

Análise histomorfométrica dos mastócitos em feridas cutâneas tratadas com jato de plasma

Histomorphometric analysis of mast cells in cutaneous wounds treated with plasma JET

Carla Barreto Silva de Cerqueira¹, Sarah Souza Lima², Laila Vitoria Borges dos Santos³, Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado^{4*}

¹Fisioterapeuta formada pela Universidade Federal da Bahia – UFBA, Mestre em Biotecnologia pela Universidade Federal da Bahia – UFBA, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas da Universidade Federal da Bahia – UFBA; ²Mestranda do Programa de Pós-Graduação Processos Interativos de Órgãos e Sistemas da Universidade Federal da Bahia; ³Acadêmica do Curso de Fisioterapia da Universidade Federal da Bahia – UFBA; ⁴Cirurgiã-dentista formada pela Universidade Federal da Bahia – UFBA, Doutora em Patologia Humana pelo Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – FIOCRUZ UFBA, Professora Associada do Instituto de Ciências da Saúde e do Programa de Pós-graduação Processos Interativos de Órgãos e Sistemas da Universidade Federal da Bahia – UFBA

Resumo

Introdução: os eventos biológicos que se desenvolvem durante o reparo tecidual são orquestrados por diferentes populações celulares, entre as quais se destaca o mastócito. Nesse contexto, diversas terapias biomoduladoras têm sido propostas para otimizar o reparo, e o jato de plasma tem despertado o interesse da comunidade científica devido a sua capacidade de estimular a proliferação celular, a síntese de colágeno e melhorar a oxigenação dos tecidos, bem como o aporte de nutrientes através da vasodilatação e neoangiogênese. **Objetivo:** avaliar o impacto da terapia com jato de plasma sobre a população de mastócitos em duas fases do reparo cutâneo de ratos, através de uma análise histomorfométrica. **Metodologia:** foram utilizados 20 ratos Wistar, alocados randomicamente em grupo controle (GC) e grupo jato de plasma (GJP). Foi realizada uma ferida cirúrgica cutânea, no dorso dos animais. Apenas o GJP foi submetido à terapia com jato de plasma, imediatamente após a cirurgia, e nos dois dias seguintes. Metade dos animais de cada grupo foi sacrificada no 5º dia, após o procedimento cirúrgico, e os demais no 10º dia. Foi removida uma amostra do tecido cutâneo para processamento histológico e análise histomorfométrica. **Resultados:** constatou-se que o número total de mastócitos foi significativamente maior no grupo tratado com jato de plasma em relação ao grupo de controle ($p=0,04$). Observou-se que houve maior desgranulação de mastócitos no grupo tratado com jato de plasma, quando comparado ao grupo de controle, tanto no período de cinco dias, quanto no de dez dias ($p=0,002$ e $p=0,02$, respectivamente). **Conclusão:** o estudo sugere que o jato de plasma pode ser uma ferramenta adjuvante promissora para ser utilizada com vistas à biomodulação de diferentes populações celulares no reparo tecidual, entre as quais se destaca o mastócito.

Palavras-chave: Jato de plasma; terapia biomoduladora; reparo tecidual; cicatrização; mastócitos.

Abstract

Introduction: the biological events that develop during tissue repair are orchestrated by different cell populations, among which the mast cell stands out. In this context, several biomodulatory therapies have been proposed to optimise repair, and the plasma jet has aroused the interest of the scientific community due to its ability to stimulate cell proliferation and collagen synthesis and improve tissue oxygenation, as well as the supply of nutrients through vasodilation and neoangiogenesis. **Objective:** to evaluate the impact of plasma jet therapy on the mast cell population in two phases of skin repair in rats through histomorphometric analysis. **Methodology:** twenty Wistar rats were randomly allocated into a control group (CG) and a plasma jet group (PJG). A cutaneous surgical wound was performed on the back of the animals. Only the PJG was submitted to plasma jet therapy immediately after the surgery and in the following two days. Half of the animals in each group were sacrificed on the 5th day, after the surgical procedure, and the others on the 10th day. A sample of skin tissue was removed for histological processing and histomorphometric analysis. **Results:** it was found that the total number of mast cells was significantly higher in the group treated with plasma jet compared to the control group ($p=0.04$). There was a greater degranulation of mast cells in the group treated with plasma jet compared to the control group in five days and ten days ($p=0.002$ and $p=0.02$, respectively). **Conclusion:** the study suggests that the plasma jet can be a promising adjuvant tool to be used with a view to the biomodulation of different cell populations in tissue repair, among which the mast cell stands out. **Keywords:** Plasma jet; biomodulatory therapy; tissue repair; healing; mast cells.

INTRODUÇÃO

Os mastócitos (MCs) são células grandes, que se apresentam com um formato arredondado ou ovoides. Podem ser evidenciadas, quando coradas com azul de toluidina, na periferia dos vasos sanguíneos. Dentre

Correspondente/Corresponding: *Alena Ribeiro Alves Peixoto Medrado – End: Departamento de Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde, UFBA – End: Av. Reitor Miguel Calmon, Vale do Canela. CEP:40231-300 Salvador, BA – Tel: (71) 99372 1250. E-mail: alenamedrado@hotmail.com

as suas principais características, os MCs apresentam diversos grânulos com mediadores químicos, a exemplo da histamina (vasodilatador), e da heparina (anticoagulante), essenciais para o processo de reparo tecidual^{1,2}.

