao longo do protocolo, para levar em consideração todos os aspectos envolvidos no protocolo (anestesia, indução da LP e isolamento), não sendo viável a estratificação de dias de tratamento. A variação de peso foi obtida a partir do cálculo da diferença entre o peso do animal no 9º dia e o peso do animal no 1º do protocolo experimental.

#### **4.7 Parâmetros inflamatórios nas áreas cerebrais, no plasma e na lesão**

Os parâmetros inflamatórios das áreas cerebrais, na lesão e do plasma foram avaliados nos dias 1 e 5 de tratamento. Os animais foram eutanasiados por rápida decapitação e seus cérebros, a lesão/cicatriz foram removidos e o plasma coletado para a determinação da atividade da enzima Mieloperoxidase (MPO) e somente a lesão/cicatriz foi utilizada para determina a concentração da citocina TNF- $\alpha$ . As áreas cerebrais CPF e HC e a lesão foram dissecadas sob o gelo, e, posteriormente, armazenadas a -70°C até serem utilizadas para os ensaios.

##### ***4.7.1. Determinação dos níveis de TNF- $\alpha$***

As áreas de feridas foram homogeneizadas em 8 volumes de tampão PBS com inibidor de protease (Sigma-Aldrich) para posteriormente serem centrifugadas (14.000 rcf, 30 min). O sobrenadante foi usado sem diluição. A concentração das citocinas, em 100  $\mu$ L de amostras foi determinada por ELISA (BioLegend San Diego, CA, EUA) de acordo com o protocolo do fabricante e expressa em pg/g de tecido.

##### ***4.7.2. Atividade da enzima mieloperoxidase***

Os tecidos coletados provenientes das áreas de feridas do dia 1 e 5 de tratamento foram incubadas em solução de HTAB 0,5% (Brometo de hexadeciltrimetilamonio) na proporção de 50mg de tecido por mL, homogeneizados e centrifugados (4000 g/15 min a 4°C). A mieloperoxidase (MPO) presente no sobrenadante (0,1 mL) foi analisada por espectrofotometro após adição de 2,9 mL de tampão fosfato (50 mM, pH 6,0) contendo 0,167 mg/mL de hidrocloreto de o-dianisidina e 0,0005% de peróxido de hidrogênio. A absorbância a 460 nm foi medida nos tempos de 0 e 3 min (BRADLEY et al., 1982). A diferença entre os valores de absorbância basal e de 3 minutos foi considerada para o cálculo das unidades de MPO (U) baseado na equação da reta de uma curva padrão de MPO. Os resultados foram expressos como U de MPO por mg de tecido.

## 4.8 Avaliação do efeito cicatrizante

### 4.8.1. *Análise macroscópica*

#### 4.8.1.1 *Determinação da área da lesão por pressão de planimetria*

Para a determinação da área em cm<sup>2</sup>, os animais foram fotografados nos dias 1 e 5 de tratamento, com uma Câmera digital. O ângulo usado foi de 90° da ferida com distância de 10 cm da objetiva da máquina fotográfica, e ao lado do animal foi colocado um papel milimetrado (1cm<sup>2</sup>) como referência na determinação da área da lesão com auxílio do programa imageJ®, que proporciona a área em pixel, e com a divisão da área da lesão e do papel milimetrado, foi possível obter a área da ferida em cm<sup>2</sup>.

#### 4.8.1.2 *Contração da área da lesão*

A contração da área da ferida foi calculada considerando o percentual do tamanho inicial da ferida de cada animal no quinto, nono e décimo quarto dia do protocolo, utilizando a fotografia da lesão que foi utilizada a seguinte fórmula descrita por (SHENOY et al., 2011):

$$\text{Contração da ferida \%} = \left[ \frac{\text{área inicial da ferida} - \text{área da ferida no dia específico}}{\text{área inicial da ferida}} \right] \times 100$$

### 4.8.2. *Análise Histopatológica*

Após o sacrifício dos animais, foram retiradas as áreas de lesão ou a pele íntegra, as quais foram fixadas em formol tamponado 10% por 24 horas e, em seguida, colocados no álcool 70% até a parafinização para a realização de cortes histológicos e posterior coloração das lâminas através do método HE.

As análises dos achados foram realizadas de acordo com a sua intensidade e sendo transformados em variáveis quantitativas, às quais foram atribuídas as seguintes pontuações: 0 (nenhum), 1 (leve/discreto), 2 (moderado) ou 3 (alto/intenso), conforme a intensidade dos seguintes parâmetros: infiltrado inflamatório, proliferação vascular e reepitelização (GARROS et al., 2006). A análise foi realizada por um investigador cego ao tratamento.

#### 4.9 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do *software GraphPad Prism* 8, San Diego Califórnia, EUA. Os resultados foram comparados através de Two-way ANOVA (comportamento, atividade de MPO, área e contração da lesão) ou One-way ANOVA (citocinas, variação de peso e análise e histopatológica) seguido pelo teste de Turkey (*post hoc test*) para comparações múltiplas para explorar as interações significativas e revelar as diferenças específicas entre os grupos. Os fatores utilizados para estas análises foram "tratamento" (utilização de cobertura tópica X ausência de uma cobertura tópica), "tempo" (dia 1 de tratamento X dia 5 de tratamento) na avaliação da variância. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas em  $p < 0,05$ . Antes da avaliação por ANOVA, o teste de omnibus D'Agostino<sup>60</sup> Pearson foi realizado para verificar a distribuição normal dos dados. Para todas as análises, o nível de significância foi estabelecido em  $\alpha = 0,05$ .



## 5 RESULTADOS

### 5.1 Efeitos sobre o comportamento

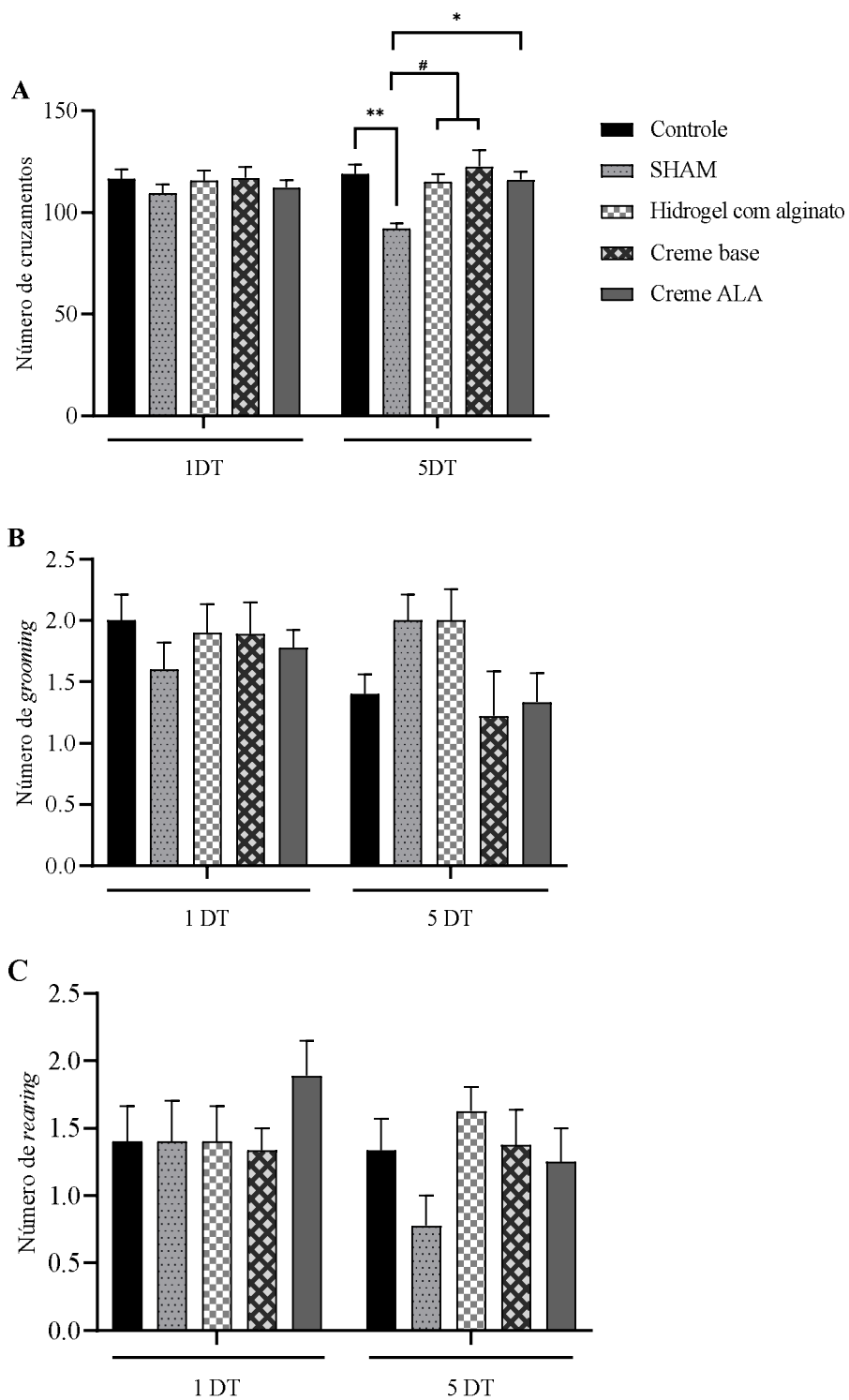
#### 5.1.1. Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade locomotora e exploratória

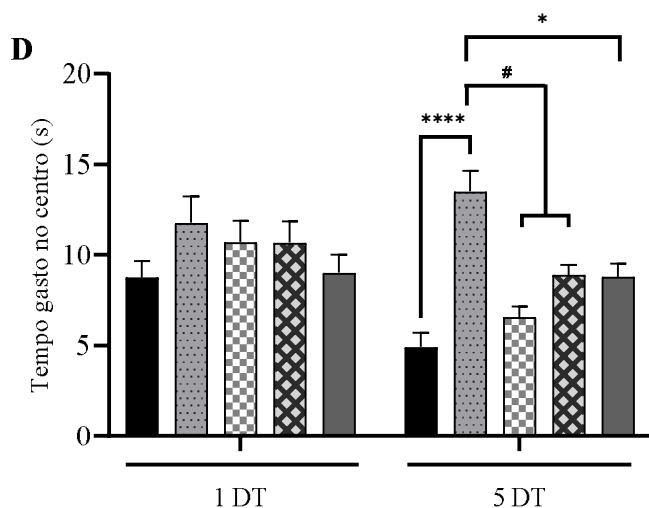
O teste de campo aberto foi utilizado com o intuito de investigar as alterações na atividade locomotora e exploratória dos animais. A análise do parâmetro de atividade locomotora nesse teste foi mensurado através do número de cruzamentos (Figura 16A). Foi verificado um efeito do “tratamento” [F (1, 84) = 0,1585; P=0,6916], sem interação entre os fatores “tratamento” e “tempo” segundo ANOVA. Além disso, o *post hoc* revelou que os animais do grupo SHAM do dia 5 de tratamento reduziram seu número de travessias quando comparado ao grupos controle (P=0,0063), hidrogel com alginato (P = 0,0264), creme base (P= 0,0009) e creme ALA (P= 0,0226) do mesmo tempo de tratamento. Nenhuma alteração entre os grupos de tratamentos de apenas 1 dia foi observada.

Já na avaliação dos movimentos de autolimpeza (*grooming*) (Figura 16B), assim como na atividade exploratória vertical (*rearing*) (Figura 16C), não foi evidenciada nenhuma interação significativa entre os fatores “tratamento” e “tempo” [F (4, 80) = 2,022; P=0,0991] e [F (4, 86) = 2,013; P=0,0998] segundo ANOVA e o *post hoc* mostrou que os grupos não apresentaram diferença significativa entre si.

Contudo, na avaliação do tempo no centro (figura 16D), foi observado um efeito significativo do “tempo” [F (1, 82) = 5,059; P=0,0272] e “tratamento” [F (4, 82) = 9,030; P<0,0001], assim como uma interação entre esses fatores [F (4, 82) = 3,041; P=0,0217] segundo ANOVA. E o *post hoc* mostrou que os animais do grupo SHAM do dia 5 de tratamento reduziram o tempo gasto no centro do aparato quando comparado a todos os grupos do mesmo tempo de tratamento [controle (P<0,0001), hidrogel com alginato (P=0,0002), creme base (P=0,0473) e creme ALA (P=0,0414)]. Também não houve nenhuma alteração significativa entre os grupos de apenas 1 dia tratamento.

Figura 16 – Alterações comportamentais no teste de campo aberto associadas a modelo de lesão por pressão em camundongos.





Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e avaliados com 1 e 5 dias de tratamento pelo teste comportamental de campo aberto. Foram avaliados o número de travessias (A), número de *grooming* (B), número de rearing (C) e Tempo gasto no centro (D). Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=9-10 animais/grupo). \*P<0.05, \*\*P< 0.001, \*\*\*\*P<0.0001 e #P<0.05 quando comparado ao grupo 5 DT SHAM, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

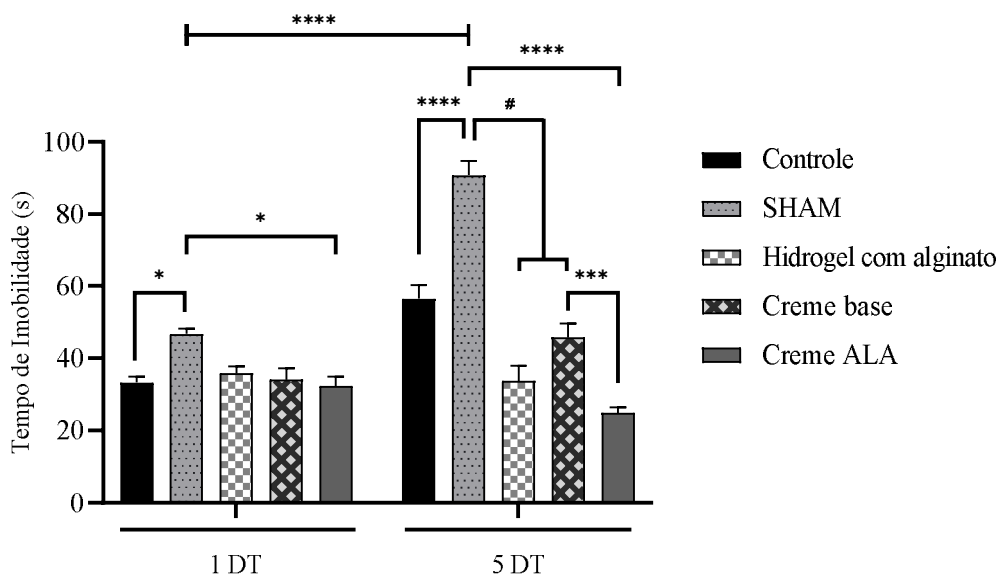
### 5.1.2. Efeitos da lesão por pressão sobre o comportamento depressivo-símile

Para avaliar o efeito da lesão por pressão, o tempo e os tratamentos tópicos sobre comportamentos relacionados a depressão foram conduzidos os testes de suspensão da cauda, borrifagem de sacarose e interação social.

A análise do teste de suspensão da cauda (Figura 17) evidenciou um efeito significativo no “tempo” [F (1, 81) = 56,65; P<0,0001] e “tratamento” [F (4, 81) = 45,14; P<0,0001], assim como na interação entre esses fatores [F (4, 81) = 27,02; P<0,0001] segundo ANOVA. Nesse teste, o *post hoc* mostrou que os animais do grupo SHAM no dia 5 de tratamento aumentaram seu tempo de imobilidade quando comparado ao grupo controle (P < 0,0001) do mesmo tempo de tratamento e ao grupo SHAM (P < 0,0001) com 1 dia de tratamento. Vale ressaltar que todos os tratamentos do dia 05 foram capazes de minimizar esse efeito (P < 0,0001), destaca-se também a diferença significativa na redução da imobilidade no dia 5 de tratamento quando comparado o grupo Creme base ao Creme ALA (P= 0,0001). Além disso, foi visto que no tratamento do dia 1 houve diferença significativa quando comparado o grupo SHAM ao grupo controle (P= 0,0323), e quanto aos tratamentos, somente o creme ALA

foi capaz de minimizar os efeitos do grupo SHAM no dia 1 de tratamento ( $P= 0,0275$ ), sem diferenças significativas entre os outros tratamentos.

Figura 17 – Alterações no comportamento depressivo-símile associadas ao modelo de lesão por pressão em camundongos submetidos ao teste de suspensão da cauda.



Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e avaliados com 1 e 5 dias de tratamento pelo teste comportamental de suspensão de cauda. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM ( $n=9-10$  animais/grupo). \* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.001$ , \*\*\*\* $P<0.0001$  e # $P<0.05$  quando comparado ao grupo 5 DT SHAM, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

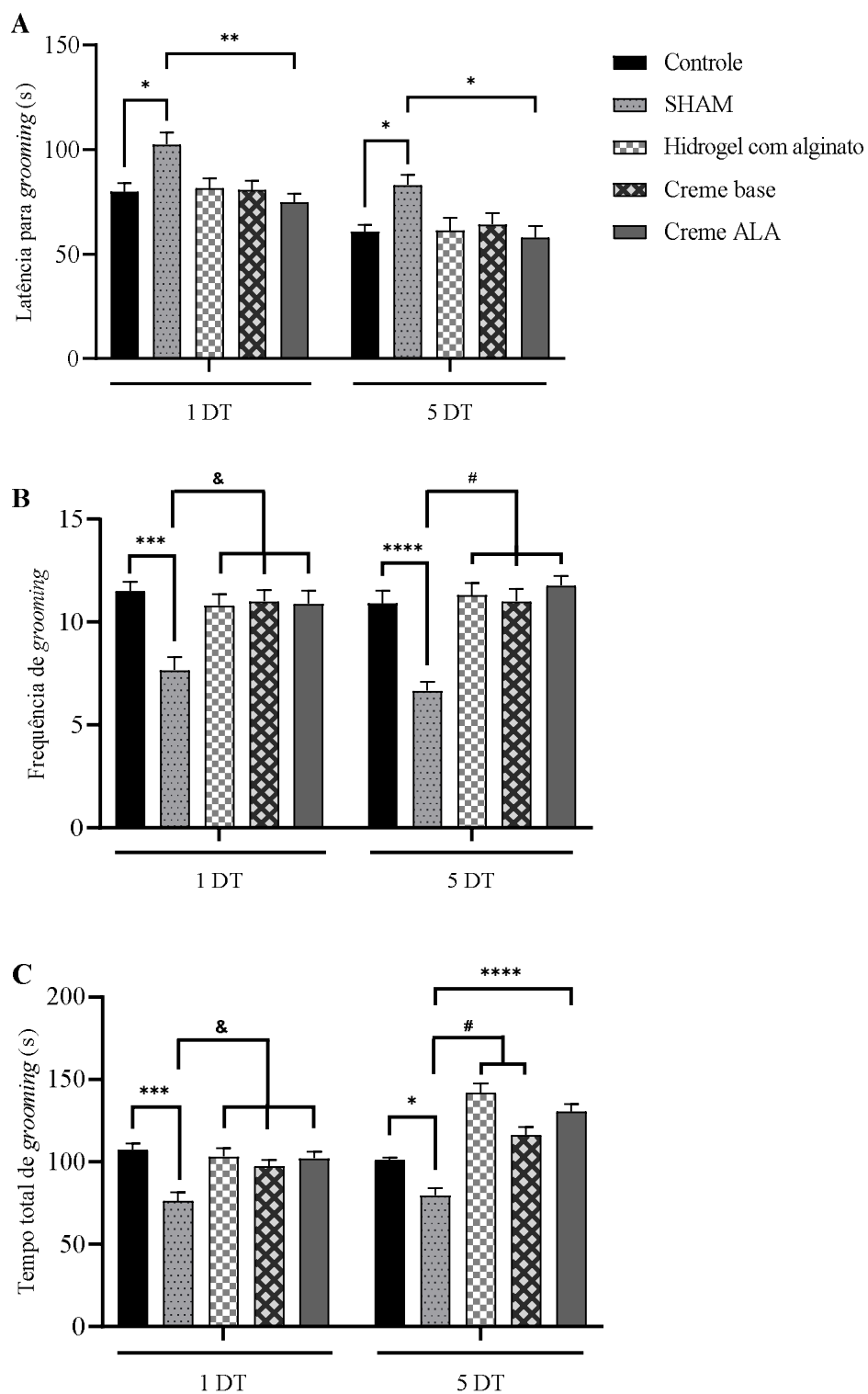
Em relação ao teste de borrifagem de sacarose (Figura 18) foi observado que na latência para o *grooming* houve um efeito significativo no “tempo” [ $F(1, 84) = 34,15$ ;  $P<0,0001$ ] e “tratamento” [ $F(4, 84) = 8,437$ ;  $P<0,0001$ ], mas não houve uma interação entre os fatores segundo ANOVA. O *post hoc* mostrou que o grupo SHAM no dia 5 de tratamento obteve um aumento na latência para início do *grooming* (Figura 18A) quando comparado ao controle ( $P= 0,0451$ ) e dos tratamentos somente o grupo Creme ALA ( $P= 0,0207$ ) minimizou esse efeito nesse período de tratamento, enquanto os outros tratamentos do dia 5 não foram capazes de mitigar esse efeito. Vale destacar que no dia 1 de tratamento o grupo SHAM também apresentou um aumento na latência para início do *grooming* quando comparado ao controle ( $P= 0,0410$ ) e somente o grupo Creme ALA ( $P= 0,0058$ ) foi capaz de minimizar esse efeito, nenhuma diferença significativa foi observada entre os outros tratamentos desse

período.

No parâmetro frequência do *grooming* (Figura 18B), a análise mostrou que houve efeito significativo no fator “tratamento” [ $F(4, 86) = 18,95; P < 0,0001$ ], mas sem efeito significativo no fator “tempo” e sem interação entre os fatores segundo ANOVA. À análise do *post hoc* mostrou que os animais do grupo SHAM no dia 5 de tratamento tiveram uma redução na frequência do *grooming* quando comparado ao grupo controle do mesmo período ( $P < 0,0001$ ), enquanto os tratamentos do dia 5 de Hidrogel com alginato, Creme base e Creme ALA foram capazes de reduzir significativamente esse efeito ( $P < 0,0001$ ). Vale ressaltar que também no dia 1 de tratamento o grupo SHAM apresentou redução desse parâmetro quando comparado ao grupo controle ( $P = 0,0003$ ) e os tratamentos de Hidrogel com alginato ( $P = 0,0070$ ), Creme base ( $P = 0,0030$ ) e Creme ALA ( $P = 0,0068$ ) foram capazes de reduzir esse efeito com apenas 1 dia de tratamento.

Por outro lado, na avaliação do tempo total de *grooming* (Figura 18C) foi observado efeito significativo no “tempo” [ $F(1, 85) = 33,29; P < 0,0001$ ] e no “tratamento” [ $F(4, 85) = 29,13, P < 0,0001$ ], assim como interação estatisticamente significativa entre esses fatores [ $F(4, 85) = 8,886; P < 0,0001$ ] segundo ANOVA. Neste teste, o *post hoc* mostrou que o grupo SHAM no dia 05 de tratamento apresentou uma redução do tempo de *grooming* quando comparado ao controle ( $P = 0,0219$ ) e todos os tratamentos no dia 5 ( $P < 0,0001$ ) foram capazes de reduzir esse efeito. Além disso, no dia 1 de tratamento o grupo SHAM também apresentou redução desse parâmetro quando comparado ao grupo controle ( $P = 0,0002$ ) e novamente todos os tratamentos ( $P < 0,0001$ ) foram capazes de reduzir esse efeito com apenas 1 dia de tratamento.

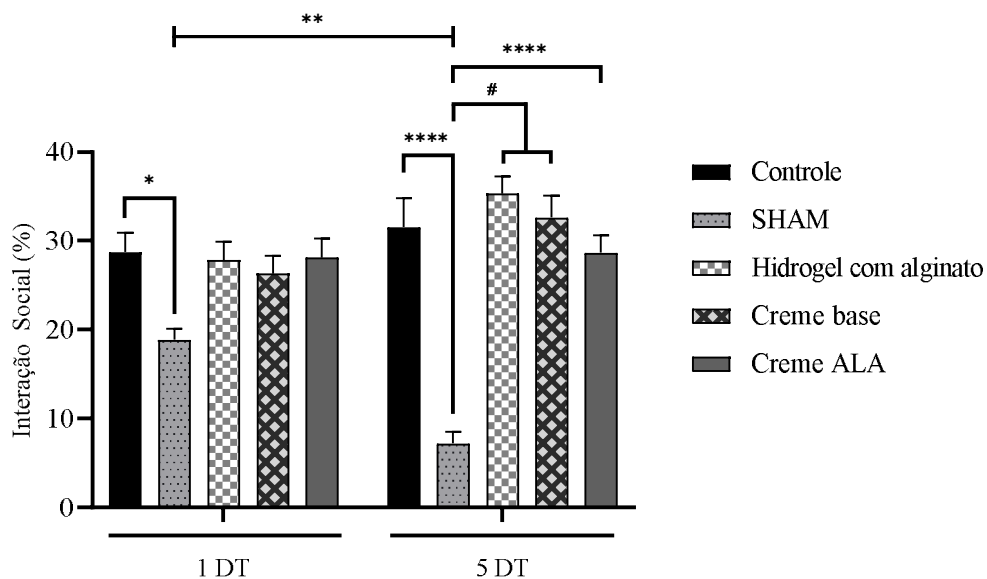
Figura 18 – Alterações no comportamento depressivo-símile associadas ao modelo de lesão por pressão em camundongos submetidos ao teste de borrifagem de sacarose.



Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e avaliados com 1 e 5 dias de tratamento pelo teste comportamental de borrifagem de sacarose. Foram avaliados a latência para *grooming* (A), número de *grooming* (B) e tempo total de *grooming* (C) Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=9-10 animais/grupo). \*P<0.05; \*\*\*P<0.001, \*\*\*\*P<0.0001, #P<0.05 quando comparado ao grupo 5 DT SHAM e &P<0.05 quando comparado ao grupo 1 DT SHAM de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

Ratificando os dados apresentados nos testes anteriores, a análise no teste de interação social (Figura 19) evidenciou um efeito significativo no “tratamento” [F (4, 88) = 23,06; P<0,0001] e interação estatisticamente significativa entre os fatores “tempo” e “tratamento” [F (4, 88) = 7,029; P<0,0001] segundo ANOVA. O *post hoc* mostrou que os animais do grupo SHAM no dia 5 de tratamento reduziram a interação social quando comparado ao mesmo grupo SHAM (P= 0,0048) do dia 1 de tratamento e ao controle (P<0,0001) no dia 5 de tratamento, enquanto os demais tratamentos no dia 5 foram capazes de minimizar significativamente esse efeito (P < 0,0001). Houve também uma redução desse parâmetro no dia 1 de tratamento quando comparado o grupo SHAM ao controle (P= 0,0462), mas quanto aos tratamentos, não houve diferença significativa entre eles e também não foram capazes de minimizar esse efeito com 1 dia de tratamento.

Figura 19 – Alterações no comportamento depressivo-símile associadas ao modelo de lesão por pressão em camundongos submetidos ao teste de interação social.



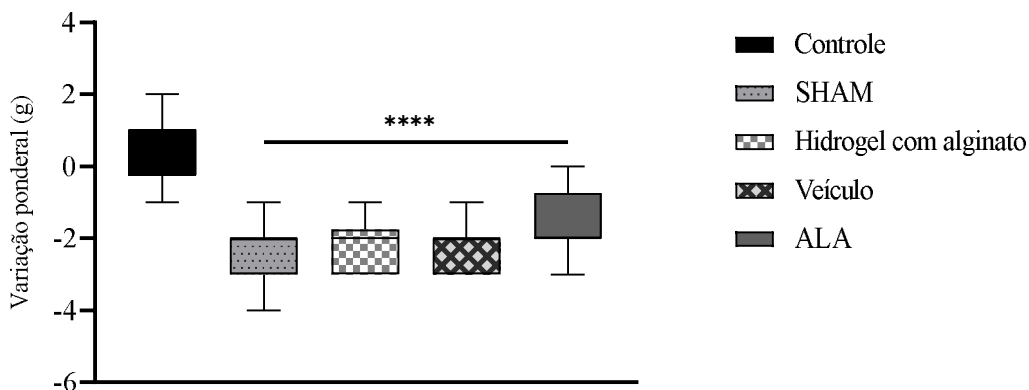
Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e avaliados com 1 e 5 dias de tratamento pelo teste comportamental de interação social. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=9-10 animais/grupo). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  e # $P < 0.05$  quando comparado ao grupo 5 DT SHAM, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

## 5.2 Efeitos sobre o peso corporal

A análise da variação de peso revelou que a indução da lesão por pressão leva a redução do peso dos animais [ $F=0,2488$  (4, 45);  $P < 0,0001$ ] segundo ANOVA. O teste *post hoc* revelou que o grupo controle apresentou uma menor redução de peso em relação aos grupos SHAM, hidrogel com alginato, Creme base e Creme ALA ( $P < 0,0001$ ).



Figura 20 – Efeitos da indução do modelo de lesão por pressão sobre o peso corporal de camundongos.



Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e no primeiro dia de protocolo e com 5 dias de tratamento foram pesados e a diferença entre os pesos obtidos foi calculada. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=8-10 animais/grupo). \*\*\*\*P<0.0001 quando comparado ao controle, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico.

### 5.3 Efeitos da lesão por pressão em parâmetros inflamatórios neurais, plasmático e tegumentares

Para avaliar o efeito da lesão por pressão e dos tratamentos tópicos adotados no estudo foram mensurados marcadores inflamatórios MPO em córtex pré-frontal, hipocampo, plasma e pele dos animais e concentração de TNF- $\alpha$  nas lesões/área de cicatriz.

#### 5.3.1 Atividade de Mieloperoxidase

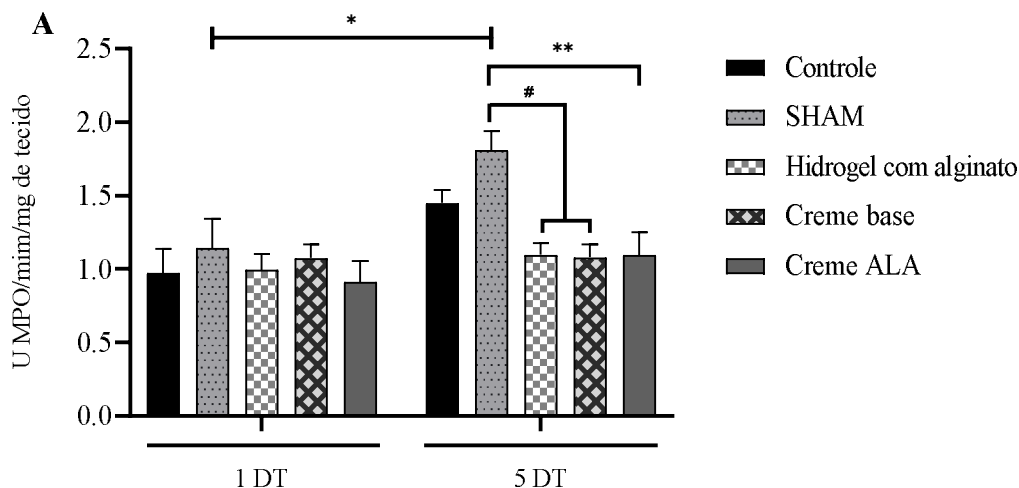
##### 5.3.1.1 Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade de mieloperoxidase em áreas cerebrais

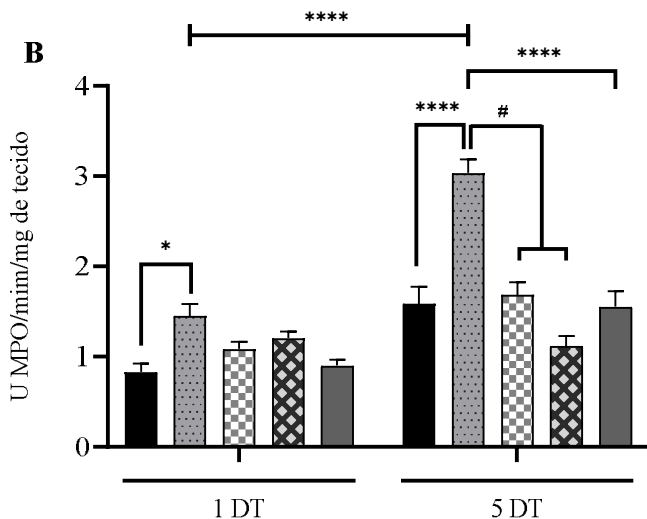
Na avaliação da atividade de mieloperoxidase no córtex pré-frontal (Figura 21A) foi evidenciado um efeito significativo no “tempo” [F (1, 86) = 14,91; P=0,0002] e “tratamento” [F (4, 86) = 3,462; P=0,0113], porém nenhuma interação foi observada entre esses fatores segundo ANOVA. Na análise *post hoc* foi evidenciado que houve aumento da atividade de mieloperoxidase do grupo SHAM no dia 5 de tratamento quando comparado ao mesmo grupo no dia 1 de tratamento (P=0,0274), mas não houve diferença quando comparado

ao controle do dia 5 de tratamento, enquanto os tratamentos de Hidrogel com alginato ( $P=0,0076$ ), Creme ALA ( $P= 0,0074$ ) e Creme base ( $P= 0,0039$ ) do dia 5 de tratamento foram capazes de reduzir os efeitos observados no grupo SHAM. Não houve diferença significativa entre os tratamentos do dia 1.

Já na análise da atividade de mieloperoxidase no hipocampo (Figura 21B), observou-se um efeito significativo no “tempo” [ $F(1, 86) = 67,66; P<0,0001$ ], “tratamento” [ $F(4, 86) = 19,68; P<0,0001$ ] e uma interação significativa entre esses fatores [ $F(4, 86) = 11,54; P<0,0001$ ] segundo ANOVA. O *post hoc* evidenciou que os animais do grupo SHAM do dia 5 de tratamento também tiveram o aumento da atividade enzimática nessa área cerebral quando comparado ao SHAM ( $P< <0,0001$ ) do dia 1 de tratamento e ao controle ( $P<0,0001$ ) do dia 5 de tratamento. Além disso, todos os demais tratamentos do dia 5 foram capazes de minimizar os efeitos associados ao grupo SHAM ( $P< <0,0001$ ) nessa área cerebral. Ademais, também foi visto um aumento desse parâmetro no dia 1 de tratamento quando comparado o grupo SHAM ao controle ( $P=0,0386$ ), mas não houve resposta significativa entre os tratamentos desse período.

Figura 21 – Alterações na atividade de mieloperoxidase em córtex pré-frontal e hipocampo de camundongos do modelo de lesão por pressão.



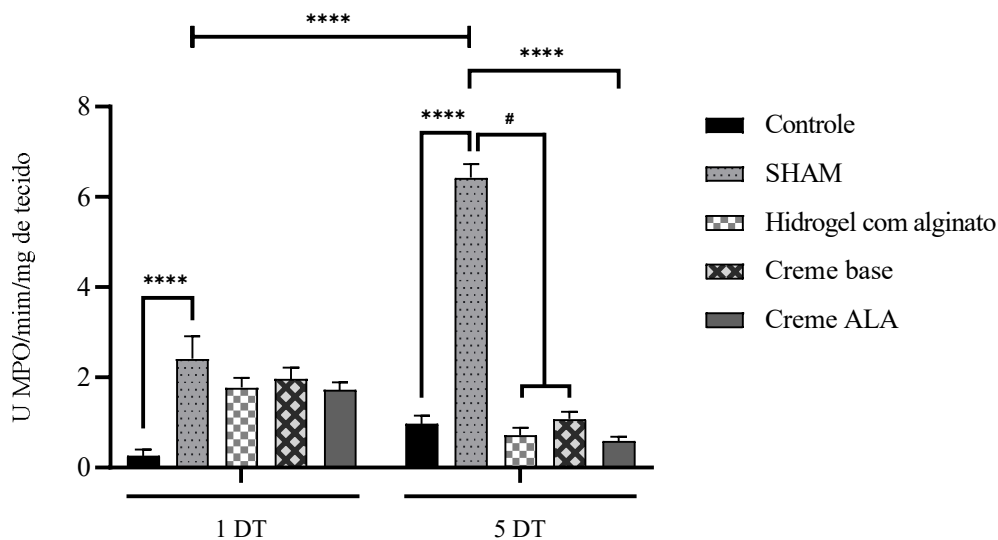


Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e avaliados com 1 e 5 dias de tratamento foram eutanasiados e tiveram o córtex pré-frontal (A) e hipocampo (B) dissecados. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=9-10 animais/grupo). \*P<0.05, \*\*\*\*P<0.0001 e #P<0.05 quando comparado ao grupo 5 DT SHAM, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

### 5.3.1.2 Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade de mieloperoxidase no plasma

No que concerne a avaliação da atividade da mieloperoxidase no plasma (Figura 22), a análise evidenciou um efeito significativo no “tempo” [F (1, 83) = 4,629; P=0,0343], “tratamento” [F (4, 83) = 75,44; P<0,0001] e na interação estatisticamente significativa entre esses fatores [F (4, 83) = 40,67; P<0,0001] segundo ANOVA. Já o *post hoc* demonstrou que o grupo SHAM no dia 5 de tratamento teve um aumento da atividade enzimática no plasma quando comparado ao grupo SHAM no primeiro dia de tratamento (P<<0,0001) e ao controle (P<0,0001) no dia 5 de tratamento. Além disso, todos os demais tratamentos do dia 5 foram capazes de reduzir os efeitos associados ao grupo SHAM (P<<0,0001) do dia 5. Vale ressaltar, foi observado um aumento da atividade de MPO quando comparado o grupo SHAM ao controle do dia 1 de tratamento (P<0,0001), mas nesse período nenhum dos tratamentos não foram capazes de minimizar esse efeito e não houve diferença significativa entre os mesmos.

Figura 22 – Alterações na atividade de mieloperoxidase no plasma de camundongos do modelo de lesão por pressão.