A heterogeneidade dos mastócitos foi descrita pela primeira vez em meados dos anos 60, com base em suas características colorimétricas. Nesse mesmo período, foi apresentado, na literatura o conceito de mastócitos do tecido conjuntivo (CTMCs) e mastócitos da mucosa (MMCs). Em humanos, diferentes subpopulações de MCs foram definidas por seu conteúdo de proteases, em especial no tocante à triptase e à quimase, as quais têm sido mais estudadas na literatura. Alguns mastócitos expressam apenas triptase (MC_T) ou quimase (MC_C), ao passo que outros podem exibir as duas enzimas simultaneamente (MC_{TC}). Além disso, os mastócitos se classificam em subpopulações com base em sua localização, além de já terem sido caracterizados como MCs constitutivos ou induzíveis, inflamatórios (iMC) ou pró ou antitumorigênicos (MC1 ou MC2). Embora a divisão em subpopulações constitutivas e induzíveis possa estar relacionada à origem pré-natal mastocitária, fatores como mudanças no microambiente, durante a resposta inflamatória, podem causar essa diferenciação. A heterogeneidade tem origem local ou é impulsionada pelo recrutamento de diferentes tipos de progenitores³.

Por possuírem uma diferenciação terminal nos tecidos em alguns momentos, os progenitores dos mastócitos humanos deixam a medula óssea e se tornam células agranulares, indiferenciadas na circulação periférica, amadurecendo sob influências microambientais locais e se diferenciando⁴.

É possível observar a presença de mastócitos nas reações inflamatória aguda e (ou) crônica. Os MCs expressam receptores em sua superfície, que se ligam, nas reações agudas, ao anticorpo da classe IgE, reconhecendo, assim, os antígenos de maneira específica e desgranulando. Dessa forma, liberam histamina e os produtos da oxidação do ácido araquidônico. Esse tipo de resposta ocorre durante as reações anafiláticas a alimentos, picada de insetos ou drogas, frequentemente com resultados deletérios ao organismo. Quando apropriadamente reguladas, as respostas podem ser benéficas⁵.

A capacidade autorregenerativa é um fenômeno universal nos organismos vivos unicelulares, e mecanismos bioquímicos e celulares se iniciam no momento da ruptura da homeostase, resultantes de qualquer tipo de lesão^{6,7}. O processo de reparo tecidual pode acontecer tanto pela regeneração, com recuperação da atividade morfofuncional do tecido, como pela cicatrização, em que há restabelecimento da homeostasia do tecido por meio da formação de uma cicatriz⁶.

A resposta inflamatória está diretamente ligada ao processo de reparo tecidual, e tem como objetivo inibir a ação do agente agressor e desencadear uma cascata de eventos, a fim de promover a cicatrização final do tecido em questão. O processo inflamatório é caracterizado pela

migração de células de defesa, que geram uma resposta imediata e precoce, determinada pela ação de leucócitos, em especial, os neutrófilos. A continuidade da inflamação resulta em uma resposta com duração mais prolongada, caracterizada por lesão tecidual continuada e mudança do perfil do infiltrado inflamatório, com destaque para macrófagos, linfócitos, plasmócitos e mastócitos⁷. Ao mesmo tempo em que viabilizam a continuidade do processo inflamatório, tais células podem também contribuir para o repovoamento celular e o remodelamento final do tecido cicatricial⁸.

O processo de cicatrização de lesões é subdividido didaticamente em quatro fases, que ocorrem de forma simultânea, embora predominem em diferentes períodos da cronologia do reparo⁹. O primeiro evento é marcado por uma estratégia do organismo em retomar a homeostase, no qual os vasos sanguíneos se contraem, e o sangue extravasado coagula, para promover a manutenção da integridade dos vasos. A coagulação consiste na agregação de trombócitos e plaquetas em uma rede de fibrina, que mantém a homeostase e forma uma barreira contra a invasão de microrganismos^{8,10}.

Durante a fase inflamatória, há uma marcante migração celular para a região lesionada, devido aos estímulos gerados pelos mediadores químicos liberados, os quais contribuem para o influxo de leucócitos como parte integrante da resposta celular. Sinais da inflamação são revelados pelo edema e eritema no local da lesão, normalmente nas primeiras 24 horas, e podem se estender por até dois dias. Também pode ocorrer uma rápida ativação das células do sistema imunológico no tecido, como acontece com os mastócitos, células gama-delta e células de Langerhans, que secretam quimiocinas e citocinas, a exemplo de IL-1 beta, TNF-alfa e IL-8. A ação coordenada de tais células e de seus produtos secretados desempenha um papel fundamental na transição da fase exsudativa para a proliferativa do reparo¹¹.

Na fase proliferativa, observa-se regeneração do tecido epitelial e fibroplasia, com certo grau de regeneração no tecido conjuntivo. Nesse período, ocorre a formação do tecido de granulação, com proliferação endotelial e de fibroblastos e miofibroblastos. Os fibroblastos são células mesenquimais diferenciadas, que se agrupam na região mais superficial da ferida, com relevante contribuição na biossíntese de componentes fibrilares, glicoproteínas adesivas e substância fundamental amorfa. Os fibroblastos iniciam a síntese e a secreção de componentes da matriz extracelular, associadas ao processo de angiogênese, com desenvolvimento de uma espécie de arcabouço formado por fibrina, fibronectina e pela reestruturação do colágeno, processo que resultará no preenchimento e na organização final da matriz extracelular¹².

A fase de maturação e remodelamento é a etapa mais longa do processo de cicatrização, com a ausência dos clássicos sinais flogísticos e redução da atividade celular. A reepitelização consiste no recobrimento da ferida por um novo epitélio e na migração e proliferação dos queratinócitos

a partir da periferia da lesão¹³. Nesse contexto, os MCs se destacam como células biologicamente ativas. Na verdade, os MCs participam em todas as fases do reparo tecidual. São originários de células multipotentes hematopoiéticas, situadas na medula óssea, que apresentam morfologia alongada. Em seu citoplasma, podem ser visualizados grânulos metacromáticos corados por azul de toluidina. Apresentam microvilos em sua membrana plasmática, e núcleo centralizado e arredondado que pode conter dois ou mais nucléolos^{14,15}. Desempenham funções relevantes na gênese do tecido conjuntivo e liberam mediadores que estimulam a propagação de fibroblastos e síntese de colágeno¹⁶. Sua participação em diferentes processos patológicos, a exemplo do reparo tecidual, tem sido cada vez mais investigada na literatura^{14,17}. Seu número pode aumentar em até cinco vezes no local da lesão. Os grânulos do citoplasma dos mastócitos contêm histamina, citocinas (TNF- α), prostaglandinas e proteases. A sua desgranulação leva a aumento da permeabilidade vascular, ativação de diferentes populações celulares, estímulo à deposição de colágeno e remodelação do tecido em cicatrização¹⁸. Quando ativados, iniciam a biossíntese de mais citocinas e fatores de crescimento, que contribuem continuamente para a caracterização da fase proliferativa da cicatrização. Mediadores de mastócitos podem gerar a estimulação dos queratinócitos, auxiliando na restauração do tecido epitelial superficial. Eles também podem estimular a neoangiogênese por meio da ativação de células endoteliais, fibroblastos e vários mediadores de queratinócitos, incluindo fator de crescimento de queratinócitos e fator de crescimento epidérmico¹⁹.

O reparo cutâneo tem recebido especial atenção nas últimas décadas em função da crescente valorização da aparência e da saúde da pele. A pele desempenha um papel crucial nas interações sociais e na autoestima, e tem aumentado a busca por procedimentos que sejam seguros, toleráveis e pouco invasivos, capazes de promover uma redução no tempo de cicatrização e garantir um melhor resultado estético, em especial, na face²⁰. Entre os recursos terapêuticos que possuem documentada ação biomoduladora, nas diferentes fases do reparo cutâneo, destacam-se a fotobiomodulação *laser* e outras fontes de luz, as quais podem promover aumento da biossíntese de ATP, atenuação do infiltrado inflamatório, proliferação de fibroblastos e miofibroblastos, neoangiogênese e neocolagênese²¹. Mais recentemente, a tecnologia com jato de plasma tem despertado o interesse da comunidade científica. O plasma é conhecido como o quarto estado da matéria, e suas primeiras aplicações foram destinadas a cauterizar tecidos e esterilizar instrumentais médicos^{22,23}. Pode ser classificado em plasma térmico, devido à sua capacidade de gerar um dano térmico no tecido, e plasma não térmico ou de pressão atmosférica fria, que pode ser aplicado na pele sem gerar dano²⁴. O plasma de pressão atmosférica fria exerce seus efeitos benéficos em feridas crônicas, que não cicatrizam por meio da inativação de

microrganismos, sem causar reações alérgicas na pele ou resistência²⁵.

O jato de plasma promove uma lesão no tecido, por meio de uma descarga de energia controlada, provocando, assim, uma inflamação tecidual, a fim de induzir a pele a produzir um tecido cicatricial mais uniforme e esteticamente melhor²⁶. Essa descarga elétrica superficial, delicada, poderá gerar um estímulo na circulação sanguínea dérmica, que resulta em eritema do ponto de vista clínico, e melhora do fluxo sanguíneo e linfático, e da oxigenação tissular²⁷. Ao receber essa alta carga energética, a pele, além de ser descontaminada, apresentará uma retração devido ao choque iônico, e, pela própria regeneração tecidual, resultará em um efeito do tipo *lifting* ou tensor do sítio anatômico submetido à sua ação²⁸. Além disso, a aplicação desse recurso no tecido é capaz de promover um aumento na concentração de óxido nítrico, que, por sua vez, atua como vasodilatador, favorecendo o incremento vascular e a chegada de oxigênio, nutrientes e mediadores químicos para os tecidos, acelerando em até 24,6% o tempo de reparo cutâneo^{29,30}.

Esse recurso vem ganhando bastante visibilidade atualmente, devido ao seu uso para fins estéticos, com o objetivo de promover uma redução nas rugas e linhas de expressão, através do estímulo à neocolagênese^{31,32}. Para essa finalidade, tem sido utilizado o plasma quente, pois, através de um dano térmico controlado, ocasionado pelo efeito do plasma, estudos histomorfométricos têm confirmado o aumento da biossíntese e o remodelamento de colágeno nos tecidos submetidos à sua ação^{33,34}. Ademais, estudos recentes apontam que a terapia com o jato de plasma pode ser bastante eficiente no tratamento de alopecia e de rejuvenescimento palpebral³⁵⁻³⁷.

O uso dessa terapia no reparo tecidual visa estimular a proliferação celular e a síntese de colágeno, além de melhorar a oxigenação dos tecidos e o aporte de nutrientes através da vasodilatação e neoangiogênese³⁸. Alguns autores definem o jato de plasma como um recurso terapêutico capaz de acelerar o processo de cicatrização e o fechamento de feridas crônicas, a exemplo das úlceras por pressão, devido a seu potencial bactericida e a sua capacidade de estimular a biossíntese de colágeno^{39,40}.

Porém, até o presente momento, há escassez de estudos que avaliem quali e (ou) quantitativamente a participação de MCs no reparo cutâneo sob a ação biomoduladora do jato de plasma. O presente estudo experimental em ratos objetivou investigar o impacto da terapia com jato de plasma sobre a população de mastócitos em duas fases do reparo cutâneo de ratos, através de uma análise histomorfométrica.

METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade Adventista da Bahia (FADBA), com número de registro 67/2019.