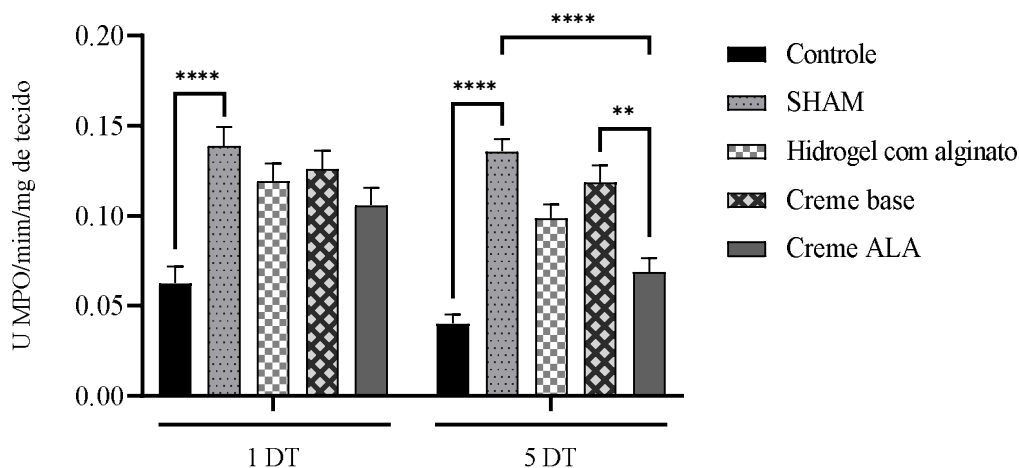


Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e avaliados com 1 e 5 dias de tratamento foram eutanasiados e tiveram o plasma coletado. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=9-10 animais/grupo). \*\*\*\*P<0.0001 e #P<0.05 quando comparado ao grupo 5 DT SHAM, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

### 5.3.1.3 Efeitos da lesão por pressão sobre a atividade de mieloperoxidase nas feridas

A avaliação da atividade da mieloperoxidase nas feridas (Figura 23), mostrou um efeito significativo no “tempo” [F (1, 85) = 14,93; P=0,0002] e “tratamento” [F (4, 85) = 28,44; P<0,0001], porém nenhuma interação foi observada entre esses fatores segundo ANOVA. O *post hoc* evidenciou o aumento da atividade dessa enzima quando comparado o grupo SHAM ao controle (P<0,0001) no dia 5 de tratamento, e somente o tratamento com creme ALA no dia 5 foi capaz de reduzir os efeitos associados ao SHAM (P< <0,0001), vale ressaltar que também foi visto que o creme ALA reduziu de forma expressiva a atividade de MPO quando comparado ao Creme base (P= 0,0059) do mesmo período de tratamento. Além disso é possível observar que houve um aumento da atividade dessa enzima quando comparado o grupo SHAM e ao controle já no dia 1 de tratamento (P <0,0001), mas os tratamentos desse período não foram capazes de mitigar os efeitos causados pelo SHAM.

Figura 23 – Alterações na atividade de mieloperoxidase nas áreas de feridas de camundongos do modelo de lesão por pressão.



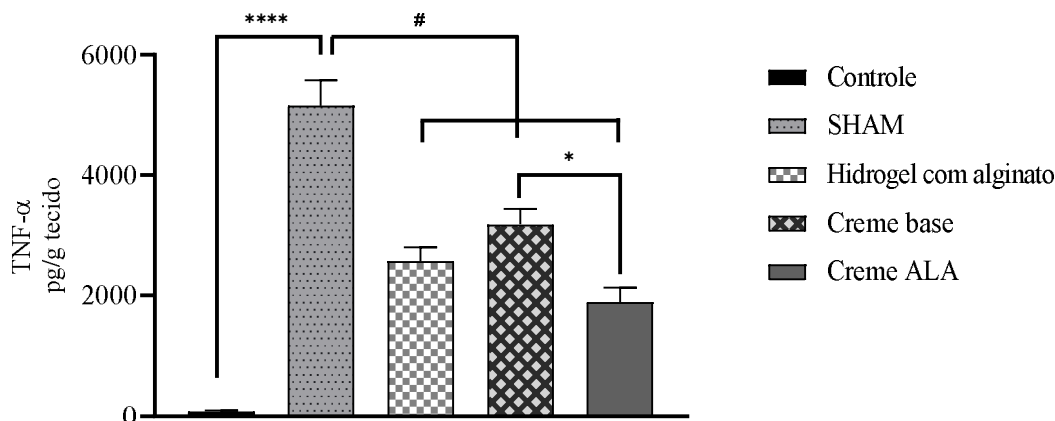
Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e avaliados com 1 e 5 dias de tratamento foram eutanasiados e tiveram a área da ferida coletada. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=9-10 animais/grupo). \*\*P<0.01 e \*\*\*\*P<0.0001, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

## 5.4 Concentração de TNF- $\alpha$

### 5.4.1. Efeitos da lesão por pressão sobre a concentração de TNF- $\alpha$ na lesão

Com relação a quantificação de TNF- $\alpha$  nas áreas de feridas (Figura 24) foi evidenciado que a indução da lesão por pressão causa um aumento significativo nas concentrações dessa citocina [F= 36,50; P<0,0001] segundo ANOVA. O *post hoc* mostrou que os animais do grupo SHAM apresentam um aumento de TNF- $\alpha$  quando comparado a todos os grupos: controle, hidrogel com alginato, Creme Base e Creme ALA (P<0,0001). Vale destacar que o grupo ALA demonstrou uma menor concentração de TNF- $\alpha$  quando comparado ao Creme base (P= 0,0108).

Figura 24 – Alterações nas concentrações de TNF- $\alpha$  nas áreas de feridas de camundongos do modelo de lesão por pressão.



Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento, foram eutanasiados e tiveram a área da ferida coletada. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=7-8 animais/grupo). \*P<0.05, \*\*\*\*P<0.0001 e #P<0.05 quando comparado ao SHAM, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico.

## 5.5 Efeitos sobre o processo cicatricial

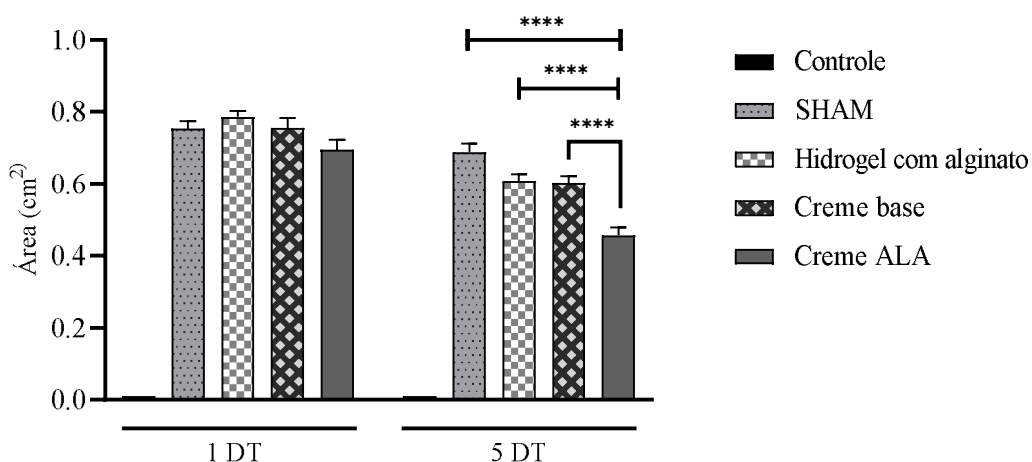
Para avaliar o efeito da lesão por pressão e dos tratamentos tópicos com creme ALA, creme base e hidrogel com alginato sobre o processo cicatricial, foram quantificados parâmetros macroscópicos (área e porcentagem de contração da ferida) e parâmetros histopatológicos (infiltrado inflamatório, fibrose e proliferação vascular).

### 5.5.1. Efeitos da lesão por pressão e dos tratamentos tópicos sobre a área e porcentagem de contração da ferida

No que se refere à avaliação da área da lesão (Figura 25), a análise evidenciou um efeito significativo no “tempo” [F (1, 188) = 97,66; P<0,0001] e “tratamento” [F (4, 188) = 441,1; P<0,0001], assim como interação estatisticamente significativa entre esses fatores [F (4, 188) = 10,76; P<0,0001] segundo ANOVA. O *post hoc* mostrou que o tamanho da área da ferida com 1 dia de tratamento foi muito homogênea, sem diferenças significativas entre os tratamentos. Já no dia 5 de tratamento o Creme ALA mostrou o melhor desempenho na redução da área de ferida em relação ao SHAM (P<<0,0001), assim como quando comparado

ao Hidrogel com alginato ( $P < 0,0001$ ) e ao Creme base ( $P < 0,0001$ ), e não houve diferença significativa entre os outros tratamentos e o SHAM.

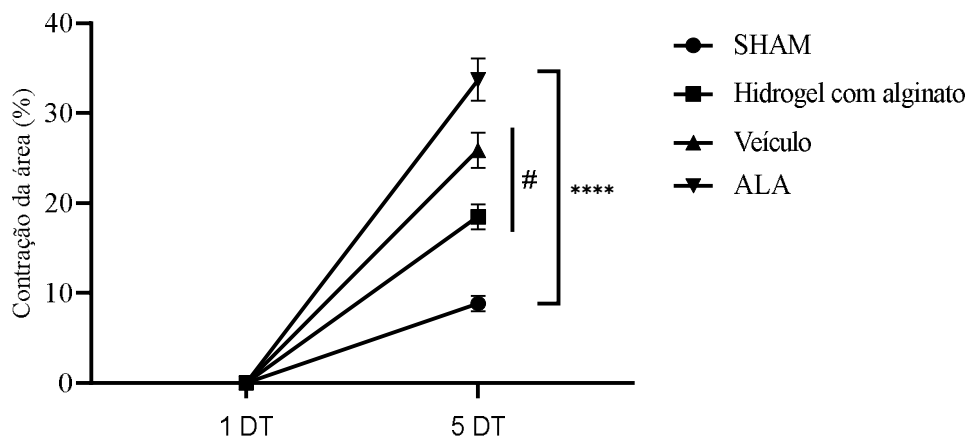
Figura 25 – Efeito dos tratamentos sobre a área da ferida ( $\text{cm}^2$ ) no modelo experimental de lesão por pressão.



Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e depois tiveram a área da ferida fotografada. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM ( $n=18-20$  feridas/grupo). \*\*\*\* $P < 0,0001$ , de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

Já sobre a porcentagem de contração da ferida (Figura 26), também foi verificado um efeito significativo no “tempo” [ $F(1, 148) = 649,4; P < 0,0001$ ] e “tratamento” [ $F(3, 148) = 38,09; P < 0,0001$ ], assim como interação estatisticamente significativa entre esses fatores [ $F(3, 148) = 38,09; P < 0,0001$ ] segundo ANOVA. O *post hoc* mostrou que o grupo Creme ALA mostrou melhor desempenho na contração da ferida quando comparado ao grupo SHAM ( $P < 0,0001$ ), os outros dois tratamentos, hidrogel com alginato e Creme base, também apresentaram um bom percentual de redução quando comparado ao grupo SHAM ( $P < 0,0001$ ).

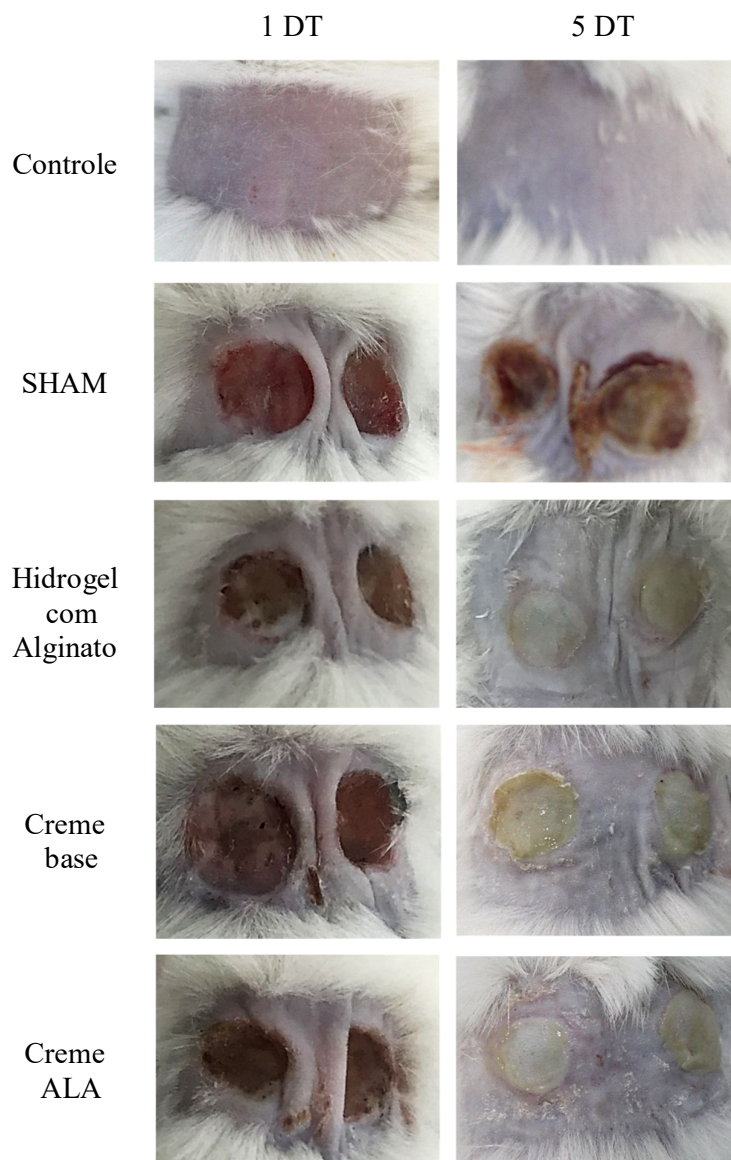
Figura 26 – Efeito dos tratamentos sobre a porcentagem de contração da ferida no modelo experimental de lesão por pressão.



Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e depois tiveram a área da ferida fotografada. Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=18-20 feridas/grupo). \*\*\*\*P<0.0001 quando comparado ao ALA e #P<0,0001 quando comparado ao SHAM, de acordo com two-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.



Figura 27 – Fotografias do efeito dos tratamentos sobre a cicatrização em diferentes dias no modelo experimental de lesão por pressão.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

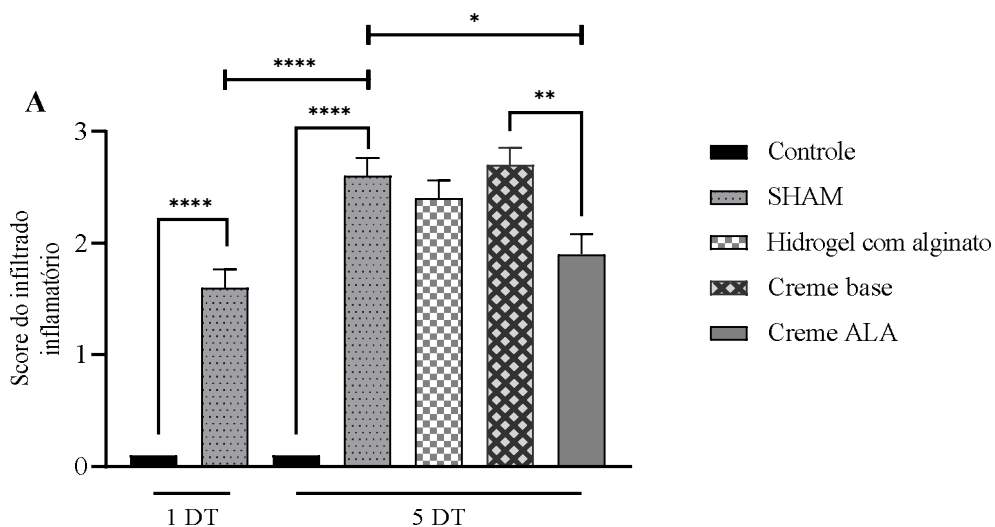
Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento e depois tiveram a área da ferida fotografada. DT – Dia de Tratamento.

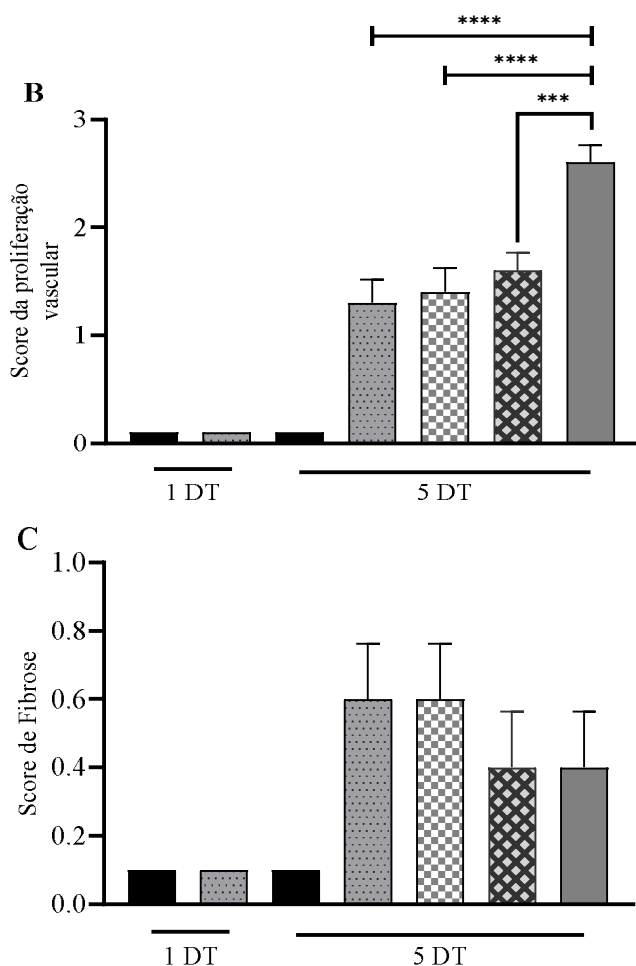
### 5.5.2. Efeitos da lesão por pressão e dos tratamentos tópicos sobre os parâmetros histopatológicos

No tocante a avaliação histopatológica da lesão no aspecto de quantificação de infiltrado inflamatório (Figura 28A) foi evidenciado que a indução da lesão por pressão causa um aumento significativo nesse parâmetro [ $F= 63,98$ ;  $P<0,0001$ ] segundo ANOVA. O *post hoc* mostrou que os animais do grupo SHAM do dia 5 de tratamento apresenta um aumento do *score* quando comparado ao SHAM de 1 dia de tratamento ( $P<0,0001$ ) e ao controle ( $P<0,0001$ ) no dia 5 de tratamento. Vale apontar que o creme ALA foi o único tratamento capaz de reduzir esse efeito após 5 dias de tratamento ( $P= 0,0121$ ), ainda sobre as diferenças significativas entre os tratamentos, foi observado que o creme ALA demonstrou redução significativa quando comparado ao creme base ( $P= 0,0025$ ), não houve outras diferenças significativas no tratamento de 5 dias.