Foram utilizados 20 ratos machos *Wistar*, com peso aproximado de 200 gramas, do biotério da Faculdade

Adventista da Bahia. Após pesagem, os ratos foram anestesiados com uma associação de Cloridrato de quetamina 10% (Dopalen®, São Paulo, Brasil) 75 mg/ml e cloridrato de xilazina 2% (Anazedan, São Paulo, Brasil) 5 mg/ml, com a dosagens de 2mg/kg e 3mg/kg respectivamente. Foram, então, submetidos à cirurgia cutânea, após realização de tricotomia em região dorsal e antisepsia com Iodopovidine (Rioquímica, São Paulo, Brasil), que consistiu em realizar uma incisão circular com um bisturi circular metálico, (Biopsy Punch, Stiefel, Alemanha) com 6mm de diâmetro para a obtenção de uma ferida uniforme e padronizada, executada por um único operador devidamente calibrado. Durante o experimento, os animais foram mantidos na Faculdade Adventista da Bahia (FADBA), em condições sanitárias de biotério convencional dessa Instituição, com ração balanceada Nuvilah® (Suprilab) e água *ad libitum*.

Os animais foram alocados randomicamente, por meio de sorteio, em 2 grupos de 10 ratos cada. O grupo experimental controle (GC) compreendeu animais que tiveram o contato com a ponta ativa do jato de plasma no modo desligado. O grupo tratado com jato de plasma (GJP) foi submetido à terapia biomoduladora com jato de plasma, realizada diariamente, durante 3 dias consecutivos, a partir do dia correspondente à realização da cirurgia cutânea. O equipamento utilizado foi o Jett Plasma Lift (Celebrim, Importações e Distribuições LTDA, São Paulo, Brasil), composto por quatro aplicadores e eletrodos de espuma, responsáveis por fechar o campo magnético. Para aplicação, foi utilizado o aplicador plano, com diâmetro de 3mm, de ação não térmica, que foi movido sobre o gel condutor, aplicado na borda da ferida, realizando estimulação elétrica por corrente contínua, com intensidade de 5/8 e tempo de duração da aplicação de 1 minuto e 30 segundos.

Cinco espécimes de cada grupo experimental foram sacrificados nos dias 5 e 10 após a cirurgia cutânea em câmara de gás, onde foi liberado gás carbônico em uma concentração de 5 litros por minuto, até a confirmação da morte. Foi removida uma porção do tecido cutâneo que compreendia a ferida cirúrgica para processamento histológico. O espécime foi fixado por um período mínimo de 18 horas, em solução de formol 10%, tamponado. Os fragmentos de pele com a lesão foram submetidos a cortes histológicos de 4 micrômetros de espessura e corados com azul de toluidina para avaliação qualitativa dos mastócitos.

A captura das imagens das secções teciduais foi realizada através do *software Motic Images Advanced 3.0*® (Motic China Group CO. LTD) no Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia. Foi estabelecida uma área padrão para análise de todos os casos, a saber, 13107,200000 pixels. Cinco imagens padrão correspondentes a cada secção tecidual foram capturadas com a dimensão estabelecida para análise quantitativa dos MCs, e salvas com aumento de 40X em formato JPEG. Todas as análises foram realizadas em triplo-cego, por examinadores previamente

calibrados. O índice de Cohen Kappa foi utilizado para avaliação da concordância entre os examinadores e demonstrou resultado de 0,92.

Foi criado um banco de dados no Microsoft® Excel® 2010 (versão 14.0.7132.5000), Microsoft® Office Professional Plus 2010, USA e os dados foram analisados no *software R* (versão 3.1.1). A distribuição dos dados quanto à normalidade foi testada com o teste ANOVA (*Analysis of variance*). Foram realizados os testes de Fischer e o T de Student não paramétricos. O nível de significância considerado para o estudo foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

No grupo de controle, houve aumento do número total de mastócitos, ao serem comparados os dois períodos avaliados, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabela 1). Quando avaliados os mastócitos intactos e desgranulados separadamente, observou-se que a mediana do número de intactos diminuiu no 10º dia, ao passo que a mediana do número de desgranulados aumentou, embora tais diferenças não tenham sido significativas ($p > 0,05$) (Tabela 2).

No grupo jato de plasma, houve diminuição do número total de mastócitos do 5º para o 10º dia, mas sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabela 1). Ao se analisar, de forma distinta, os mastócitos intactos e desgranulados, foi possível identificar que a mediana do número de intactos diminuiu no 10º dia, assim como a de desgranulados, embora sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 1 – Comparação entre o número total de mastócitos, estratificados por grupo.

Grupos experimentais	Mediana de mastócitos totais	
	5 dias	10 dias
Controle	90	105
	p-valor	0,514
Jato de plasma	195	188
	p-valor	0,919

Fonte: dados da pesquisa

Tabela 2 – Comparação entre os tempos, com relação à quantidade de mastócitos intactos e desgranulados, estratificados por grupo.

Grupos experimentais	Mastócitos intactos		Mastócitos desgranulados	
	5 dias	10 dias	5 dias	10 dias
Controle	12(10-14)	11(10-16)	4(4-4)	6(6-10)
	p-valor	0,305		0,020
Jato de plasma	14(9-15)	13(12-14)	19(11-23)	14(11-24)
	p-valor	0,019		0,172

Fonte: dados da pesquisa

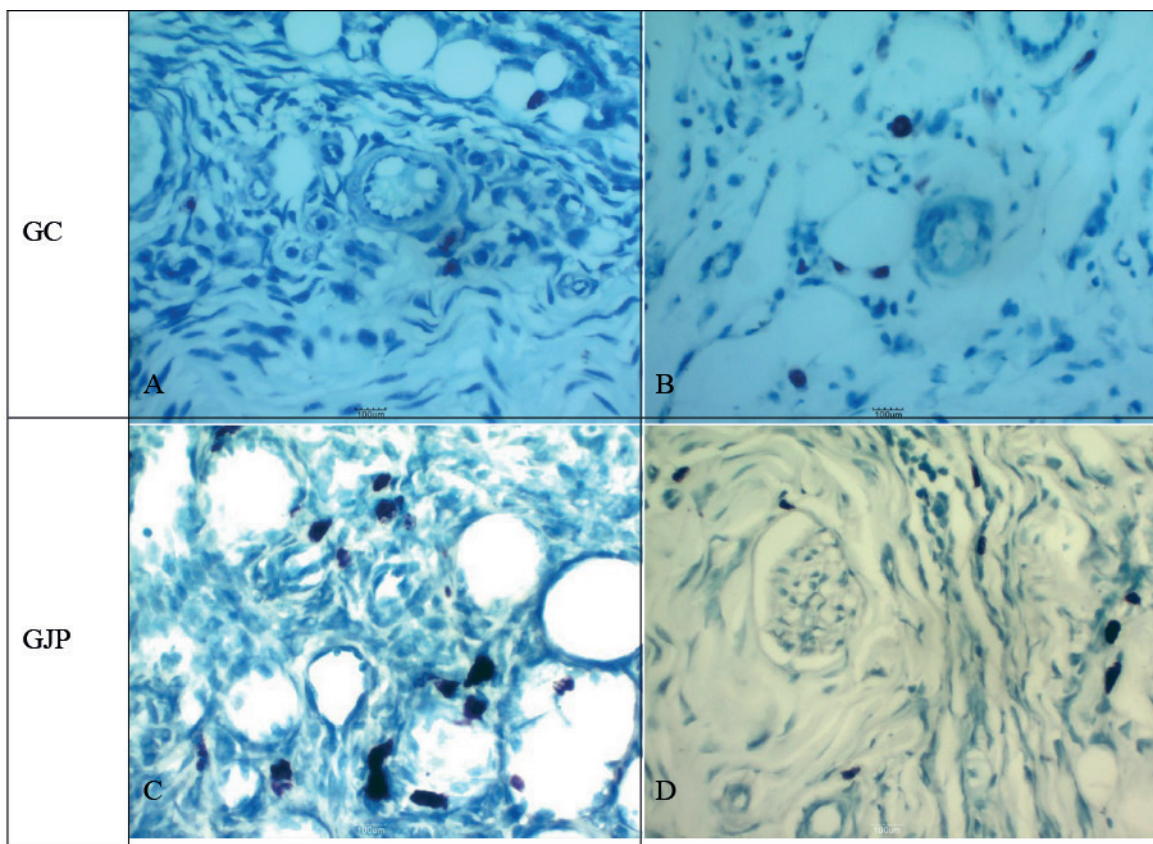
No primeiro período de análise, correspondente a cinco dias após a realização da cirurgia cutânea, constatou-se que o número total de mastócitos foi significativamente maior no grupo tratado com jato de plasma em relação ao grupo de controle ($p=0,04$) (Tabela 3). Esse mesmo achado foi observado no 10º dia do período pós-operatório, embora sem significância estatística ($p>0,05$) (Tabela 3 e Figura 1 A-D).

Tabela 3 – Comparação entre o número total de mastócitos, estratificado por tempo, em que G1 corresponde ao grupo controle e G2 ao tratado com jato de plasma.

Período de tempo	Mastócitos totais	
	G1	G2
5 dias	90	195
	p-valor	0,046
10 dias	105	188
	p-valor	0,137

Fonte: dados da pesquisa

Figura 1 – Análise morfológica dos grupos experimentais. Fotomicrografias de secções histológicas, coradas com azul de toluidina, obtidas na objetiva de 40x das regiões dos ferimentos cutâneos padronizados, que ilustram as características histomorfológicas nos grupos com 5 e 10 dias. Nota-se que os MCs apresentam diferentes densidades citoplasmáticas e que há maior número no grupo experimental submetido à terapia com jato de plasma.



Fonte: autores

Com relação à população de mastócitos intactos, no 5º dia, não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos experimentais avaliados, pois os valores das medianas apresentaram-se muito próximos ($p>0,05$) (Tabela 4). Essa característica foi também evidenciada no 10º dia ($p>0,05$) (Tabela 4).

Observou-se que houve maior desgranulação de mastócitos no grupo tratado com jato de plasma, quando comparado ao grupo de controle, tanto no período de 5 dias, quanto no de 10 dias, sendo essas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,002$ e $p=0,02$, respectivamente) (Tabela 4).

Tabela 4 – Comparação entre grupos, com relação à quantidade de mastócitos intactos e desgranulados, estratificada por tempo, em que G1 corresponde ao grupo de controle e G2 ao tratado com jato de plasma.

Variáveis	Resultado	Intactos		Degranulados	
		G1	G2	G1	G2
5 dias		12(10-14)	14(9-15)	4(4-4)	19(11-23)
	p-valor		0,092	0,002	
10 dias		11(10-16)	13(12-14)	6(6-10)	14(11-24)
	p-valor		0,821	0,026	

Fonte: dados da pesquisa

DISCUSSÃO

A capacidade autorregenerativa é um fenômeno universal nos organismos vivos unicelulares⁶, e mecanismos bioquímicos e celulares se iniciam no momento da ruptura da homeostase, resultantes de qualquer tipo de lesão⁷. O processo de reparo tecidual pode acontecer tanto pela regeneração, com recuperação da atividade morfofuncional do tecido, como pela cicatrização, em que há restabelecimento da homeostasia do tecido através da formação de uma cicatriz^{41,42}. Dentre as células que participam ativamente do processo de cicatrização, destacam-se os mastócitos. A principal função dessa célula é armazenar potentes mediadores químicos da inflamação, como anticoagulantes e vasodilatadores. Os mastócitos podem se apresentar na forma intacta e na forma desgranulada. A primeira se refere ao período que precede a exocitose de seus grânulos secretórios, e a segunda representa o seu aspecto após a desgranulação e o transporte do material intracelular para o meio extracelular^{6,8}.