Já na avaliação do escore de proliferação vascular (figura 28B), foi visto que após 5 dias de tratamento apenas o creme ALA foi capaz de estimular a proliferação vascular quando comparado ao grupo SHAM ( $P= 0,0121$ ), e quanto as diferenças entre os tratamentos, o creme ALA comparado ao creme base ( $P= 0,0002$ ) e ao Hidrogel com Alginato ( $P= . <0,0001$ ) apresentou um maior *score* de proliferação vascular. Na análise da fibrose (figura 28C) não houve diferença significativa entre os grupos.

Figura 28 – Efeito dos tratamentos sobre os scores histopatológicos de feridas no modelo experimental de lesão por pressão.

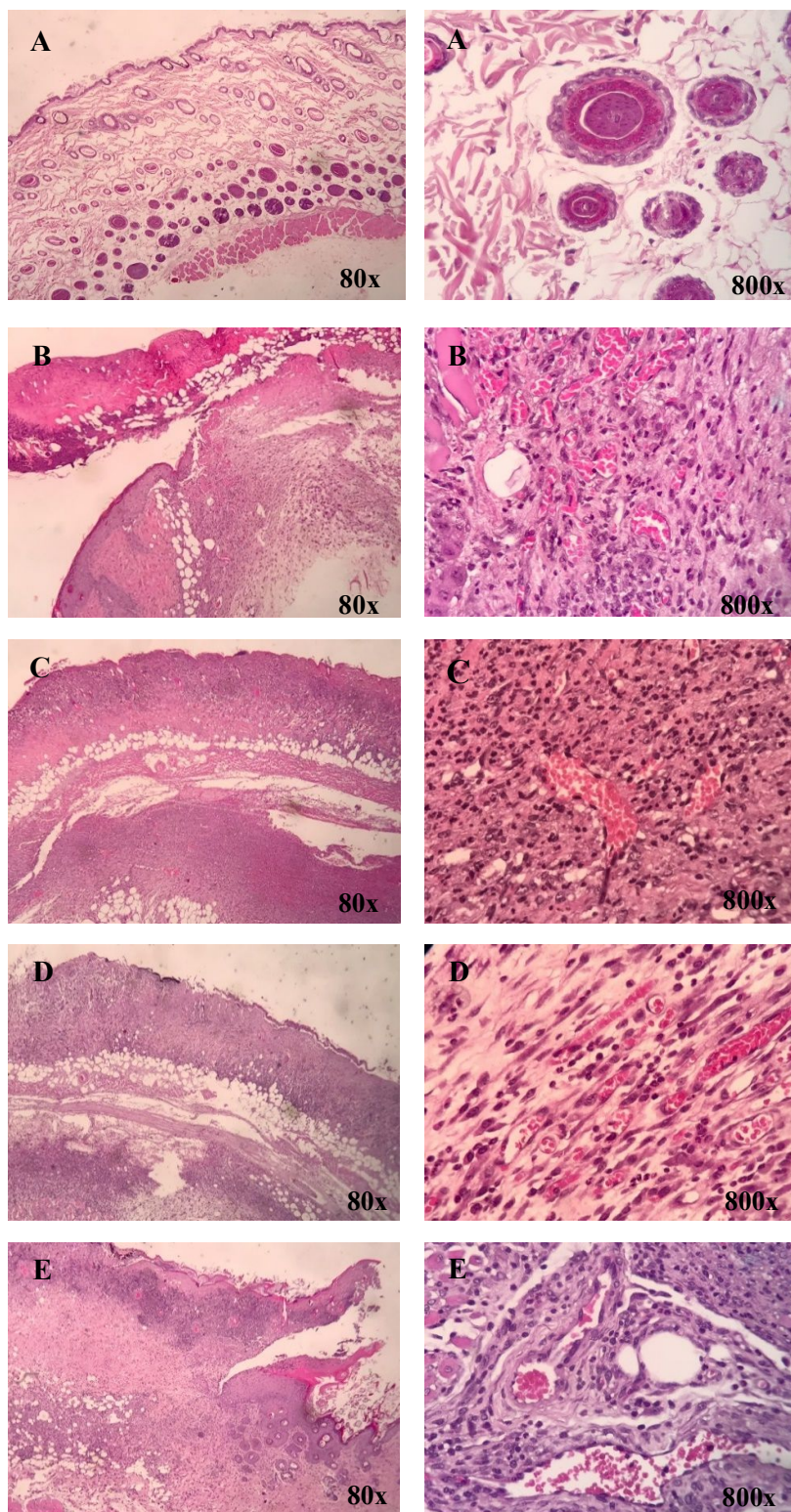




Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento, foram eutanasiados e tiveram a área da ferida coletada para análise do score inflamatório (A), proliferação vascular (B) e fibrose (C). Cada coluna representa a significância  $\pm$  SEM (n=8-10 feridas/grupo). \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 e \*\*\*\*P<0.0001, de acordo com one-way ANOVA seguido do teste de Turkey para múltiplas comparações. Abreviações: ALA – ácido alfa-lipóico; DT – Dia (s) de tratamento.

Sobre a visualização das lâminas foi possível observar que a pele íntegra (figura 29A) apresenta estruturas e quantificação de células de forma basal, sem alterações inflamatórias, já o SHAM (figura 29B) predomina uma infiltrado de neutrófilos com baixo escore de crescimento vascular; a lesão tratada com hidrogel com alginato (figura 29C) e a lesão tratada com o creme base (figura 29D) apresentam mesmo perfil de inflamação, também com presença de neutrófilos e uma baixa angiogênese semelhante ao do grupo SHAM. O melhor resultado foi encontrado nos *scores* do creme ALA ( figura 29E), onde foi visto uma diminuição da contagem de neutrófilos quando comparado ao grupo SHAM e um aumento de angiogênese. Quanto a fibrose não possível observar nenhuma diferença entre os grupos, isso poderia ser explicado ao tratamento curto, onde não foi possível uma epitelização total das lesão.

Figura 29 – Fotomicrografias representativas de cortes histológicos da ferida de camundongos submetidos ao modelo de lesão por pressão e seus tratamentos.



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

Os animais foram submetidos a indução da lesão por pressão do 1º ao 4º dia. Do 5º ao 9º dia do protocolo os animais foram submetidos aos esquemas de tratamento. Pele íntegra dos animais que não tiveram a indução da lesão (A), animal com lesão sem tratamento (B), lesão tratada com hidrogel com alginato (C), lesão tratada com o creme base (D) e lesão tratada com o creme ALA (E). Hematoxilina & Eosina – 80x e 800x. Todas as lâminas são de animais com 5 dias de tratamento.

## 6 DISCUSSÃO

O presente estudo é o primeiro a investigar o efeito cicatrizante do ALA tópico em creme no modelo animal de lesão por pressão, assim como a influência desse modelo e seus tratamentos tópicos sobre as alterações comportamentais e neuroquímicas em camundongos. Vale destacar, que os aspectos cicatriciais aqui examinados buscam evidências relacionadas a achados clínicos, proporcionando assim suporte científico para perspectivas de um novo tratamento tópico das LP.

A LP sem tratamento foi capaz de comprometer a atividade locomotora e exploratória, induziu ao comportamento depressivo-símile, influenciou a variação de peso e alterou os parâmetros inflamatórios nas áreas cerebrais, plasma e área de ferida dos camundongos. E quanto aos aspectos da cicatrização, o creme ALA, dentre os tratamentos, foi o que apresentou melhor desempenho nos parâmetros avaliados, além desse efeito cicatrizante, também foi possível perceber a mitigação do comportamento depressivo desses animais.

Diversos estudos têm mostrado a coexistência do prejuízo clínico da saúde mental e a presença das condições crônicas, o que representa um grande desafio no cuidado em saúde, onde as condições físicas crônicas impõem uma carga muito alta de estresse aos indivíduos que convivem com essas circunstâncias, mostrando que essa relação predispõe uma forte associação com o risco de desenvolvimento de quadros depressivos (MOUSSAVI et al., 2007; PARK et al., 2017; LOTFALIANY et al., 2018; SENRA; MCPHERSON, 2021).

Mesmo com o avanço nas pesquisas que buscam entender a relação de depressão e as condições crônicas ainda há uma escassez de evidências de quais seriam os fatores que mediam essa associação bidirecional. Contudo, tem se visto que a desregulação imunológica tem um grande potencial entre essa relação, envolvendo, principalmente, os níveis aumentados da circulação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- $\alpha$  (HODES et al., 2015; WOHLEB et al., 2016).

Apesar de a LP ainda não ter sido desenhada como um modelo robusto de indução da depressão, estudo conduzido com esse modelo demonstrou a ocorrência de características comportamentais e fisiopatológicas encontradas na clínica da depressão (AQUINO et al., 2021). O modelo adotado nesta pesquisa assemelha-se com os estudos que trabalham com eventos estressores (HENN; VOLLMEYR, 2005; WILLNER et al., 1987) e esses eventos cursam com alterações no sistema imunológico periférico e central, ocasionando uma hiperativação de



citocinas pró-inflamatórias, fenômeno que está associado aos transtornos de humor (CAPURON; MILLER, 2011; MAES et al., 2011; BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020).

Destaca-se assim a importância de se investigar a LP e seus tratamentos tópicos na busca de sua relação com a depressão, pois a LP possui características de impor um estresse recorrente, podendo levar meses até a sua cicatrização (NAN et al., 2012). Na intenção de investigar o papel cicatrizante do ALA, atualmente, já está sendo descrito que além de suas propriedades antioxidantes únicas, ele também demonstrou repetidamente possuir efeitos inibitórios sobre marcadores inflamatórios em humanos e animais (MOURA et al., 2015; WANG et al., 2016; TIBULLO et al., 2017), se tornando assim uma perspectiva de tratamento tópico futuro. Diante do exposto, testes comportamentais, neuroquímicos e parâmetros cicatriciais foram sucedidos para identificação dos efeitos do modelo de LP e seus tratamentos em animais.

Já está bem descrito na literatura que a depressão possui perfis clínicos diferentes e, portanto, provavelmente tem fisiopatologias diferentes, contudo existe um grupo de sintomas altamente presente e nocivo nesses quadro clínicos, os distúrbios psicomotores. Esses distúrbios são tipicamente classificados como um retardo psicomotor, isto é, desaceleração ou redução dos movimentos físicos (SOBIN; SACKEIM, 1997; AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013). Dentre as manifestações clínicas podemos observar a desaceleração envolvendo a marcha e processos mentais, movimentos faciais, fala, gestos e comprometimento do motor fino (AN et al., 2019).

O retardo psicomotor representa um importante sintoma do transtorno de depressão, estando incluído na maioria das classificações diagnósticas e apresentando significado prognóstico e fisiopatológico (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013; SHANKMAN; MITTAL; WALTHER, 2020; ROBIN et al., 2019). Sobre a base neural dos distúrbios psicomotores na depressão ainda se tem muitos mecanismos desconhecidos, mas já sabe-se que existe uma ligação com as alterações das vias motoras presentes na substância branca (BRACHT et al., 2012; WALTHER et al., 2012) e os estados hipodopaminérgicos na região frontoestriatal (AUSTIN et al., 2000; THOMAS-OLLIVIER et al., 2017).

Corroborando essa ideia, no presente estudo foi investigado a atividade locomotora e exploratória dos animais, onde realizou-se o teste do campo aberto e os nossos achados apontam que a LP sem tratamento provocou redução da atividade locomotora no teste de campo aberto, comportamento reportado em estudos recentes de diferentes modelos animais de depressão (SILVA et al., 2013; FAN et al., 2018; HU et al., 2020).

Além disso, foi observado que os tratamentos com o creme ALA, creme base e hidrogel com alginato, com 5 dias de tratamento, foram capazes de minimizar esse efeito, confirmando dados que mostram que o tratamento de lesões periféricas melhoram o desempenho psicomotor dos animais, sugerindo que a melhora do quadro inflamatório e a remissão dos quadros álgicos tenham papel nessa regulação (LIDDELOW; BARRES, 2017; JIAN et al., 2019; LAUMET et al., 2020). Assim, foi possível entender que os tratamentos tópicos aqui estabelecidos para a LP, são importantes na redução do impacto no retardo psicomotor imposto pela LP não tratada.

Em concordância, visto que a alteração psicomotora tem sido considerada um sintoma cardinal da depressão, estudos que avaliaram pacientes com transtornos depressivos, demonstram que esses pacientes possuem uma diminuição da atividade motora e que esses níveis melhoram/aumentam no decorrer do tratamento clínico (KRANE-GARTISER et al., 2015; PEIS et al., 2020). Ainda sobre as alterações psicomotoras, agora relacionado a prática de atividade física, foi visto que a depressão tem influência negativa sobre esse aspecto, validando a presença dos sintomas depressivos e a não realização ou diminuição de exercícios, fato que ainda pode ser exacerbado na presença de situações crônicas, como uma lesão crônica (KRUGER et al., 2014).

Além disso, a literatura aponta que as citocinas podem ser um fator mediador da atividade motora alterada em certas condições psiquiátricas (CARVALHO et al., 2014). O mecanismo pelo qual as citocinas poderiam influenciar a atividade motora se daria por meio de alterações na atividade neural e no metabolismo da dopamina nos gânglios da base (FELGER; TREADWAY, 2017a), correlacionando a coexistência do retardo psicomotor e a presença de um perfil inflamatório periférico observados em pacientes ambulatoriais com depressão (GOLDSMITH et al., 2016).

Com o intuito de investigar a atividade ansiolítica/ansio gênica, foi avaliado, no teste de campo aberto, o número de *rearing* e *grooming*, parâmetros que não demonstraram diferenças significativas entre os grupos.

Entretanto, o parâmetro de tempo gasto no centro, um traço comportamental que geralmente se observa através de uma preferência do animal em permanecer próximo às paredes do aparato e evita o quadrante central, de modo que o comportamento relacionado à ansiedade pode ser medido pelo grau em que os animais evitam o centro. Assim, o aumento da atividade central indica alto comportamento exploratório e baixos níveis de ansiedade (ZORKINA et al., 2019).



Os resultados encontrados deste parâmetro mostram um aumento no tempo de permanência no centro do aparato daqueles animais que não tiveram a lesão tratada, revelando um aumento do comportamento exploratório dos animais e uma atividade não ansiogênica da LP. Sabemos que os transtornos depressivos e a ansiedade são altamente comórbidos (ZBOZINEK et al., 2012), mas contestando essa afirmação e corroborando com o resultado encontrado no presente estudo, foi visto que eventos estressores que delimitam um comportamento depressivo, nem sempre estarão associados ao comportamento ansioso (SHU et al., 2015), isso pode ser explicado devido ao fato de multifatorialidade da fisiopatologia das doenças psíquicas.

Para avaliação do potencial efeito depressivo de uma LP não tratada foram conduzidos os testes de suspensão da cauda, borrifagem de sacarose e interação social. O teste de suspensão de cauda baseia-se no fato de que, quando suspensos, camundongos apresentam um padrão temporal de movimentação para escapar seguido de imobilidade, sendo esse um dos testes relevantes para determinação do *screening* do comportamento semelhante à depressão. O aumento do tempo de imobilidade nesse teste sugere um comportamento depressivo. Uma variedade de transtornos neuropsiquiátricos, incluindo depressão, são caracterizados por perturbações nesse comportamento (STERU et al., 1985; CRYAN; MOMBÉREAU; VASSOUT, 2005; LIU et al., 2018).

Concordando com essa ideia, estudos que utilizaram modelos de estresse, demonstram que os animais que apresentam um comportamento depressivo-símile exibem um aumento no tempo de imobilidade durante esse teste (AUTRY et al., 2009; YANG et al., 2016; ZHAO et al., 2018). De modo semelhante, o grupo lesão sem tratamento apresentou aumento do tempo de imobilidade no teste de suspensão de cauda quando comparado com o grupo controle, ressaltando que todos os tratamentos de 5 dias foram capazes de minimizar esse efeito, reforçando mais uma vez que a implementação de um tratamento adequado da LP é primordial na redução das repercussões comportamentais relacionadas ao comportamento depressivo.

Sabemos que os eventos de vida estressantes já estão sendo legitimados e pesquisados como forte mecanismo de depressão, apesar de que as vias que são interligadas com essas duas condições ainda não são bem compreendidas. Mas, sabe-se que o elo entre estresse e depressão não é unidirecional, estático e nem tampouco simples. Trata-se de uma condição mediada por diversas vias como a desregulação do eixo HHA, alteração de estruturas cerebrais, hiperativação simpática e outros (HAMMEN, 2015).

Contudo, acreditamos que o efeito antidepressivo indireto, pois trata-se de uma

terapêutica tópica, aqui exibido esteja, em parte, associado aos efeitos anti-inflamatórios dos tratamentos (KOPSCHINA FELTES et al., 2017), especialmente, ao tratamento tópico com creme ALA (YILDIRIM BAŞ et al., 2017), tendo em vista seu desempenho superior na redução da imobilidade. Além disso, estudos clínicos com pacientes hospitalizados mostram que a dor é um sintoma fortemente associado às LP e que a cicatrização da lesão tem grande influência na resolução do sofrimento psíquico e dos quadros depressivos relacionados ao estresse causado nesse cenário de uma lesão bastante dolorosa (BRIGGS et al., 2013; KIM et al., 2019).

Além dos sintomas já abordados relacionados ao humor deprimido, um outro importante sintoma que faz parte do escopo sintomatológico da depressão é o déficit no autocuidado, pois tem impactos negativos no manejo e prognóstico do paciente com depressão por estar ligado a maior risco a saúde e menor resposta terapêutica pela quebra de vínculo contínua entre o paciente e seus prestadores de cuidado em saúde. Esse fato ocorre provavelmente pela adoção de comportamentos que não colaboram com tratamento, como a falha na adesão ao plano terapêutico (SHIN et al., 2017; PILKINGTON; WIELAND, 2020).

Para investigar dificuldades no autocuidado foi realizado o teste de borrifagem de sacarose, amplamente utilizado para avaliar esses tipo de sintoma em modelos animais de depressão (VIEIRA et al., 2020; WANG et al., 2018).

De acordo com este teste, a lesão sem tratamento promoveu um comportamento semelhante ao déficit de autocuidado associado ao aumento da latência para início do *grooming*, diminuição do tempo e a frequência de *grooming*. Esses dados corroboram estudos relacionados ao estresse que apontam comportamentos semelhantes em modelos animais de depressão (MENARD et al., 2017; FRISBEE et al., 2015; RINCÓN-CORTÉS; GRACE, 2020). Reforçando que o déficit motivacional relacionado a dificuldade com o autocuidado está presente em animais de modelo depressivo, estudo que utilizou outro tipo de estressor, separação materna, evidenciou também esse prejuízo no autocuidado nos animais do modelo (SADEGHI; PEERI; HOSSEINI, 2016).

Esse achado, além de ratificar o resultado obtido no teste de suspensão da cauda, está relacionado com o aspecto translacional do estudo, pois quando uma pesquisa avaliou a relação de feridas crônicas e o desenvolvimento de quadros neuropsiquiátricos, foi visto que pacientes que possuem uma lesão por pressão tendem a apresentar desde quadros leves a graves de depressão e esses episódios estão relacionados a percepção da perda do interesse nas atividades cotidianas e ao autocuidado prejudicado desses pacientes (SANTO et al., 2013).