No presente estudo, a análise intragrupos, apesar de evidenciar algumas variações, tanto no grupo de controle, quanto no grupo jato de plasma, no que se refere à contagem total de mastócitos e a contagem separada dos mastócitos intactos e dos desgranulados, conforme a variação de tempo entre o 5° e o 10° dia, não apresentou resultados estatisticamente significativos. Entretanto, ao se avaliar os resultados da análise intergrupos, pôde-se perceber que houve diferença significativa, uma vez que, após a aplicação do jato de plasma no GJP, houve um aumento no número total de mastócitos em relação ao grupo de controle ($p=0,04$). Tais resultados podem ser, em parte, justificados de acordo com o que foi constatado por Weltmann et al.²⁹ (2009) e Daeschlein, Darm, Niggemeier³⁰ (2004). Os autores constataram que o jato de plasma foi capaz de aumentar a concentração de óxido nítrico no tecido, potente vasodilatador. Embora não tenham verificado a população de mastócitos em seus estudos, tais autores destacaram que a vasodilatação induzida pelo óxido nítrico é de fundamental relevância para viabilizar a transmigração de células sanguíneas da

linhagem hemocitopoiética, entre as quais poderiam se encontrar os precursores dos mastócitos.

Em um estudo, realizado por Kubinova et al.⁴³ em 2017, foi constatado que o tratamento realizado com o jato de plasma não térmico, além de ser capaz de promover benefícios na fase inflamatória e proliferativa do processo de cicatrização, com ênfase no seu potencial antimicrobiano, também contribuiu para a migração de células e formação de novos vasos, no local da lesão. Dessa forma, a vasodilatação, desencadeada pela terapia com jato de plasma, foi capaz de favorecer não só a chegada de oxigênio e nutrientes, mas também aumentar, no leito do ferimento, o quantitativo de células que participam do processo inflamatório. Esse achado também poderia explicar as medianas mais elevadas representativas dos MCs intactos e desgranulados no grupo tratado com jato de plasma em relação ao grupo de controle, no presente estudo.

Contudo, no que se refere à análise separada da população de mastócitos intactos, os achados não evidenciaram alterações estatisticamente significativas entre os grupos, tanto no 5° quanto no 10° dia. Porém, no tocante à população de MCs desgranulados, observou-se aumento estatisticamente significativo em ambos os tempos do estudo ($p=0,002$ e $p=0,02$). Segundo o estudo de Pinheiro et al.⁴⁴ (2006), tem sido relatado que a desgranulação dos MCs exerce um papel decisivo no processo de cicatrização, sendo possível correlacionar seus mediadores químicos com a neocolagênese. Segundo os autores, a histamina liberada pelos mastócitos é responsável por estimular os fibroblastos a sintetizarem colágeno. A triptase e a heparina também foram citadas como capazes de estimular a fibroplasia e estimular a quimiotaxia. Na literatura, tem sido relatado que os MCs são encontrados circunjacentes aos fibroblastos, fato que sugere uma interação entre eles⁴⁵. Essa relação ainda não foi bem estabelecida, embora, no meio científico, alguns autores já descrevam os mastócitos como capazes de degradar as fibras de colágeno⁴⁶. Outros sugerem que os MCs estimulam uma produção demasiada de colágeno, desencadeando um processo de fibrose tecidual⁴⁷. Embora não tenha sido objetivo deste estudo, a presente pesquisa encoraja a realização de estudos que correlacionem a população de MCs com variáveis do reparo tecidual, a exemplo da biossíntese de colágeno e outros componentes da matriz extracelular.

Faz-se necessário ressaltar que o presente estudo apresentou algumas limitações. A análise poderia ter sido ampliada para compreender, principalmente, os primeiros dias do período pós-operatório. Os autores sugerem também o desenvolvimento de estudos que avaliem a contagem de outras células, e não apenas as dos mastócitos, para que se possam determinar correlações entre as diferentes populações celulares. Ademais, a utilização de diferentes dosagens de jato de plasma também se faz necessária para comprovar sua eficácia na cicatrização, em seres humanos.

CONCLUSÃO

A análise histomorfométrica apresentada no presente estudo evidenciou um resultado estatisticamente significativo, no que se refere ao aumento da desgranulação de MCs no 5° e no 10° dia, nos animais tratados com jato de plasma. O jato de plasma pode ser uma ferramenta promissora e adjuvante, capaz de auxiliar no controle da inflamação e favorecer o processo de cicatrização.

FINANCIAMENTO

Gostaríamos de apresentar nossos agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento fornecido através da bolsa de estudos concedida à acadêmica Carla Barreto Silva de Cerqueira, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo financiamento fornecido através da bolsa de iniciação tecnológica concedida à acadêmica Laila Vitoria Borges dos Santos.