Foi observado que somente o creme ALA reduziu o efeito da lesão por pressão sem

tratamento sobre a latência para *grooming*, enquanto todos os tratamentos, foram efetivos em aumentar o tempo e a frequência de *grooming*. Esse dado mostra que o tratamento tópico com o creme ALA possui importante efeito antidepressivo indireto ao mitigar o comportamento semelhante ao déficit de autocuidado provocado pela LP. Essa ação possivelmente está associada a ação anti-inflamatória do ALA já que a inflamação tem recebido crescente atenção no processamento de motivação na depressão tanto pré-clinicamente quanto clinicamente (MILLER; RAISON, 2016; FELGER; TREADWAY, 2017b; LEE et al., 2018; COSTI et al., 2021).

Reforçando os achados de déficits motivacionais encontrados, foi visto em um estudo que utilizou um método de recompensa monetária, a demonstração de evidências da diminuição da disposição de fazer esforços por recompensas entre indivíduos com depressão (YANG et al., 2014), reforçando a ideia de que o déficit motivacional é um sintoma característico do transtorno depressivo.

O comprometimento da sociabilidade é outro elemento que destaca-se e tem influência direta na qualidade de vida de pacientes com depressão, pois está associado a um importante prejuízo de interação com os pares e largamente tem sido observado como sintoma dos distúrbios depressivos (KUPFERBERG; BICKS; HASLER, 2016; KOMORI; MAKINODAN; KISHIMOTO, 2019). Baseado neste fato, foi conduzido o teste de interação social que pode ser facilmente medido em camundongos usando o teste do paradigma das três câmaras, conhecido como teste de sociabilidade e preferência por novidade social (CRAWLEY, 2004; CRAWLEY et al., 2007).

Este teste é um dos mais relevantes para déficits sociais em modelos animais e, por isso, foi utilizado como ferramenta de estudo para elucidação do efeito dos tratamentos tópicos com o creme ALA, creme base e hidrogel com alginato sobre o comportamento social de animais submetidos ao modelo experimental de lesão por pressão.

Este teste é baseado na exploração espontânea pelo animal de qualquer uma das três câmaras da caixa, incluindo o contato indireto com um animal estranho ao seu convívio. Os animais que passam menos tempo interagindo com o outro camundongo estranho são considerados animais com comportamento semelhante ao da depressão (BERGER et al., 2019; JAEHNE et al., 2015). Neste teste, a lesão sem tratamento causou um déficit no comportamento social, corroborando dados já existentes na literatura (IÑIGUEZ et al., 2014; FORBES et al., 2020; DANIELS et al., 2021).

Além dos resultados observados em animais que não tiveram sua lesão tratada,

observou-se também que todos os tratamentos propostos minimizam o déficit social provocado pelo modelo de LP, além do que foi visto que existe um aumento desse déficit relacionado ao tempo em que essa lesão não recebe tratamento, traduzido como uma piora dos sintomas. Esse achado corrobora os outros parâmetros do estudo que apontam o efeito antidepressivo indireto do tratamento tópico com creme ALA, assim como os outros tratamentos possuem uma resposta positiva na redução desses efeitos.

Corroborando com os achados acima, um estudo clínico realizado com 50 pacientes com lesão medular e lesão por pressão que foram avaliados através do Inventário de Depressão de Beck, demonstrou que 14 (28%) tiveram depressão leve a moderada. Além disso verificou-se que 48 (96%) pacientes apresentaram como sintoma de depressão a distorção da imagem corporal; 48 (96%), ideia suicida; 31 (62%), autodepreciação; 30 (60%), retração social e falta de satisfação; 24 (48%), demonstrando as alterações presentes em pacientes com LP (ALMEIDA et al., 2013). Diante disso, um tratamento tópico efetivo para a cicatrização de LP poderia representar uma melhora em quadros depressivos associados à lesões de pele.

Além das alterações comportamentais, investigou-se o efeito do modelo e dos tratamentos sobre o peso dos animais. Pois já foi visto que em situações de estresse ocorre uma redução do ganho de peso relacionado com os sintomas da depressão (STERNER; KALYNCHUK, 2010), sendo um sintoma considerado para a classificação diagnóstica (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Com isso as pesquisas já mostraram que o resultado mais comum relatado em animais é que o estresse reduz a ingestão de alimentos e o peso corporal de uma maneira que está diretamente relacionada à gravidade do estresse, porque isso faz com que ocorra a mobilização das reservas de energia do corpo como mecanismo de adaptação para responder a uma situação ameaçadora (RABASA; DICKSON, 2016).

Ratificando essa informação, os achados do presente estudo mostram que essa alteração foi facilmente identificada a partir da mensuração do peso ao longo do protocolo e cálculo da diferença entre o peso final e inicial, onde foi identificado que os animais que tiveram a indução da LP reduziram seu peso e nenhum tratamento tópico foi capaz de minimizar esse efeito, demonstrando que os impactos causados pelo estresse recorrente da LP possui repercussões que o tratamento tópico por si só não é capaz de debelar sozinho. Outros estudos mostram que o estresse causa essa redução de maneira diretamente relacionada à gravidade do estresse, quanto maior seja estímulo, maiores serão as repercussões (VALLÈS et al., 2000; GARCÍA et al., 2000; DAVIU et al., 2014), mostrando que existe uma correlação entre estresse

e efeitos catabólicos.

É importante ressaltar que enquanto em roedores o estresse geralmente induz a perda de peso, em humanos esse efeito nem sempre é observado, na verdade é demonstrado que o estresse pode aumentar o peso corporal aliado a preferência por alimentos saborosos, isso explica-se pelo fato do estresse envolve vias que conferem o valor de recompensa aos alimentos, através da via mesocorticolímbica da dopamina em humanos (EPEL et al., 2001; PECORARO et al., 2004; RABASA et al., 2015). Visto isso, um estudo mostrou que americanos com depressão possuem uma predição particularmente alta ao ganho de peso e obesidade no decurso clínico da doença (POLANKA et al., 2017).

Associado as alterações comportamentais, ocorrem também diversas alterações neuroquímicas relacionadas aos diferentes mecanismos fisiopatológicos envolvidos na depressão. Essas alterações estão frequentemente associadas a diversas áreas e circuitos cerebrais gerando os sintomas verificados na clínica.

Dentre essas áreas, o córtex pré-frontal, uma das áreas do cérebro mais estudadas na biologia da depressão, está associado a funções importantes, como a resolução de problemas, análise, controle de impulsos, motivação, atenção seletiva, controle de emoção e memória de trabalho (GARCIA et al., 2009; HISER; KOENIGS, 2018; LI et al., 2010; STAHL, 2014). As alterações nessa área estão ligadas a sintomas como déficits cognitivos, problemas na tomada de decisão e apatia.

Já o hipocampo, outra área cerebral intimamente associada com os transtornos depressivos, está relacionada com sintomas como apatia, perda de interesse, alterações do sono, alterações no peso/apetite e déficit de memória, sendo essa uma sintomatologia vista em muitos pacientes deprimidos (JIANG et al., 2013; BAI et al., 2014; JAYAWEERA et al., 2015). E os danos nessa área podem estar associados a uma disfunção cognitiva importante na dimensão clínica no transtorno depressivo, afetando o processo de aquisição de conhecimento e entendimento que estão reciprocamente conectados às emoções (CHAKRABARTY; HADJIPAVLOU; LAM, 2016).

Tendo em vista a importância de tais áreas cerebrais, foram investigados parâmetros inflamatórios, vistos também no plasma e nas áreas de feridas diante do modelo de LP e seus tratamentos tópicos com creme ALA, hidrogel com alginato e creme base, na busca de compreender o possível papel de uma inflamação oriunda de uma lesão periférica com repercussões centrais.

Diante desse cenário, a literatura já vem descrevendo uma importante relação entre

os distúrbios neuroendócrinos, imunidade e inflamação na fisiopatologia da depressão. A mieloperoxidase (MPO), enzima produzida por leucócitos, representa um importante elo entre esses sistemas, pois dos vários biomarcadores de inflamação, esse tem se mostrado um forte marcador presente para os transtornos depressivos (VACCARINO et al., 2008; NOBIS; ZALEWSKI; WASZKIEWICZ, 2020).

Nessa perspectiva foi investigada a atividade de MPO, pois os estudos mostram que existe um incremento da expressão de MPO em pacientes depressivos (VACCARINO et al., 2008; GAŁECKI et al., 2010; TALAROWSKA et al., 2019) corroborando os achados do presente estudo que mostram efeito semelhante sobre as áreas cerebrais investigadas de camundongos que não tiveram suas LP tratadas.

Além disso, foi visto nesse grupo, LP sem tratamento, que também houve esse incremento de atividade de MPO na interface plasmática e nas áreas de feridas, nos proporcionando *insights* sobre os processos e o papel de uma lesão periférica e suas repercussões neurais. Visto que estudos demonstram que existe uma ligação entre imunidade periférica e SNC (BEUREL; TOUPS; NEMEROFF, 2020), pois em certas condições, estados inflamatórios persistentes, macrófagos e células T podem atravessar a barreira hematoencefálica (WILSON; WENINGER; HUNTER, 2010), já que durante a inflamação ocorre o enfraquecimento das proteções existentes na BHE ou em regiões onde a BHE é mais permissiva, como os órgãos circumventriculares e o plexo coróide, as células do sistema imunológico se infiltram no parênquima cerebral via diapedese (RANSOHOFF; ENGELHARDT, 2012).

Vale ressaltar que foi observado uma relação entre ausência de tratamento e tempo decorrido de lesão, ou seja, quanto maior o tempo que a lesão evoluiu sem receber tratamento, maiores foram as repercussões inflamatórias investigadas, conseqüentemente os sintomas depressivos se tornaram mais aparentes. Fato que pode ser corroborado com as evidências de que a ausência de tratamento clínico cursa com uma inflamação persistente e uma piora dos quadros depressivos (SLAVICH; IRWIN, 2014).

Além disso, a micróglia, célula monocítica relacionada ao comando da inflamação no sistema nervoso central, exibe um importante papel na hiperfunção da MPO (SANTOS; BECKMAN; FERREIRA, 2016; BRISCH et al., 2021). Esse aumento da atividade de MPO gera onerosas reações oxidantes que cursam para uma peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, dano ao DNA e disfunções endoteliais (NICHOLLS; HAZEN, 2005; KARGAPOLOVA et al., 2021), e todo esse estresse oxidativo está interligado à degeneração

neuronal observada na depressão (MAES et al., 2011b; ZAFAR, 2020), justificando os achados do presente trabalho onde a lesão sem tratamento, provoca aumento da atividade de MPO em todos os tecidos estudados. Além disso, já foi visto que esse mesmo modelo de LP provoca aumento dos níveis de MDA e redução da concentração de GSH, desbalanço oxidativo, nas áreas cerebrais investigadas (AQUINO et al., 2021).

A ligação entre inflamação e depressão já foi discutida e documentada na literatura de forma ampla e robusta (MAES, 1995; BLUME; DOUGLAS; EVANS, 2011; HAAPAKOSKI et al., 2015b), visto que, aproximadamente 30% dos pacientes com depressão, possuem uma resposta inflamatória aumentada, e esses mesmos pacientes se apresentam com quadros mais graves do distúrbio (RAISON; MILLER, 2011).

Ainda sobre a avaliação da atividade da MPO foi observado que o tratamento tópico com creme ALA foi capaz de reduzir a atividade da mieloperoxidase em todos os tecidos investigados, áreas cerebrais, plasma e lesão, reforçando mais uma vez o papel de substância com potencial modulador da inflamação. O importante efeito exibido pelo ALA em creme possivelmente está associado à sua atividade antioxidante (ARAÚJO et al., 2011; SILVA et al., 2013) e anti-inflamatória (YILDIRIM BAŞ et al., 2017). Assim, o creme ALA como tratamento tópico apresenta vantagens com relação aos distúrbios neuropsiquiátricos associados a desregulação na atividade da MPO. Os outros tratamentos estabelecidos, hidrogel com alginato e creme base, também se mostraram importantes na redução e regulação da atividade de MPO, reforçando a ideia de que a resolução e cicatrização precoce da lesão periférica tem forte influência sobre as repercussões sistêmicas, independentemente do tipo de tratamento que levou à essa cicatrização, mostrando que a LP pode ser um ponto chave nessa interface de inflamação e depressão.

Embora seja improvável que a depressão seja simplesmente um distúrbio inflamatório, a ativação intensificada do sistema imunológico em indivíduos com depressão não é mera coincidência. A inflamação não está presente apenas durante os episódios depressivos, contudo níveis elevados de fatores inflamatórios contribuem significativamente para a ocorrência do primeiro episódio depressivo (DOWLATI et al., 2010; LEONARD; MAES, 2012). Anterior a isso, existe o estresse fisiológico e psicológico, pois sabemos que clinicamente, o estresse é medido pela exposição sustentada a eventos da vida, mas uma exposição sustentada se torna uma fator de risco muito interligado a fisiopatologia da depressão e essa exposição causa um desafio imunológico para o corpo (STEPTOE; HAMER; CHIDA, 2007; MILLER; ROHLER; COLE, 2009).

Além da ativação enzimática da MPO, as citocinas têm sido implicadas na fisiopatologia de vários distúrbios neuropsiquiátricos, incluindo o transtorno depressivo. Assim como os estressores, sabe-se que a administração central ou periférica de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), interferon-  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) ou fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), induz o fenótipo depressivo (CAPURON; MILLER, 2004; DUNN; SWIERGIEL; DE BEAUREPAIRE, 2005; GOSHEN; YIRMIYA, 2009; MAES et al., 2012).

Dentre as citocinas implicadas na fisiopatologia da depressão, o aumento nas concentrações de TNF- $\alpha$  já vem sendo relatado nos estudos com pacientes de perfis depressivos que levaram em consideração a comparação com controles saudáveis (DOWLATI et al., 2010; LIU; HO; MAK, 2012; OSIMO et al., 2020; CARVALHO et al., 2020a). Ademais, foi visto que o número de episódios depressivos está associado ao aumento dessa citocina (MAES et al., 2012a), demonstrando que essa é uma citocina importante na desregulação inflamatória vista na depressão. Recentemente, foi confirmado que pacientes não tratados com depressão tinham níveis mais altos de marcadores inflamatórios (SYED et al., 2018).

No presente estudo foi evidenciado que o creme ALA causou a maior redução das concentrações de TNF- $\alpha$  nas áreas de feridas, esse efeito também foi observado, mas em menor proporção em relação ao creme ALA, com os tratamentos com hidrogel com alginato e creme base, e esses dados corroboram com os resultados anteriores que evidenciam o papel do creme ALA com um potencial resultado anti-inflamatório e conseqüentemente, uma resposta antidepressiva. Estudos apontam que o uso de medicamentos anti-TNF- $\alpha$  (infliximabe, etanercepte), foram capazes de melhorar os sintomas depressivos em pacientes com biomarcadores inflamatórios basais elevados (RAISON et al., 2013).

Portanto, o TNF- $\alpha$  pode ser um marcador valioso atrelado a resposta ao tratamento e um alvo biológico potencial para a terapêutica da depressão. Diante do exposto, é possível afirmar que os tratamentos capazes de reduzir as concentrações de TNF- $\alpha$ , como o ALA em sua aplicação local, configuram-se como uma possibilidade terapêutica para pacientes com LP e suas repercussões inflamatórias.

Ainda assim, além das alterações comportamentais e dos distúrbios inflamatórios, já se evidenciou que esse modelo de LP está aliado também ao desbalanço oxidativo e a disfunção neuroendócrina, com o aumento de corticosterona sérica (AQUINO et al., 2021), alterações que possivelmente possuem uma ligação ao estresse implicado com a LP, pois o aumento de cortisol tem sido associada aos transtornos depressivos (FENG et al., 2019).



A disfunção neuroendócrina está atrelada ao envolvimento da desregulação do eixo HPA. As anormalidades desse eixo podem desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento e recorrência da depressão. O aumento da produção de citocinas pode contribuir para o desenvolvimento da depressão diretamente através da ativação do eixo HPA ou indiretamente através da resistência do receptor de glicocorticoide induzido por citocinas (ANDERS; TANAKA; KINNEY, 2013). Os altos níveis de hormônios do estresse circulante no SNC podem afetar a homeostase dos neurotransmissores, a síntese do fator de crescimento neuronal e, finalmente, perturbar o funcionamento dos circuitos neuronais do sistema límbico (GULOXSUZ et al., 2014).

Todos esses resultados encontrados no presente estudo fortalecem a possibilidade de se estabelecer uma associação entre uma LP não tratada e o desenvolvimento de quadros depressivos, assim como, uma melhora nesses quadros quando se estabelece um tratamento tópico que possa minimizar os efeitos causados pela LP, como foi visto com o uso do creme ALA, hidrogel com alginato e com o creme base.

Baseado em todos essas repercussões que uma LP possa vir a desempenhar na homeostasia do nosso organismo, esse estudo também investigou o papel do creme ALA como um potencial cicatrizante desse tipo de lesão de pele.

Cada vez mais a lesão por pressão tem recebido atenção no cuidado em saúde, pois mesmo com os conhecimentos de sua fisiopatologia e prevenção, ainda é uma lesão comum entre pessoas doentes, hospitalizadas ou não, sendo uma fonte significativa de morbidade e mortalidade (COLEMAN et al., 2014), se tornando um problema crescente no mundo inteiro devido, principalmente, ao envelhecimento da população. Podendo levar a complicações graves, gerando demandas crescentes aos sistemas de saúde pública que se encontram saturados, a lesão por pressão é tida como um indicador de qualidade dos serviços de saúde, onde a prevenção é, portanto, uma meta ainda mais crítica diante dos desafios e do alto custo do tratamento (MERVIS; PHILLIPS, 2019). Mas, quando essa LP já se encontra instalada o cuidado efetivo e uma cicatrização precoce se tornam imprescindíveis.

Devido à característica de cronicidade desse tipo de lesão, o seu tratamento acarreta um alto custo para a sociedade e prejudica a qualidade de vida de milhões de pessoas em todo o mundo, pois inflamação desregulada da LP, acarreta diminuição da angiogênese, desequilíbrio entre a síntese de colágeno maduro e imaturo, deposição e degradação da matriz extracelular (MEC) e disfunção na migração e proliferação celular que são alguns dos mecanismos responsáveis pela cicatrização anormal (MOURA et al., 2019). Devido a isso, atualmente tem

se voltado a investigação de estratégias terapêuticas de cicatrização cada vez mais eficientes e que possam atuar nas diferentes fases do processo cicatricial. Ultimamente, estudos experimentais investigaram o papel dos ácidos na regeneração da pele e isso pode fornecer novas estratégias terapêuticas para o tratamento de feridas agudas ou crônicas, bem como o tratamento de lesões por pressão (JARA et al., 2020).

Dessa forma, o ALA com seus efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes desempenha um papel importante no processo de cicatrização de feridas. Existem estudos que mostram que o ALA aumenta as funções vasculares em lesões cutâneas, diminui o dano microvascular ao reduzir as espécies reativas de oxigênio (ROS), induz proteases e regula as metaloproteinases da matriz, assim, acelera a cicatrização de feridas crônicas e atua como um antioxidante e modulador da inflamação (LATEEF et al., 2005; LIN et al., 2006).

Para avaliar o efeito da lesão por pressão e dos tratamentos tópicos com creme ALA, creme base e hidrogel com alginato sobre o processo cicatricial, foram utilizados parâmetros macroscópicos (área e porcentagem de contração da ferida) e os parâmetros histopatológicos (infiltrado inflamatório, fibrose e proliferação vascular) por coloração em lâmina de HE.

Sobre a área da ferida, foi visto que em apenas 1 dia de tratamento, independente da cobertura utilizada, não foi obtida nenhuma resposta efetiva na redução da área de LP, mas já com um tratamento um pouco mais estendido (5 dias) foi observado que o creme ALA mostrou o melhor desempenho na redução da área de ferida em relação ao tratamento já utilizado na clínica, hidrogel com alginato, assim como em relação ao creme base que foi utilizado para fins de comparação, mas foi possível observar seus efeitos cicatriciais que supostamente devem estar relacionados ao seu efeito hidratante. Esse mesmo resultado foi observado quando quanto a porcentagem de contração da ferida. Corroborando com os achados desse estudo, foi visto que a aplicação tópica de ácido lipóico produz aumento na cicatrização de feridas cutâneas (KÜLKAMP-GUERREIRO et al., 2013).

Apesar da resposta positiva obtida ao tratamento de LP com o creme ALA em sua forma não encapsulada, sua utilização para esse fim ainda é limitada por alguns problemas, como baixa biodisponibilidade, baixa solubilidade em água e a instabilidade sob condições adversas (SEGALL et al., 2004).

Com isso, nos últimos anos, várias pesquisas têm sido relatadas para melhorar a estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade do ALA, como carreamento em nanopartículas de lipídios sólidos (SOUTO; MÜLLER; GOHLA, 2005), incorporação em carreadores de lipídios nanoestruturados (ZHENG et al., 2013) e incorporação em nanopartículas poliméricas

(RUKTANONCHAI et al., 2009). E mais recentemente, foram utilizados nanocápsulas lipídicas, onde o ALA teve sua estabilidade melhorada e a atividade antioxidante não foi afetada ou reduzida após ser encapsulado. Além disso, a formulação exibiu perfil de liberação sustentada de até 12 h (XIA et al., 2017), sendo necessários mais estudos para elucidar os melhores mecanismos das formulações para o tratamento tópico com ALA e seu uso em lesões cutâneas.

Já no tocante a avaliação histopatológica, a quantificação do escore de infiltrado inflamatório confirma os mesmos resultados encontrados na atividade de MPO da lesão e da concentração de TNF- $\alpha$ , onde a lesão sem tratamento gerou um aumento desse escore e o creme ALA foi o tratamento mais efetivo em reduzir esse efeito observado histologicamente, corroborando assim, a ação anti-inflamatória observada no uso do ALA em creme já citada anteriormente.

E quanto a avaliação do escore de proliferação vascular, dos tratamentos utilizados apenas o ALA em creme foi capaz de estimular a proliferação vascular. O reparo vascular e a angiogênese são os fatores mais importantes para o reparo e regeneração tecidual. Após agressões aos tecidos o reparo e a regeneração em mamíferos envolve inúmeras moléculas, sendo a família do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), importante nesse processo de proliferação, migração e diferenciação das células endoteliais (NEUFELD et al., 1999), não sendo somente necessário para o crescimento, mas também para vasculogênese, angiogênese e epitelização durante a cicatrização (FAN et al., 2008).

Em vista disso, um estudo semelhante que investigou os efeitos do ALA na cicatrização de feridas em um modelo animal de lesão de espessura total, determinou que houve um aumento na expressão de VEGF em grupos tratados com ALA e que essa resposta foi importante para a cicatrização (MICILI et al., 2013), fato que pode explicar, em partes, a resposta do ALA nos achados do presente estudo.

A reunião de todos os dados apresentados até aqui sugerem que a aplicação tópica do ALA em creme melhora a cicatrização da lesão por pressão, mas não excluindo as ações terapêuticas observadas no uso do hidrogel com alginato e do creme base, que também apresentaram repostas cicatriciais relevantes. Acredita-se que a reposta cicatrizante observada do creme base deva estar relacionada a sua característica de fornecimento de umidade ao leito da ferida, isso explica-se pelo fato dos excipientes utilizados em sua formulação. Fazendo uma síntese do que está descrito na literatura com os resultados do presente estudo, sugere-se que, possivelmente, a ação antioxidante e anti-inflamatória do creme ALA regule a exacerbação do desbalanço inflamatório e oxidativo, e com isso, o processo cicatricial ocorra de forma ordenada

com a migração e proliferação celular, acelerando assim a cicatrização da LP. Assim, o ALA em creme com esse efeito positivo sobre o processo cicatricial tenham uma repercussão na regulação da hemostasia entre periferia e SNC, sendo observado uma ação antidepressiva indireta, melhorando o comportamento social de animais submetidos ao modelo de LP.

Como o presente estudo ainda é um dos primeiros a avaliar as repercussões de uma lesão periférica e seus tratamentos a nível de sistema nervoso central, os resultados aqui obtidos se basearam principalmente no estresse gerado pela LP, mas a literatura acerca de um modelo de ferida relacionado à alterações comportamentais, inflamatórias, oxidativas e neuroendócrinas em animais ainda é incipiente, o que levou a uma certa limitação na utilização de estudos anteriores que abordassem a relação de uma LP e a depressão, assim como o uso do ALA em creme no tratamento dessa lesão.

Os achados do presente estudo mostram-se promissores já que o ALA tópico poderia ser incorporado como opção terapêutica para pacientes com lesões crônicas que apresentem quadros depressivos associado, no sentido de prevenir ou mesmo favorecer o seu tratamento efetivo, pois as complicações de uma LP têm afetado negativamente a qualidade de vida desses pacientes acometidos.

Apesar de nossos achados sugerirem uma possível alternativa terapêutica, muito ainda há para se entender sobre os reais efeitos do tratamento de uma LP e suas repercussões na fisiopatologia da depressão. Em compilação, esses dados evidenciam que o ALA é promissor como uma nova perspectiva de tratamento tópico a ser incorporado ao cuidado de pacientes com lesões de pele, principalmente quando essas lesões estiverem associadas a pacientes com quadros depressivos.

## 7 CONCLUSÃO

O presente estudo é o primeiro a demonstrar que a apresentação tópica do ALA em creme possui ação cicatrizante em lesão por pressão e que o tratamento local é capaz de exercer uma ação antidepressiva, melhorando o comportamento social e as repercussões em modelo animal de lesão por pressão associado a depressão.

Em suma, os comportamentos depressivos símile que foram mitigados após o tratamento com o ALA em creme foi a redução das travessias no campo aberto, o aumento de imobilidade na suspensão de cauda; aumento da latência, diminuição do número e tempo de *grooming* na borrifagem de sacarose e a redução da interação social.

Tais efeitos sobre o comportamento provavelmente envolvem vias inflamatórias, já que o tratamento tópico com o ALA em creme foi capaz de reduzir a atividade de MPO nas áreas cerebrais, assim como no plasma e nas lesões desses animais.

Já na quantificação de TNF- $\alpha$  nas áreas de feridas o ALA em creme também mostrou uma ação de modulação bem expressiva na redução da concentração dessa citocina nas feridas.

O ALA em creme acelerou a cicatrização das lesões através da redução de escores inflamatórios histológicos; aumentando a angiogênese; reduzindo a área e aumentando a contração da ferida.

O ALA em creme se torna promissor também pelo fato dos produtos que foram utilizados em sua formulação são componentes de baixo custo, tornando seu acesso facilitado, além de toda a modulação anti-inflamatória mostrada na presente pesquisa.

Mesmo diante todos os achados apontados nesse estudo, investigações acerca dos efeitos deste tratamento com ALA em creme em outros modelos de lesões experimentais, diferenças entre as formulações para uso tópico, diferenças entre sexo, por exemplo, ainda são mínimas. Nessa perspectiva, estudos pré-clínicos e clínicos usando o ALA tópico precisam ser encorajados.

## REFERÊNCIAS

- ABERTO BALBINO, C.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 1, 2005.
- ALMEIDA, S. A. DE. Avaliação da qualidade de vida em pacientes com diabetes mellitus e pé ulcerado. **Rev Bras Cir Plást**, v. 28, n. 1, p. 142–6, 2013.
- ALMEIDA, S. A. DE et al. Depressão em indivíduos com lesão traumática de medula espinhal com úlcera por pressão. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 28, n. 2, p. 282–288, jun. 2013.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. DSM-V. [S.L: S.N.]. **DSM-V**[s.l: s.n.], , 2013.
- AN, J. et al. Striatal Functional Connectivity Alterations After Two-Week Antidepressant Treatment Associated to Enduring Clinical Improvement in Major Depressive Disorder. **Frontiers in psychiatry**, v. 10, 6 dez. 2019.
- ANDERS, S.; TANAKA, M.; KINNEY, D. K. **Depression as an evolutionary strategy for defense against infection***Brain, Behavior, and Immunity*, jul. 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23261774>>. Acesso em: 1 mar. 2020
- ANDRADE, L. et al. The epidemiology of major depressive episodes: results from the International Consortium of Psychiatric Epidemiology (ICPE) Surveys. **International journal of methods in psychiatric research**, v. 12, n. 1, p. 3–21, 2003.
- ANVISA., A. N. DE V. S. **Nota técnica GVIMS/GGTES Nº 03/2017. Práticas seguras para prevenção de Lesão por Pressão em serviços de saúde**Brasília, 2017.
- ANVISA., A. N. DE V. S. **Resultados das notificações realizadas no Notivisa - Brasil, setembro de 2020 a agosto de 2021**, 2021.
- ANVISA. **Farmacopeia Brasileira, 6ª edição**Ministério da Saúde, , 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>>. Acesso em: 4 dez. 2021
- AQUINO, G. A. et al. Behavioral alterations, brain oxidative stress, and elevated levels of corticosterone associated with a pressure injury model in male mice. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology**, 2021.
- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205–35, maio 1973.
- AUSTIN, M. P. et al. Effect of apomorphine on motor and cognitive function in melancholic patients: a preliminary report. **Psychiatry research**, v. 97, n. 2–3, p. 207–15, 27 dez. 2000.
- AUTRY, A. E. et al. Gender-specific impact of brain-derived neurotrophic factor signaling on stress-induced depression-like behavior. **Biological psychiatry**, v. 66, n. 1, p. 84–90, 1 jul. 2009.

- BAI, M. et al. Anhedonia was associated with the dysregulation of hippocampal HTR4 and microRNA Let-7a in rats. **Physiology and Behavior**, v. 129, p. 135–141, 22 abr. 2014.
- BAO, A. M.; SWAAB, D. F. The human hypothalamus in mood disorders: The HPA axis in the center. **IBRO reports**, v. 6, p. 45–53, 1 jun. 2018.
- BARBUL, A. **History of wounds healing, p.25-78. In: Brunicardi F.C., Seymour I., Schwarts D.L., Dun D.K. & Andersen R.E. Schwartz's Surgery.** [s.l.] Companion handbook, 2006.
- BARRICK, B.; CAMPBELL, E. J.; OWEN, C. A. Leukocyte proteinases in wound healing: roles in physiologic and pathologic processes. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 7, n. 6, p. 410–422, 1999.
- BEDIN, L. F. et al. Estratégias de promoção da autoestima, autonomia e autocuidado das pessoas com feridas crônicas. **Rev Gaúcha Enferm**, v. 35, n. 3, p. 61–67, 2014.
- BELLAVANCE, M. A.; RIVEST, S. The HPA - Immune Axis and the Immunomodulatory Actions of Glucocorticoids in the Brain. **Frontiers in immunology**, v. 5, n. MAR, 2014.
- BERGER, S. et al. Effect of Chronic Corticosterone Treatment on Depression-Like Behavior and Sociability in Female and Male C57BL/6N Mice. **Cells**, v. 8, n. 9, 1 set. 2019.
- BERLOWITZ, D. **Epidemiology, pathogenesis, and risk assessment of pressure ulcers.** Disponível em: <<http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-pathogenesis-and-risk-assessment-of-pressure-ulcers>>. Acesso em: 21 maio. 2017.
- BEUREL, E.; TOUPS, M.; NEMEROFF, C. B. The Bidirectional Relationship of Depression and Inflammation: Double Trouble. **Neuron**, v. 107, n. 2, p. 234, 22 jul. 2020.
- BIST, R.; BHATT, D. K. The evaluation of effect of alpha-lipoic acid and vitamin E on the lipid peroxidation, gamma-amino butyric acid and serotonin level in the brain of mice (*Mus musculus*) acutely intoxicated with lindane. **Journal of the neurological sciences**, v. 276, n. 1–2, p. 99–102, 15 jan. 2009.
- BLUME, J.; DOUGLAS, S. D.; EVANS, D. L. Immune suppression and immune activation in depression. **Brain, behavior, and immunity**, v. 25, n. 2, p. 221–229, fev. 2011.
- BOCK, E.; SCHNEEWEISS, J. A contribution to the therapy of neuropathia diabetica - PubMed. **Med. Wochenschr**, v. 43, p. 1911–12, 1959.
- BONDY, B.; ZILL, P. Pharmacogenetics and psychopharmacology. **Current opinion in pharmacology**, v. 4, n. 1, p. 72–78, 2004.
- BRACHT, T. et al. Cortico-cortical white matter motor pathway microstructure is related to psychomotor retardation in major depressive disorder. **PLoS one**, v. 7, n. 12, 20 dez. 2012.
- BRADLEY, P. P. et al. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **The Journal of investigative dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206–209, 1982.

- BRASIL, M. DA S. **Protocolo para prevenção de úlcera por pressão** Brasília Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA., , 2013.
- BREM, H.; LYDER, C. Protocol for the successful treatment of pressure ulcers. 2004.
- BRIGGS, M. et al. The prevalence of pain at pressure areas and pressure ulcers in hospitalised patients. **BMC nursing**, v. 12, n. 1, 31 jul. 2013.
- BRISCH, R. et al. The role of microglia in neuropsychiatric disorders and suicide. **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, 2021.
- BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. The Basic Science of Wound Healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. SUPPLEMENT, p. 12S-34S, jun. 2006.
- BRYANT, R.; ROLSTAD, B. Examining threats to skin integrity . **Ostomy Wound Manage**, p. 18–27, maio 2001.
- CALIRI, M. H. L. Guia para prevenção de ÚLCERA por PRESSÃO ou ESCARA. 2018.
- CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, n. 1, p. 51–58, mar. 2007.
- CAPURON, L.; MILLER, A. H. Cytokines and psychopathology: lessons from interferon-alpha. **Biological psychiatry**, v. 56, n. 11, p. 819–824, 1 dez. 2004.
- CAPURON, L.; MILLER, A. H. Immune system to brain signaling: neuropsychopharmacological implications. **Pharmacology & therapeutics**, v. 130, n. 2, p. 226–238, maio 2011.
- CARROLL, B. J. et al. Pathophysiology of hypercortisolism in depression. **Acta psychiatrica Scandinavica. Supplementum**, v. 115, n. 433, p. 90–103, mar. 2007.
- CARVALHO, A. et al. Cognitive dysfunction in depression - pathophysiology and novel targets. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 13, n. 10, p. 1819–1835, 26 jan. 2014.
- CARVALHO, A. F. et al. Evidence-based umbrella review of 162 peripheral biomarkers for major mental disorders. **Translational psychiatry**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020a.
- CARVALHO, F. DE et al. PREVALÊNCIA DE LESÃO POR PRESSÃO EM PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL PRIVADO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Enfermagem em Foco**, v. 10, n. 4, p. 159–164, 21 fev. 2020b.
- CARVALHO, L. A. et al. Antidepressants, but not antipsychotics, modulate GR function in human whole blood: an insight into molecular mechanisms. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 6, p. 379–387, jun. 2010.
- CATTANEO, A. et al. Candidate genes expression profile associated with antidepressants response in the GENDEP study: differentiating between baseline “predictors” and longitudinal “targets”. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 38, n. 3, p. 377–385, 2013.



CAULI, B.; HAMEL, E. Brain Perfusion and Astrocytes. **Trends in neurosciences**, v. 41, n. 7, p. 409–413, 1 jul. 2018.

CHAKRABARTY, T.; HADJIPAVLOU, G.; LAM, R. W. Cognitive Dysfunction in Major Depressive Disorder: Assessment, Impact, and Management. **FOCUS**, v. 14, n. 2, p. 194–206, abr. 2016.

CHEN, S. A. et al. Topical treatment with anti-oxidants and Au nanoparticles promote healing of diabetic wound through receptor for advance glycation end-products. **European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 5, p. 875–883, 18 dez. 2012.

CHENG, A. T. A. et al. Psychosocial and psychiatric risk factors for suicide. Case-control psychological autopsy study. **The British journal of psychiatry : the journal of mental science**, v. 177, n. OCT., p. 360–365, 2000.

CHNG, H. T. et al. Distribution study of orally administered lipoic acid in rat brain tissues. **Brain research**, v. 1251, p. 80–86, 28 jan. 2009.

COLEMAN, S. et al. A new pressure ulcer conceptual framework. **Journal of Advanced Nursing**, v. 70, n. 10, p. 2222–2234, 1 out. 2014.

COSTI, S. et al. Peripheral immune cell reactivity and neural response to reward in patients with depression and anhedonia. **Translational psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 565, 5 dez. 2021.

CRAWLEY, J. N. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. **Mental retardation and developmental disabilities research reviews**, v. 10, n. 4, p. 248–258, 2004.

CRAWLEY, J. N. et al. Social approach behaviors in oxytocin knockout mice: comparison of two independent lines tested in different laboratory environments. **Neuropeptides**, v. 41, n. 3, p. 145–163, jun. 2007.

CRYAN, J. F.; MOMBÉREAU, C.; VASSOUT, A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4–5, p. 571–625, jan. 2005.

CUI, W. et al. Interleukin-17 expression in murine pressure ulcer tissues. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 5, n. 3, p. 803–806, mar. 2013.

DANIELS, S. et al. Effects of inescapable stress on responses to social incentive stimuli and modulation by escitalopram. **Psychopharmacology**, 2021.

DANTZER, R. Neuroimmune Interactions: From the Brain to the Immune System and Vice Versa. **Physiological reviews**, v. 98, n. 1, p. 477–504, 1 jan. 2018.

DÁRIO, G. M. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DE FORMULAÇÃO CONTENDO ARGILA MEDICINAL SOBRE FERIDAS CUTÂNEAS EM RATOS**. [s.l.] UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE, 2008.

DAVIU, N. et al. Comparison of the effects of single and daily repeated immobilization stress on resting activity and heterotypic sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

**Stress (Amsterdam, Netherlands)**, v. 17, n. 2, p. 176–185, mar. 2014.

DE ARAÚJO, D. P. et al. The contributions of antioxidant activity of lipoic acid in reducing neurogenerative progression of Parkinson's disease: a review. **The International journal of neuroscience**, v. 121, n. 2, p. 51–57, fev. 2011.