REFERÊNCIAS

1. Bechara GH, Szabó MPJ. Processo inflamatório: alterações vasculares e mediação química [Internet]. Componente e Eventos Celulares. 2006 [citado 2023 jun 29]. Disponível em: https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inflam_aspectosvasculares2006.pdf
2. Medeiros AC, Dantas FAM. Cicatrização das feridas cirúrgicas. *J Surg CI Res.* 2016;7 (2). doi: <https://doi.org/10.20398/jscr.v7i2.11438>
3. Galli S JR, Gordon BK, Wershil. Cytokine production by mast cells and basophils. *Curr. Opin. Immunol.* 1991;3(6):865-72. doi: 10.1016/S0952-7915(05)80005-6
4. Maluf LC, Barros JA, Machado Filho CD dos S. Mastocitose. *Anais Bras Dermatol.* 2009;84(3): 213-25. doi: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000300002>
5. Crivellato E, Beltrami CA, Mallardi F, Ribatti D. The mast cell: an active participant or an innocent bystander? *Histology and histopathology.* 2004;19:259-70. doi: 10.14670/HH-19.259
6. Balbino CA, Pereira L, Curi R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *RBCF, Rev Bras Ciênc Farm.* 2005;41(1). doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000100004>
7. Néri JSV, Lomba E, Karam AM, Reis SRdeA, Marchionni AMT, Medrado ARAP. Ozone therapy influence in the tissue repair process: a literature review. *J Oral Diagn.* 2017;2:1-6. doi: 10.5935/2525-5711.20170032
8. Gonzalez AC de O, Andrade Z de A, Costa TF, Medrado ARAP. Wound healing – A literature review. *An Bras Dermatol.* 2016;91(5). doi: 10.1590/abd1806-4841.20164741
9. Torisvera M, Kahari V-M. Proteinases in cutaneous wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2009;66(2):203-24. doi:10.1007/s00018-008-8388-4
10. Dário GM. Avaliação da atividade cicatrizante de formulação contendo argila medicinal sobre feridas cutâneas em ratos [Internet]. [dissertação]. Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense; 2008 [citado 2023 jun 25]; p.78. Disponível em: <http://200.18.15.60:8080/pergamumweb/vinculos/000036/000036B4.pdf>
11. Orsted H, Keast D, Lalande LF, Mégie M. Basic Principles of Wound Healing An understanding of the basic physiology of wound healing

provides the clinician with the framework necessary to implement the basic principles of chronic wound care. *Wound Care Canada.* 2004 [citado 2023 jun 29];9(2). Disponível em: <https://www.woundscanada.ca/docman/public/wound-care-canada-magazine/2011-vol-9-no-2/424-wcc-spring-2011-v9n2-principles-wound-healing/file>

12. Pristo I. Cicatrização de feridas: fases e fatores de influência. *Acta Vet Brasilica.* 2012;6(4):267-71. doi: <https://doi.org/10.21708/avb.2012.6.4.2959>
13. Ferreira AC, Batista AL, De Vasconcelos C, Chaves MH. A atuação da laserterapia na angiogênese e no reparo tecidual. *Res Soc Dev.* 2021;10(3). doi: <https://orcid.org/0000-0003-0370-3177>
14. Farahini SS, Navabazam A, Ashkevari FS. Comparison of mast cells count in oral reactive lesions. *Pathol Res Pract.* 2010;206(2):151-5. doi: 10.1016/j.prp.2009.10.006
15. Pereira MC, Pinho CB, Medrado AP, Andrade ZA, Reis SR. Influence of 670 nm lowlevel laser therapy on mast cells and vascular response of cutaneous injuries. *J Photochem Photobiol B.* 2010;98(3):188-92. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2009.12.005
16. Schaffer LF, Pe'er J. Mast cell and angiogenesis. *Clin Exp Allergy.* 2001;31:521-4. doi: 10.1046/j.1365-2222.2001.01041.x
17. Wulff B, Wilgus, Traci A. Mast cell activity in the healing wound: more than meets the eye? *Experimental dermatology.* 2013;22(8):507-10. doi: 10.1111/exd.12169
18. Dahlin J, Maurer M, Metcalfe DD, Pejler G, Sagi-Eisenberg R, Nilsson G. The ingenious mast cell: contemporary insights into mast cell behavior and function. *Allergy.* 2022;77 (1):83-99. doi: <https://doi.org/10.1111/all.14881>
19. Barreto AL, Bastos T, Pires J, Júnior LR, Cardoso J. Análise quantitativa de mastócitos na cicatrização de feridas tratadas com membranas de colágeno contendo própolis vermelha. *Interfaces Científicas – Saúde e Ambiente.* 2013;1(2):79-90. doi: <https://doi.org/10.17564/2316-3798.2013v1n2p79-90>
20. De Cerqueira CB, Dantas J, Souza B, Carvalho M, Medrado AP, Matos J. Tissue repair under the influence of plasma jet and other biomodulator therapies-state of the art. *Res Soc Dev.* 2022;11(12). doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i12.34870>
21. Kong MG, Kroesen G, Morfill G, Nosenko T, Shimizu T. Plasma medicine: an introductory review. *New J Physics.* 2009;11-10. doi :2630/11/11/115012
22. Chang YT, Chen G. Oral bacterial inactivation using a novel low-temperature atmospheric-pressure plasma device. *J Dent Sci.* 2016;11(1):65-71. doi: 10.1016/j.jds.2014.03.007
23. Cubas A, Hermann K, Machado M. A tecnologia do plasma no processo de inativação da enzima tirosinase. *Reunião Regional da SBPC; 2016 [citado 2023 jun 22].* Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/palhoca/resumos/1279.pdf>
24. Babossalam S, Abdollahimajd F, Aghighi M, Mahdikia H, Dilmagharian A, Toossi P. The effect of nitrogen plasma on the skin and hair follicles: a possible promising future for the treatment of alopecia. *Arch Dermatol Res.* 2019. doi: 10.1007/s00403-019-02020-w
25. Bernhardt T, Semmler LM, Schafer M, Bekeschus S, Emmert S, Boeckmann L. Plasma medicine: applications of cold atmospheric pressure plasma in dermatology. *J Deutsc Dermatol Ges.* 2018;16(1):7-13. doi: 10.1007/s00105-019-04530-0
26. Bernhardt T, Semmler LM, Schafer M, Bekeschus S, Emmert S, Boeckmann L. Plasma medicine: applications of cold atmospheric pressure plasma in dermatology. *Pressure Plasma Dermatol.* 2019;16:1-10. doi: 10.1155/2019/3873928