DEMARRÉ, L. et al. The cost of prevention and treatment of pressure ulcers: A systematic review. **International Journal of Nursing Studies**, v. 52, n. 11, p. 1754–1774, nov. 2015.

DEMIDOVA-RICE, T. N.; HAMBLIN, M. R.; HERMAN, I. M. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. **Advances in skin & wound care**, v. 25, n. 7, p. 304–314, jul. 2012.

DIAS, T. Y. A. F. et al. Avaliação da qualidade de vida de pacientes com e sem úlcera venosa. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 22, n. 4, p. 576–81, 2014.

DOMANSKY, R. DE C.; BORGES, E. L. **Manual para Prevenção de Lesões de Pele: Recomendações Baseadas em Evidências**. 2<sup>a</sup> ed. ed. Rio de Janeiro: Editora Rubi, 2014.

DONOSO, M. V. et al. Análise de custos do tratamento de lesão por pressão em pacientes internados. **Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro**, v. 9, n. 0, 24 dez. 2019.

DOWLATI, Y. et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. **Biological psychiatry**, v. 67, n. 5, p. 446–457, 1 mar. 2010.

DUNN, A. J.; SWIERGIEL, A. H.; DE BEAUREPAIRE, R. Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies? **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 29, n. 4–5, p. 891–909, 2005.

EPEL, E. et al. Stress may add bite to appetite in women: a laboratory study of stress-induced cortisol and eating behavior. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, n. 1, p. 37–49, 2001.

EPUAP, E. P. U. A. P. et al. **Prevenção e tratamento de úlceras/lesões por pressão: guia de consulta rápida. (edição em português brasileiro)** EmilyHaesler, , 2019. Disponível em: <<https://www.epuap.org/wp-content/uploads/2020/11/qrg-2020-brazilian-portuguese.pdf>>. Acesso em: 13 nov. 2021

ESPINOSA-OLIVA, A. M. et al. Stress is critical for LPS-induced activation of microglia and damage in the rat hippocampus. **Neurobiology of aging**, v. 32, n. 1, p. 85–102, jan. 2011.

FAN, C. et al. Neuroprotective Effects of Curcumin on IL-1 $\beta$ -Induced Neuronal Apoptosis and Depression-Like Behaviors Caused by Chronic Stress in Rats. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, 4 jan. 2018.

FAN, X. et al. VEGF blockade inhibits angiogenesis and reepithelialization of endometrium. **The FASEB Journal**, v. 22, n. 10, p. 3571–3580, 1 out. 2008.

FAROOQ, R. K. et al. A P2X7 receptor antagonist reverses behavioural alterations, microglial activation and neuroendocrine dysregulation in an unpredictable chronic mild stress (UCMS) model of depression in mice. **Psychoneuroendocrinology**, v. 97, p. 120–130, 1 nov. 2018.

FELGER, J. C.; TREADWAY, M. T. Inflammation Effects on Motivation and Motor Activity: Role of Dopamine. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 42, n. 1, p. 216–241, 1 jan. 2017a.

FELGER, J. C.; TREADWAY, M. T. Inflammation Effects on Motivation and Motor Activity: Role of Dopamine. **Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, v. 42, n. 1, p. 216–241, 1 jan. 2017b.

FENG, X. et al. Glucocorticoid-Driven NLRP3 Inflammasome Activation in Hippocampal Microglia Mediates Chronic Stress-Induced Depressive-Like Behaviors. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 12, 29 ago. 2019.

FERREIRA, P. M. P.; MILITÃO, G. C. G.; FREITAS, R. M. Lipoic acid effects on lipid peroxidation level, superoxide dismutase activity and monoamines concentration in rat hippocampus. **Neuroscience letters**, v. 464, n. 2, p. 131–134, 23 out. 2009.

FILOMENI, G.; CIRIOLO, M. R. Redox control of apoptosis: an update. **Antioxidants & redox signaling**, v. 8, n. 11–12, p. 2187–2192, 2006.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239–247, 9 nov. 2000.

FORBES, C. N. et al. Emotional Avoidance and Social Support Interact to Predict Depression Symptom Severity One Year After Traumatic Exposure. **Psychiatry research**, v. 284, p. 112746, 1 fev. 2020.

FRISBEE, J. C. et al. An Unpredictable Chronic Mild Stress Protocol for Instigating Depressive Symptoms, Behavioral Changes and Negative Health Outcomes in Rodents. **Journal of visualized experiments: JoVE**, v. 2015, n. 106, 2 dez. 2015.

GAŁECKI, P. et al. Functional polymorphism of the myeloperoxidase gene (G-463A) in depressive patients. **Acta neuropsychiatrica**, v. 22, n. 5, p. 218–222, 2010.

GALETTO, S. G. DA S. et al. Lesões por Pressão Relacionadas a Dispositivos Médicos: revisão integrativa da literatura. **Rev Bras Enferm [Internet]**, p. 528–36, 2019.

GARCÍA, A. et al. Recovery of the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. Effect of stress intensity, stress duration and previous stress exposure. **Neuroendocrinology**, v. 72, n. 2, p. 114–125, 2000.

GARCÍA FERNÁNDEZ, F. P. et al. Eficacia de los productos para el tratamiento de las úlceras por presión: una revisión sistemática con metaanálisis. **Gerokomos**, v. 18, n. 1, p. 36–48, 2007.

GARCIA, L. S. B. et al. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 3, p. 450–455, 30 abr. 2009.

GARROS, I. D. C. et al. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. SUPPL.3, p. 55–65, 2006.

GEOVANINI, T. **Tratado de Feridas e Curativos – Enfoque Multiprofissional**. 1º Ed. ed. [s.l.] Editora Rideel, 2014.

GHIBU, S. et al. Antioxidant properties of an endogenous thiol: Alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 54, n. 5, p. 391–398, nov. 2009.

GIMSA, U.; MITCHISON, N. A.; BRUNNER-WEINZIERS, M. C. Immune privilege as an intrinsic CNS property: astrocytes protect the CNS against T-cell-mediated neuroinflammation. **Mediators of inflammation**, v. 2013, 2013.

GOLDSMITH, D. R. et al. Inflammatory markers are associated with decreased psychomotor speed in patients with major depressive disorder. **Brain, behavior, and immunity**, v. 56, p. 281–288, 1 ago. 2016.

GOSHEN, I.; YIRMIYA, R. Interleukin-1 (IL-1): a central regulator of stress responses. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 30, n. 1, p. 30–45, jan. 2009.

GRIGORIADIS, S.; ROBINSON, G. E. Gender issues in depression. **Annals of clinical psychiatry : official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists**, v. 19, n. 4, p. 247–255, out. 2007.

GULOKSUZ, S. et al. **The immune system and electroconvulsive therapy for depression** *Journal of ECT* Lippincott Williams and Wilkins, , jun. 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24755720>>. Acesso em: 1 mar. 2020

HAAPAKOSKI, R. et al. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 $\beta$ , tumour necrosis factor  $\alpha$  and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. **Brain, behavior, and immunity**, v. 49, p. 206–215, 1 out. 2015a.

HAAPAKOSKI, R. et al. Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 $\beta$ , tumour necrosis factor  $\alpha$  and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. **Brain, behavior, and immunity**, v. 49, p. 206–215, 1 out. 2015b.

HAMMEN, C. L. Stress and depression: Old questions, new approaches. **Current Opinion in Psychology**, v. 4, p. 80–85, 2015.

HASHIMOTO, M.; KUROSE, T.; KAWAMATA, S. Comparison between a weight compression and a magnet compression for experimental pressure ulcers in the rat. Histological studies and effects of anesthesia. **Archives of histology and cytology**, v. 71, n. 5, p. 303–16, dez. 2008.

HENN, F. A.; VOLLMAYR, B. Stress models of depression: Forming genetically vulnerable strains. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 29, n. 4–5, p. 799–804, jan. 2005.

HISER, J.; KOENIGS, M. The Multifaceted Role of the Ventromedial Prefrontal Cortex in Emotion, Decision Making, Social Cognition, and Psychopathology. **Biological psychiatry**, v. 83, n. 8, p. 638–647, 15 abr. 2018.

HODES, G. E. et al. Neuroimmune mechanisms of depression. **Nature neuroscience**, v. 18, n. 10, p. 1386–1393, 28 out. 2015.

HU, W. et al. Farnesoid X Receptor-Mediated Cytoplasmic Translocation of CRT2 Disrupts CREB-BDNF Signaling in Hippocampal CA1 and Leads to the Development of Depression-Like Behaviors in Mice. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 23, n. 10, p. 673, 1 out. 2020.

IHME, I. OF H. M. AND E. **Global Health Data Exchange (GHDx)**. Disponível em: <<http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool?params=gbd-api-2019-permalink/d780dffbe8a381b25e1416884959e88b>>. Acesso em: 13 nov. 2021.

ÑIGUEZ, S. D. et al. Social defeat stress induces a depression-like phenotype in adolescent male c57BL/6 mice. **Stress (Amsterdam, Netherlands)**, v. 17, n. 3, p. 247, 2014.

JAEHNE, E. J. et al. Effects of Npas4 deficiency on anxiety, depression-like, cognition and sociability behaviour. **Behavioural brain research**, v. 281, p. 276–282, 5 mar. 2015.

JARA, C. P. et al. Bioactive Fatty Acids in the Resolution of Chronic Inflammation in Skin Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 9, n. 8, p. 472, 1 ago. 2020.

JAYAWEERA, H. K. et al. Mild Cognitive Impairment Subtypes in Older People With Depressive Symptoms: Relationship With Clinical Variables and Hippocampal Change. **Journal of geriatric psychiatry and neurology**, v. 28, n. 3, p. 174–83, set. 2015.

JIAN, J. et al. Effects of depression on healing and inflammatory responses of acute wounds in rats. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 27, n. 5, p. 462–469, 1 set. 2019.

JIANG, L. et al. Ischemia-reperfusion injury-induced histological changes affecting early stage pressure ulcer development in a rat model - PubMed. **Ostomy Wound Manage**, 2011.

JIANG, W.-G. et al. Hippocampal CLOCK protein participates in the persistence of depressive-like behavior induced by chronic unpredictable stress. **Psychopharmacology**, v. 227, n. 1, p. 79–92, maio 2013.

KANDRATAVICIUS, L. et al. Pathophysiology of mood disorders in temporal lobe epilepsy. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 34, n. SUPPL2, p. s233–s245, 2012.

KARGAPOLOVA, Y. et al. The Enzymatic and Non-Enzymatic Function of Myeloperoxidase (MPO) in Inflammatory Communication. **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 4, 1 abr. 2021.

KHOR, H. M. et al. Determinants of mortality among older adults with pressure ulcers. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 59, n. 3, p. 536–541, nov. 2014.

KIM, J. et al. The role of psychological distress in the relationship between the severity of pressure injury and pain intensity in hospitalized adults. **Journal of advanced nursing**, v. 75, n. 6, p. 1219, 1 jun. 2019.

KOMORI, T.; MAKINODAN, M.; KISHIMOTO, T. Social status and modern-type depression: A review. **Brain and behavior**, v. 9, n. 12, 1 dez. 2019.

KOPSCHINA FELTES, P. et al. Anti-inflammatory treatment for major depressive disorder:

implications for patients with an elevated immune profile and non-responders to standard antidepressant therapy. **Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)**, v. 31, n. 9, p. 1149, 1 set. 2017.

KOSHIMIZU, H.; LEITER, L. M.; MIYAKAWA, T. M4 muscarinic receptor knockout mice display abnormal social behavior and decreased prepulse inhibition. **Molecular brain**, v. 5, n. 1, 2012.

KOSIAK, M. Etiology of decubitus ulcers. **Arch Phys Med Rehabil**, 1961.

KRANE-GARTISER, K. et al. Actigraphically assessed activity in unipolar depression: a comparison of inpatients with and without motor retardation. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 76, n. 9, p. 1181–1187, 1 set. 2015.

KROUSKOP, T. A. et al. Mechanisms of decubitus ulcer formation--an hypothesis. **Medical hypotheses**, v. 4, n. 1, p. 37–39, 1978.

KRUGER, A. et al. Qualidade de vida e sintomas depressivos em idosos de três faixas etárias praticantes de atividade física. **Revista Kairós-Gerontologia**, v. 17, n. 3, p. 79–94, 30 set. 2014.

KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C. et al. Evaluation of lipoic acid topical application on rats skin wound healing. **Acta cirurgica brasileira**, v. 28, n. 10, p. 708–715, out. 2013.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N; ASTER, J. C. **Robbins e Cotran, Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

KUPFERBERG, A.; BICKS, L.; HASLER, G. Social functioning in major depressive disorder. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 69, p. 313–332, 1 out. 2016.

KWON, R.; JANIS, J. **Pressure sores**. [s.l: s.n.].

LATEEF, H. et al. Pretreatment of diabetic rats with lipoic acid improves healing of subsequently-induced abrasion wounds. **Archives of Dermatological Research**, v. 297, n. 2, p. 75–83, 29 ago. 2005.

LAUGERAY, A. et al. Chronic Treatment with the IDO1 Inhibitor 1-Methyl-D-Tryptophan Minimizes the Behavioural and Biochemical Abnormalities Induced by Unpredictable Chronic Mild Stress in Mice - Comparison with Fluoxetine. **PloS one**, v. 11, n. 11, 1 nov. 2016.

LAUMET, G. et al. CD3+ T cells are critical for the resolution of comorbid inflammatory pain and depression-like behavior. **Neurobiology of Pain**, v. 7, 1 jan. 2020.

LAWRENCE, W. T.; DIEGELMANN, R. F. Growth factors in wound healing. **Clinics in dermatology**, v. 12, n. 1, p. 157–69, 1994.

LEE, Y. et al. Anti-cytokine agents for anhedonia: targeting inflammation and the immune system to treat dimensional disturbances in depression. **Therapeutic advances in psychopharmacology**, v. 8, n. 12, p. 337–348, dez. 2018.

LEONARD, B.; MAES, M. Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants

play a role in the pathophysiology of unipolar depression. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 36, n. 2, p. 764–785, fev. 2012.

LEVINE, J. et al. Cerebrospinal cytokine levels in patients with acute depression. **Neuropsychobiology**, v. 40, n. 4, p. 171–176, 1999.

LI, J.; CHEN, J.; KIRSNER, R. Pathophysiology of acute wound healing. **Clinics in dermatology**, v. 25, n. 1, p. 9–18, jan. 2007.

LI, N. et al. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. **Science (New York, N.Y.)**, v. 329, n. 5994, p. 959–64, 20 ago. 2010.

LIDDELOW, S. A.; BARRES, B. A. Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. **Immunity**, v. 46, n. 6, p. 957–967, 20 jun. 2017.

LIMA, R. DE O. **CICATRIZAÇÃO DA ÚLCERA POR PRESSÃO EXPERIMENTAL COM FUMAÇA DE MOXA PALITO DE *Artemisia vulgaris***. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2013.

LIN, J. et al. Effect of R-(+)-alpha-lipoic acid on experimental diabetic retinopathy. **Diabetologia**, v. 49, n. 5, p. 1089–1096, maio 2006.

LINDAN, O.; GREENWAY, R. M.; PIAZZA, J. M. PRESSURE DISTRIBUTION ON THE SURFACE OF THE HUMAN BODY. I. EVALUATION IN LYING AND SITTING POSITIONS USING A “BED OF SPRINGS AND NAILS” - PubMed. **Arch Phys Med Rehabil** ., p. 378–85, maio 1965.

LIU, S. et al. Anti-Depressant-Like Effect of Sinomenine on Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depression in a Mouse Model. **Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research**, v. 24, p. 7646–7653, 26 out. 2018.

LIU, Y.; HO, R. C. M.; MAK, A. Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: a meta-analysis and meta-regression. **Journal of affective disorders**, v. 139, n. 3, p. 230–239, ago. 2012.

LOHOFF, F. W.; FERRARO, T. N. Pharmacogenetic considerations in the treatment of psychiatric disorders. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 11, n. 3, p. 423–439, fev. 2010.

LOTFALIANY, M. et al. Depression and chronic diseases: Co-occurrence and communality of risk factors. **Journal of affective disorders**, v. 241, p. 461–468, 1 dez. 2018.

MACIEL, O. B. **A validação do uso de filme transparente de poliuretano nas úlceras por pressão de estágio I na região de calcâneos**. [s.l.] UFRP, 19 set. 2013.

MAES, M. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 19, n. 1, p. 11–38, 1995.

MAES, M. et al. Increased plasma concentrations of interleukin-6, soluble interleukin-6, soluble interleukin-2 and transferrin receptor in major depression. **Journal of affective disorders**, v. 34, n. 4, p. 301–309, 18 ago. 1995.

MAES, M. et al. Lower serum vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. **Journal of affective disorders**, v. 58, n. 3, p. 241–246, jun. 2000.

MAES, M. et al. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 35, n. 3, p. 676–692, 29 abr. 2011a.

MAES, M. et al. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 35, n. 3, p. 676–692, 29 abr. 2011b.

MAES, M. et al. Activation of cell-mediated immunity in depression: association with inflammation, melancholia, clinical staging and the fatigue and somatic symptom cluster of depression. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 36, n. 1, p. 169–175, 10 jan. 2012a.

MAES, M. et al. Depression and sickness behavior are Janus-faced responses to shared inflammatory pathways. **BMC medicine**, v. 10, 29 jun. 2012b.

MARTIN, P. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. **Science (New York, N.Y.)**, v. 276, n. 5309, p. 75–81, 4 abr. 1997.

MAST, B. A.; SCHULTZ, G. S. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 4, n. 4, p. 411–420, 1996.

MENARD, C. et al. Social stress induces neurovascular pathology promoting depression. **Nature neuroscience**, v. 20, n. 12, p. 1752, 1 dez. 2017.

MERVIS, J. S.; PHILLIPS, T. J. Pressure ulcers: Prevention and management. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 81, n. 4, p. 893–902, 1 out. 2019.

MICHEL, T. M. et al. Evidence for oxidative stress in the frontal cortex in patients with recurrent depressive disorder--a postmortem study. **Psychiatry research**, v. 151, n. 1–2, p. 145–150, 30 maio 2007.

MICILI, S. C. et al. The effect of lipoic acid on wound healing in a full thickness uterine injury model in rats. **Journal of Molecular Histology**, v. 44, n. 3, p. 339–345, 1 jun. 2013.

MILLER, A. H.; RAISON, C. L. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. **Nature reviews. Immunology**, v. 16, n. 1, p. 22–34, 1 jan. 2016.

MILLER, G. E.; ROHLEDER, N.; COLE, S. W. Chronic interpersonal stress predicts activation of pro- and anti-inflammatory signaling pathways 6 months later. **Psychosomatic medicine**, v. 71, n. 1, p. 57–62, 2009.