27. Queiroz MC, Vieira RM. Estudo comparativo entre o equipamento jato de plasma e o microagulhamento como tratamento de cicatrizes pós – acne – Estudo Piloto. *Revista Eletrônica Interdisciplinar*. 2020;12:271-4.
28. Lizarelle RF, Costa S. Jato de plasma fotomodulado na harmonização orofacial. *Revista Aesthetic Orofacial Science*. 2022;3(3):1-13. doi: <https://doi.org/10.51670/aos.v3i3.121>
29. Weltmann K-D, Branderburg R, Kindel E, Meyer C. Atmospheric Pressure Plasma Jet for Medical Therapy: Plasma Parameters and Risk Estimation. *Plasma Phys*. 2009;49(9): p. 631-40. doi: 10.1002/ctpp.200910067
30. Daeschleiln L, Darm K, Niggemeier M. A terapia para o tratamento de lesões necróticas purulenta e dos membros inferiores em pacientes diabéticos. *Khirurgiia (Mosk)*. 2004.
31. Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets V N, Friedman A. Applied plasma medicine. Plasma processes and polymers. 2008;5(6):503-33. doi: 10.1002/ppap.200700154
32. De Cerqueira CB, Carvalho MA, Leite MM, Medrado AP. Análise termográfica da ação do jato de plasma no tratamento de rugas faciais: série de casos clínicos. *Rev Ciênc Méd Biol*. 2021;20(2):349-56. doi: <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v20i2.42829>
33. Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, Stolz W, Isbary G, Zimmermann JL, et al. Plasma Medicine: possible applications in dermatology. *Jornal compilation© Blackwell Verlag GmbH, Berlin, JDDG*.2010;1610(08):12. doi: 10.1111/j.1610-0387.2010. 07495.x
34. Rodrigues PL, Ferreira LA, Santos WP, Diniz FL. O uso do plasma rico em plaquetas no rejuvenescimento facial: uma revisão integrativa. *Rev Multidisciplinar Psicologia*. 2019;13(47):563-75. doi: 10.14295/online.v13i47.2035
35. De Cerqueira CB, Brito EA, Carvalho MA, Medrado AR. The use of the plasma jet and laser photobiomodulation in the treatment of alopecia areata: case study. *JOJ Dermatol Cosmet*. 2021;4:555629. doi: 10.19080/JOJDC.2020.04.555629
36. Babossalam S, Abdollahimajd F, Aghighi M, Mahdikia H, Dilmaghani A, Toossi P, et al. The effect of nitrogen plasma on the skin and hair follicles: A possible promising future for the treatment of alopecia. *Arc Dermatol Res*. 2020;312(5):361-71. doi: 10.1007/s00403-019-02020-w
37. D'Ardis AM, Conderas J, Gursoy DI, Oztuk S, Melo P, Freitas J, et al. Plasma energy-based skin resurfacing for the treatment of blepharoptosis: efficacy of the plasmage device. A prospective multicentre clinical study [Internet]. 2018 [citado 2023 Jun 05];1-15. Disponível em: <https://miscompany.com.br/wp-content/uploads/plasmage-estudo-clinico.pdf>
38. Santos AD. Plasma jet in eyelid rejuvenation. *BWS Journal*. 2023;6:1-10.
39. Isbary G, Heilin J, Shimizu T, Zimmermann JL, Morfill G, Schmidt HU, et al. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*.2012;167(2):404-10. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10923.x
40. Chuangsuwanich A, Assadamongkol T, Boonyawan D. The healing effect of low-temperature atmospheric-pressure plasma in pressure ulcer: A randomized controlled trial. *Int J Lower Extremity wounds*. 2016;15(4):313-9. doi: 10.1177/1534734616665046
41. Galli SJ, Nakae S, Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol*. 2005;(2):135-42. doi: <https://www.nature.com/articles/ni1158>
42. Cruvinel WM, Mesquita Júnior DM Araujo AJ, Catelan TT, Souza AW, Silva NP, et al. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev Bras Reumatol*. 2010;50(4):434-61. doi: <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000400008>
43. Kubinova S, Zaviskova K, Uherkova L, Zablotskii V, Churpita O, Lunov O, et al. Non-thermal air plasma promotes the healing of acute skin wounds in rats. *Sci Rep*. 2017;7. doi: <https://www.nature.com/articles/srep45183>
44. Pinheiro SW. Avaliação comparativa do número de mastócitos na musculatura circular do esôfago e do cólon de chagásicos crônicos comou sem mega [Internet]. [tese]. Uberaba: Universidade Federal do Triângulo Mineiro; 2006. Disponível em: <http://btd.uftm.edu.br/bitstream/tede/16/1/Tese%20Simone%20W%20Pinheiro.pdf>
45. Abel M, Vliagoftis H. Mast cell-fibroblast interactions induce matrix metalloproteinase-9 release from fibroblasts: role for IgE-mediated mast cell activation. *J Immunol*. 2008; 180(5):3543-50. doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.5.3543>
46. Barnett ML. The fine structure of human connective tissue mast cells in periodontal disease. *J Periodontal Res*.1973;9:84-91. doi: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0765.1974.tb00658.x>
47. Cairns JA, Walls AF. Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. *J Clin Invest*. 1997;99(6):1313-21. doi: 10.1172/JCI119290

Submetido em: 10/11/2023

Aceito em: 18/11/2023