MOURA, F. et al. Lipoic Acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical



- applications. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 15, n. 5, p. 458–483, 16 jan. 2015.
- MOURA, J. et al. Immune aging in diabetes and its implications in wound healing. **Clinical immunology (Orlando, Fla.)**, v. 200, p. 43–54, 1 mar. 2019.
- MOUSSAVI, S. et al. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. **Lancet (London, England)**, v. 370, n. 9590, p. 851–858, 8 set. 2007.
- NAN, H. et al. Depressive symptoms in people with chronic physical conditions: prevalence and risk factors in a Hong Kong community sample. **BMC psychiatry**, v. 12, 14 nov. 2012.
- NESTLER, E. J. et al. Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34, n. 1, p. 13–25, 28 mar. 2002.
- NEUFELD, G. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors - PubMed. **FASEB J.**, v. 13, n. 1, p. 9–22, 1999.
- NG, F. et al. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 6, p. 851–876, set. 2008.
- NICHOLLS, S. J.; HAZEN, S. L. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 25, n. 6, p. 1102–1111, jun. 2005.
- NIERENBERG, A. A. Residual symptoms in depression: prevalence and impact. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 76, n. 11, p. e1480, 1 nov. 2015.
- NOBIS, A.; ZALEWSKI, D.; WASZKIEWICZ, N. Peripheral Markers of Depression. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 12, p. 1–54, 1 dez. 2020.
- NPUAP (NATIONAL PRESSURE ULCER ADVISORY PANEL). **Pressure Ulcer Stages Revised**. Disponível em: <<http://www.npuap.org/about-us/>>.
- OLIVEIRA, I. V. P. DE M.; DIAS, R. V. DA C. CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: FASES E FATORES DE INFLUÊNCIA. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, 2012.
- OSIMO, E. F. et al. Inflammatory markers in depression: A meta-analysis of mean differences and variability in 5,166 patients and 5,083 controls. **Brain, behavior, and immunity**, v. 87, p. 901–909, 1 jul. 2020.
- PARIANTE, C. M. Why are depressed patients inflamed? A reflection on 20 years of research on depression, glucocorticoid resistance and inflammation. **European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology**, v. 27, n. 6, p. 554–559, 1 jun. 2017.
- PARK, S. C. et al. Screening for Depressive Disorder in Elderly Patients with Chronic Physical Diseases Using the Patient Health Questionnaire-9. **Psychiatry Investigation**, v. 14, n. 3, p. 306, 2017.
- PECORARO, N. et al. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. **Endocrinology**, v. 145, n. 8, p. 3754–3762, ago. 2004.

PEIS, I. et al. Actigraphic recording of motor activity in depressed inpatients: a novel computational approach to prediction of clinical course and hospital discharge. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

PEREIRA, V. S.; HIROAKI-SATO, V. A. A brief history of antidepressant drug development: from tricyclics to beyond ketamine. **Acta neuropsychiatrica**, v. 30, n. 6, p. 307–322, 1 dez. 2018.

PIEPER, B. **Mechanical Forces: Pressure, shear and friction. In: BRYANT, R. A. Acute and chronic wounds Nursing management.** 2. ed ed. Saint Louis: Elsevier Mosby, 2000.

PILKINGTON, K.; WIELAND, L. S. Self-care for anxiety and depression: a comparison of evidence from Cochrane reviews and practice to inform decision-making and priority-setting. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n. 1, 10 ago. 2020.

POLANKA, B. M. et al. Depressive Disorder Subtypes as Predictors of Incident Obesity in US Adults: Moderation by Race/Ethnicity. **American Journal of Epidemiology**, v. 185, n. 9, p. 734, 1 maio 2017.

RABASA, C. et al. Adaptation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis to daily repeated stress does not follow the rules of habituation: A new perspective. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 56, p. 35–49, 4 jul. 2015.

RABASA, C.; DICKSON, S. L. Impact of stress on metabolism and energy balance. **Current Opinion in Behavioral Sciences**, v. 9, p. 71–77, 1 jun. 2016.

RAISON, C. L. et al. A randomized controlled trial of the tumor necrosis factor antagonist infliximab for treatment-resistant depression: the role of baseline inflammatory biomarkers. **JAMA psychiatry**, v. 70, n. 1, p. 31–41, jan. 2013.

RAISON, C. L.; MILLER, A. H. Is depression an inflammatory disorder? **Current psychiatry reports**, v. 13, n. 6, p. 467–475, dez. 2011.

RANSOHOFF, R. M.; ENGELHARDT, B. The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. **Nature reviews. Immunology**, v. 12, n. 9, p. 623–635, set. 2012.

REDDY, M. et al. Treatment of pressure ulcers: a systematic review. **JAMA**, v. 300, n. 22, p. 2647–2662, 10 dez. 2008.

REDDY, N. P.; COCHRAN, G. V. B.; KROUSKOP, T. A. Interstitial fluid flow as a factor in decubitus ulcer formation. **Journal of biomechanics**, v. 14, n. 12, p. 879–881, 1981.

REED, L. J. et al. Crystalline alpha-lipoic acid; a catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. **Science (New York, N.Y.)**, v. 114, n. 2952, p. 93–94, 1951.

RINCÓN-CORTÉS, M.; GRACE, A. A. Antidepressant effects of ketamine on depression-related phenotypes and dopamine dysfunction in rodent models of stress. **Behavioural brain research**, v. 379, p. 112367, 3 fev. 2020.

ROBIN, A. et al. Combined Measures of Psychomotor and Cognitive Alterations as a Potential

Hallmark for Bipolar Depression. **Psychiatry investigation**, v. 16, n. 12, p. 954–957, 1 dez. 2019.

RODRIGUES, T. et al. EFICÁCIA DO CURATIVO HIDROCOLÓIDE EM RELAÇÃO AO FILME TRANSPARENTE NA PREVENÇÃO DE LESÕES POR PRESSÃO. **Enfermagem em Foco**, v. 9, n. 1, 25 jul. 2018.

ROJAS, H.; RITTER, C.; PIZZOL, F. D. Mecanismos de disfunção da barreira hematoencefálica no paciente criticamente enfermo: ênfase no papel das metaloproteinases de matriz. **Rev Bras Ter Intensiva**, v. 23, n. 2, p. 222–227, 2011.

ROLSTAD, B. S.; OVINGTON, L. G. **Principles of wound management**. In: **BRYANT, R.A.; NIX, D.P. Acute and chronic wounds : current management concepts**. 4th. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2012.

RUKTANONCHAI, U. et al. Physicochemical characteristics, cytotoxicity, and antioxidant activity of three lipid nanoparticulate formulations of alpha-lipoic acid. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 1, p. 227–234, 2009.

SADEGHI, M.; PEERI, M.; HOSSEINI, M. J. Adolescent voluntary exercise attenuated hippocampal innate immunity responses and depressive-like behaviors following maternal separation stress in male rats. **Physiology & Behavior**, v. 163, p. 177–183, 1 set. 2016.

SANACORA, G.; TRECCANI, G.; POPOLI, M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 1, p. 63–77, jan. 2012.

SANDERS, L. S. DE C.; PINTO, F. J. M. Ocorrência de úlcera por pressão em pacientes internados em um hospital público de Fortaleza-CE. **Revista Mineira de Enfermagem**, v. 16, n. 2, p. 166–170, 2012.

SANTO, P. et al. Avaliação do nível de depressão em indivíduos com feridas crônicas. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 28, n. 4, p. 665–671, 2013.

SANTOS, L. E.; BECKMAN, D.; FERREIRA, S. T. Microglial dysfunction connects depression and Alzheimer's disease. **Brain, behavior, and immunity**, v. 55, p. 151–165, 1 jul. 2016.

SEGALL, A. et al. Stability study of lipoic acid in the presence of vitamins A and E in o/w emulsions for cosmetic application-Web of Science Core Collection. **JOURNAL OF COSMETIC SCIENCE**, v. 55, n. 5, p. 449–461, 2004.

SENRA, H.; MCPHERSON, S. Depression in disabling medical conditions - current perspectives. **International review of psychiatry (Abingdon, England)**, v. 33, n. 3, p. 312–325, 2021.

SHANKMAN, S. A.; MITTAL, V. A.; WALTHER, S. An Examination of Psychomotor Disturbance in Current and Remitted MDD: An RDoC Study. **Journal of psychiatry and brain science**, v. 5, 2020.

SHENOY, R. R. et al. Normal and delayed wound healing is improved by sesamol, an active

constituent of *Sesamum indicum* (L.) in albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 608–612, 27 jan. 2011.

SHIN, N. et al. The association of minor and major depression with health problem-solving and diabetes self-care activities in a clinic-based population of adults with type 2 diabetes mellitus. **Journal of diabetes and its complications**, v. 31, n. 5, p. 880, 1 maio 2017.

SHU, C. et al. Blunted behavioral and molecular responses to chronic mild stress in adult rats with experience of infancy maternal separation. **The Tohoku journal of experimental medicine**, v. 235, n. 2, p. 18–87, 21 jan. 2015.

SILVA, M. C. C. et al. Augmentation therapy with alpha-lipoic acid and desvenlafaxine: A future target for treatment of depression? **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 386, n. 8, p. 685–695, ago. 2013.

SILVA, M. C. C. et al. Evidence for protective effect of lipoic acid and desvenlafaxine on oxidative stress in a model depression in mice. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 64, p. 142–148, 4 jan. 2016.

SLAVICH, G. M.; IRWIN, M. R. From Stress to Inflammation and Major Depressive Disorder: A Social Signal Transduction Theory of Depression. **Psychological bulletin**, v. 140, n. 3, p. 774, 2014.

SOBEST, S. B. D. E.-. **Tradução do FAQ de 13 de Maio de 2016 do National Pressure Ulcer Advisory Panel (NPUAP)**, 2016. Disponível em: <<http://sobest.org.br/noticia/138>>

SOBIN, C.; SACKEIM, H. A. Psychomotor symptoms of depression. **The American journal of psychiatry**, v. 154, n. 1, p. 4–17, 1997.

SOUTO, E. B.; MÜLLER, R. H.; GOHLA, S. A novel approach based on lipid nanoparticles (SLN®) for topical delivery of  $\alpha$ -lipoic acid. **J Microencaps**, v. 22, n. 6, p. 581–592, set. 2005.

STADLER, I. et al. Development of a Simple, Noninvasive, Clinically Relevant Model of Pressure Ulcers in the Mouse. **Journal of Investigative Surgery**, v. 17, n. 4, p. 221–227, 9 jan. 2004.

STAHL, S. M. **Psicofarmacologia: Bases Neurocientíficas e Aplicações Práticas**. 4. ed. [s.l.: s.n.].

STEPTOE, A.; HAMER, M.; CHIDA, Y. The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: a review and meta-analysis. **Brain, behavior, and immunity**, v. 21, n. 7, p. 901–912, out. 2007.

STERNER, E. Y.; KALYNCHUK, L. E. Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: relevance to depression. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 34, n. 5, p. 777–790, jun. 2010.

STERU, L. et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v. 85, n. 3, p. 367–70, 1985.

SURGET, A. et al. Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation.

**Molecular psychiatry**, v. 16, n. 12, p. 1177–1188, dez. 2011.

SYED, S. A. et al. Defective Inflammatory Pathways in Never-Treated Depressed Patients Are Associated with Poor Treatment Response. **Neuron**, v. 99, n. 5, p. 914–924.e3, 5 set. 2018.

TALAROWSKA, M. E. et al. Immune to happiness - inflammatory process indicators and depressive personality traits. **Archives of medical science : AMS**, v. 16, n. 4, p. 848–857, 2019.

TEIXEIRA, A. K. S. et al. Incidência de lesões por pressão em Unidade de Terapia Intensiva em hospital com acreditação. **Estima – Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, v. 15, n. 3, p. 152–160, 7 nov. 2017.

THOMAS-OLLIVIER, V. et al. Cognitive component of psychomotor retardation in unipolar and bipolar depression: Is verbal fluency a relevant marker? Impact of repetitive transcranial stimulation. **Psychiatry and clinical neurosciences**, v. 71, n. 9, p. 612–623, 1 set. 2017.

TIBULLO, D. et al. Biochemical and clinical relevance of alpha lipoic acid: antioxidant and anti-inflammatory activity, molecular pathways and therapeutic potential. **Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]**, v. 66, n. 11, p. 947–959, 1 nov. 2017.

TRIVEDI, M. H. et al. Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR\*D: implications for clinical practice. **The American journal of psychiatry**, v. 163, n. 1, p. 28–40, jan. 2006.

TSUJI, S. et al. Analysis of ischemia-reperfusion injury in a microcirculatory model of pressure ulcers. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 13, n. 2, p. 209–215, mar. 2005.

VACCARINO, V. et al. Association of Major Depressive Disorder with Serum Myeloperoxidase and other Markers of Inflammation: A Twin Study. **Biological psychiatry**, v. 64, n. 6, p. 476, 15 set. 2008.

VALLÈS, A. et al. Single exposure to stressors causes long-lasting, stress-dependent reduction of food intake in rats. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 279, n. 3, 2000.

VIEIRA, G. et al. Antidepressant-Like Effect of Terpineol in an Inflammatory Model of Depression: Involvement of the Cannabinoid System and D2 Dopamine Receptor. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, 1 maio 2020.

WADA, A.; NETO, N. T.; FERREIRA, M. C. Úlceras por pressão. **Rev Med**, v. 8989, n. 3434, p. 170–7, 2010.

WALTHER, S. et al. Frontal white matter integrity is related to psychomotor retardation in major depression. **Neurobiology of disease**, v. 47, n. 1, p. 13–19, jul. 2012.

WANG, J. et al. Chondroprotective effects of alpha-lipoic acid in a rat model of osteoarthritis. **Free radical research**, v. 50, n. 7, p. 767–780, 2 jul. 2016.

WANG, X. D. et al. The behavioral study on the interactive aggravation between pruritus and

depression. **Brain and Behavior**, v. 8, n. 6, 1 jun. 2018.

WHO, W. H. O. **Depression and Other Common Mental Disorders**. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/depression-global-health-estimates>>. Acesso em: 14 nov. 2021.

WHO, W. H. O. **Mental health: massive scale-up of resources needed if global targets are to be met**. Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/06-06-2018-mental-health-massive-scale-up-of-resources-needed-if-global-targets-are-to-be-met>>. Acesso em: 14 nov. 2021.

WHO, W. H. O. **Depression**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>>. Acesso em: 13 nov. 2021.

WILKOWSKA, A. et al. Antianhedonic Effect of Repeated Ketamine Infusions in Patients With Treatment Resistant Depression. **Frontiers in psychiatry**, v. 12, 18 out. 2021.

WILLNER, P. et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. **Psychopharmacology**, v. 93, n. 3, p. 358–364, nov. 1987.

WILLNER, P. Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. **Neuropsychobiology**, v. 52, n. 2, p. 90–110, 2005.

WILSON, E. H.; WENINGER, W.; HUNTER, C. A. Trafficking of immune cells in the central nervous system. **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 5, p. 1368–1379, 3 maio 2010.

WITTE, M. B.; BARBUL, A. General principles of wound healing. **The Surgical clinics of North America**, v. 77, n. 3, p. 509–28, jun. 1997.

WOHLEB, E. S. et al. Integrating neuroimmune systems in the neurobiology of depression. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 17, n. 8, p. 497–511, 19 jul. 2016.

XHIMA, K.; WEBER-ADRIAN, D.; SILBURT, J. Glutamate Induces Blood–Brain Barrier Permeability through Activation of N-Methyl-D-Aspartate Receptors. **Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 49, p. 12296–12298, 7 dez. 2016.

XIA, N. et al. In vitro evaluation of  $\alpha$ -lipoic acid-loaded lipid nanocapsules for topical delivery. **Journal of microencapsulation**, v. 34, n. 6, p. 571–581, 18 ago. 2017.

YALCIN, I.; AKSU, F.; BELZUNG, C. Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol. **European Journal of Pharmacology**, v. 514, n. 2–3, p. 165–174, 9 maio 2005.

YANG, B. et al. Comparison of R-ketamine and rapastinel antidepressant effects in the social defeat stress model of depression. **Psychopharmacology**, v. 233, n. 19–20, p. 3647–57, 2016.

YANG, X. HUA et al. Motivational deficits in effort-based decision making in individuals with subsyndromal depression, first-episode and remitted depression patients. **Psychiatry Research**, v. 220, n. 3, p. 874–882, 30 dez. 2014.

YILDIRIM BAŞ, F. et al. Effect of alpha lipoic acid on smoking-induced skin damage. **Cutaneous and ocular toxicology**, v. 36, n. 1, p. 67–73, 2 jan. 2017.

ZAFAR, T. Potential biomarkers of emotional stress induced neurodegeneration. **eNeurologicalSci**, v. 21, 1 dez. 2020.

ZBOZINEK, T. D. et al. Diagnostic overlap of generalized anxiety disorder and major depressive disorder in a primary care sample. **Depression and anxiety**, v. 29, n. 12, p. 1065–1071, dez. 2012.

ZHAO, J. et al. The depressive-like behaviors of chronic unpredictable mild stress-treated mice, ameliorated by Tibetan medicine Zuotai: involvement in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis pathway. **Neuropsychiatric disease and treatment**, v. 14, p. 129–141, 2018.

ZHAO, R. et al. Inflammation in Chronic Wounds. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 12, 11 dez. 2016.

ZHENG, K. et al. The effect of polymer–surfactant emulsifying agent on the formation and stability of  $\alpha$ -lipoic acid loaded nanostructured lipid carriers (NLC). **Food Hydrocolloids**, v. 32, n. 1, p. 72–78, 1 jul. 2013.

ZONTA, M. et al. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. **Nature neuroscience**, v. 6, n. 1, p. 43–50, 1 jan. 2003.

ZORKINA, Y. A. et al. The Comparison of a New Ultrasound-Induced Depression Model to the Chronic Mild Stress Paradigm. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 13, 22 maio 2019.

## ANEXO A – DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITO CICATRIZANTE DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO EM MODELO ANIMAL DE LESÃO POR PRESSÃO ASSOCIADO ÀS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICAS", protocolada sob o CEUA nº 3343020519 (ID 001227), sob a responsabilidade de **Silvânia Maria Mendes Vasconcelos** e equipe; *Gabriel Angelo de Aquino* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 27/08/2019.

We certify that the proposal "THE HEALING EFFECT OF ALPHA-LIPOIC ACID IN ANIMAL MODEL OF PRESSURE INJURY ASSOCIATED WITH BEHAVIORAL AND NEUROCHEMICAL CHANGES", utilizing 360 Heterogenics mice (180 males and 180 females), protocol number CEUA 3343020519 (ID 001227), under the responsibility of **Silvânia Maria Mendes Vasconcelos and team**; *Gabriel Angelo de Aquino* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 08/27/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [06/2019](#) a [02/2021](#)

Área: [Departamento de Fisiologia E Farmacologia](#)

Origem: [Biotério Central da UFC](#)

Espécie: [Camundongos heterogênicos](#)

sexo: [Fêmeas](#)

idade: [30 a 40 dias](#)

N: [180](#)

Linhagem: [Swiss](#)

Peso: [25 a 30 g](#)

Origem: [Biotério Central da UFC](#)

Espécie: [Camundongos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [30 a 40 dias](#)

N: [180](#)

Linhagem: [Swiss](#)

Peso: [25 a 30 g](#)

Local do experimento: As atividades propostas serão realizadas no biotério do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos da Universidade Federal do Ceará.

Fortaleza, 04 de setembro de 2019

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará