

Estado da publicação: Não informado pelo autor submissor

INFLUÊNCIA DOS ANESTÉSICOS LOCAIS NA INFLAMAÇÃO, NEOVASCULARIZAÇÃO E DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

Márcio Grande Carstens , Jurandir Marcondes Ribas Filho, Claudio Luciano Franck , Nicolau Gregori Czecko , Marcos Fabiano Sigwalt, Fernando Issamu Tabushi

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.7960>

Submetido em: 2024-01-25

Postado em: 2024-01-29 (versão 1)

(AAAA-MM-DD)

A moderação deste preprint recebeu o endosso de:

Oswaldo Malafaia (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1829-7071>)

INFLUÊNCIA DOS ANESTÉSICOS LOCAIS NA INFLAMAÇÃO, NEOVASCULARIZAÇÃO E DEPOSIÇÃO DE COLÁGENO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

INFLUENCE OF LOCAL ANESTHETICS ON INFLAMMATION, NEOVASCULARIZATION AND COLLAGEN DEPOSITION IN WOUND HEALING

Márcio Grande Carstens^{1,2}, Jurandir Marcondes Ribas-Filho¹, Claudio Luciano Franck^{1,3}, Nicolau Gregori Czezko¹, Marcos Sigwalt¹,
Fernando Issamu Tabushi¹

Afiliação dos autores: ¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; ²Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; ³Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, PR, Brasil;

ORCID

Márcio Grande Carstens - <https://orcid.org/0000-0002-2273-5740>

Jurandir Marcondes Ribas-Filho - <https://orcid.org/0000-0002-5251-7672>

Claudio Luciano Franck - <https://orcid.org/0000-0002-4326-8109>

Nicolau Gregori Czezko - <https://orcid.org/0000-0002-5926-150X>

Marcos Fabiano Sigwalt - <https://orcid.org/0000-0002-9899-5493>

Fernando Issamu Tabushi - <https://orcid.org/0000-0002-3150-2164>

Correspondência:

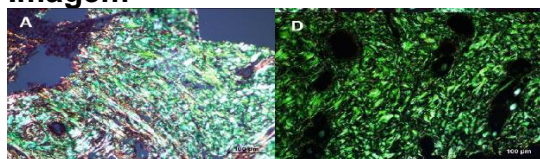
Márcio Grande Carstens

Email: marciocarstens@hotmail.com

Conflito de interesse: Nenhum

Financiamento: Em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001

Imagem



A) Grupo controle; D) levobupivacaína

Mensagem Central

Avaliar as diferenças cicatriciais entre áreas previamente infiltradas com diferentes anestésicos locais é interessante para verificar se a escolha do anestésico auxilia na cicatrização cirúrgica em relação à inflamação, neovascularização e deposição de colágeno. Este estudo comparou as mais frequentes soluções anestésicas locais com controles para verificar se há diferenças cicatriciais entre as diferentes soluções anestésicas e o resultado cicatricial.

Perspectiva

Os resultados indicaram que a infiltração de anestésicos locais na ferida operatória pode desempenhar papel no processo de reparo do tecido em humanos. Na análise da influência da ropivacaína e da levobupivacaína na fase inflamatória da cicatrização não se observou diferenças entre elas em relação às áreas cicatriciais, inflamação e neovascularização. Entretanto, verificou-se diferença estatística significativa na produção de colágenos, com intensidade de 6 a 12 vezes maior de colágenos tipos I, II e III no grupo levobupivacaína, levando à conclusão que ela pode exercer papel positivo no processo cicatricial das feridas cirúrgicas

Contribuição dos autores

Conceituação: Márcio Grande Carstens

Investigação: Claudio Luciano Franck

Metodologia: Jurandir Marcondes Ribas-Filho

Redação (esboço original): Nicolau Gregori Czeckzo, Marcos Sigwalt

Redação (revisão e edição): Fernando Issamu Tabushi

RESUMO - Introdução: Avaliar as diferenças cicatriciais entre áreas previamente anestesiadas com diferentes anestésicos locais é interessante para verificar se a escolha do anestésico auxilia na cicatrização cirúrgica em relação à inflamação, neovascularização e deposição de colágeno. **Objetivos:** Analisar a influência da ropivacaína e levobupivacaína na fase inflamatória da cicatrização de incisões cirúrgicas. **Método:** Trinta ratos Wistar machos foram divididos em 3 grupos para avaliar os efeitos desses anestésicos locais em comparação entre si e com grupo controle. Os animais foram submetidos à anestesia geral e, posteriormente, marcados para a administração das soluções e terem excisadas suas amostras após 5 dias. Estudou-se a área cicatricial, neovascularização e deposição de colágenos. **Resultados:** Em relação à inflamação e neovascularização, não houve diferenças significativas entre os grupos., todos apresentando níveis acentuados. Quanto à deposição de colágenos, este grupo demonstrou níveis significativamente mais altos de colágenos tipo I, II e III quando comparados aos grupos C e R. **Conclusões:** Não se observou diferenças entre os grupos em relação à variação das medidas cicatriciais, inflamação e à neovascularização. Entretanto, verificou-se sim diferença significativa na produção de colágenos com intensidade de 6 a 12 vezes maior de colágenos tipos I, II e III com o uso da levobupivacaína.

PALAVRAS-CHAVE - Anestésicos locais. Cicatrização. Neovascularização. Colágeno.

ABSTRACT - Introduction: Evaluating the scarring differences between areas previously anesthetized with different local anesthetics is interesting to verify whether the choice of anesthetic helps in surgical healing in relation to inflammation, neovascularization and collagen deposition. **Objectives:** To analyze the influence of ropivacaine and levobupivacaine on the inflammatory phase of surgical incision healing. **Method:** Thirty male Wistar rats were divided into 3 groups to evaluate the effects of these local anesthetics in comparison with each other and with a control group. The animals were subjected to general anesthesia and subsequently scheduled for administration of the solutions and their samples were excised after 5 days. The scar area, neovascularization and collagen deposition were studied. **Results:** Regarding inflammation and neovascularization, there were no significant differences between the groups, with all of them presenting pronounced levels. As for collagen

deposition, this group exhibited significantly higher levels of type I, II, and III collagens compared to groups C and R. Regarding collagen deposition, this group demonstrated significantly higher levels of type I, II and III collagen when compared to groups C and R. **Conclusions:** No differences were observed between the groups in relation to the variation in scar measurements, inflammation and neovascularization. However, there was a significant difference in the production of collagens with an intensity of 6 to 12 times greater in collagen types I, II and III with the use of levobupivacaine.

KEYWORDS - Local anesthetics. Healing. Neovascularization. Collagen.

INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas pós-operatórias é etapa crucial no processo de recuperação de pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos. O uso de deles tem sido associado a melhor controle da dor e recuperação cirúrgica mais rápida.¹⁻⁵

A dor pós-operatória é preocupação comum entre os pacientes e pode afetar negativamente a qualidade de vida, a mobilidade e a recuperação funcional.⁶ A utilização de anestésicos locais tem demonstrado resultados promissores no manejo dessa dor, principalmente por sua ação direta sobre os nervos periféricos e a redução da resposta inflamatória local.⁷⁻¹⁰ Além disso, pode ter impacto positivo na cicatrização das feridas.^{11,12} No entanto, os mecanismos moleculares envolvidos nesses processos ainda não são totalmente compreendidos.

Os anestésicos locais mais comumente utilizados na prática clínica incluem lidocaína, bupivacaína e ropivacaína.¹³ Essas substâncias são administradas por meio de várias técnicas, como infiltração local, bloqueios nervosos periféricos e administração tópica. É importante considerar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas desses agentes ao selecionar o anestésico local ideal para a cicatrização de feridas pós-operatórias.¹⁴

Neste contexto, o presente estudo visou analisar o papel dos anestésicos locais na cicatrização de feridas pós-operatórias e suas implicações clínicas ao verificar se houve diferença nas mensurações das áreas cicatriciais, as diferenças histológicas no processo inflamatório, a neovascularização e a deposição de colágenos no processo cicatricial de ratos.

MÉTODO

O estudo foi realizado no Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil entre 2020 e 2022. Foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais dessa faculdade sob número 2019-003354. Foram utilizadas as normas do Manual Prático de Normalização para Trabalhos Acadêmicos da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná (2019) e aplicada a Nômina Anatômica Veterinária (2012).

Amostragem e experimentação

Foram utilizados 30 ratos machos Wistar (*Rattus Norvegicus albinus*) com 90 dias de idade e peso oscilando entre 250-280 g. Foram divididos em 3 grupos, contendo 10 animais cada: grupo levobupivacaína (L), grupo ropivacaína (R) e grupo controle (C).

Preparo para o experimento

Os ratos receberam água e ração padrão (Nuvilab CR1[®] - Nuvital Nutrientes S/A) *ad libitum* e foram mantidos em temperatura ambiente controlada entre 18-22 °C, nas condições próprias de umidade do ambiente com controle cíclico de luz e escuridão a cada 12 h. Foram instalados em 30 gaiolas de polipropileno uma para cada animal.

Anestesia para a administração da solução

Todos os animais participantes do experimento permaneceram em jejum, prévio ao procedimento por 6 h da ração-padrão e 2 h de água, e foram submetidos à anestesia geral com aplicação intramuscular de cloridrato de cetamina (Ketalar[®]) na dose de 50 mg/kg e cloridrato de xilazina (Virbaxyl 2%[®]) na dose de 5 mg/Kg. Os procedimentos somente foram iniciados após a confirmação da imobilidade ao estímulo algico, permitindo-se a suposição da inconsciência e da analgesia adequada, e este plano anestésico permaneceu até o término da operação. Todos os ratos foram colocados sobre mesa cirúrgica recoberta por campo esterilizado, em decúbito ventral, e não utilizada fixação. Após a tricotomia da região dorsal e com caneta Sharpie[®] demarcou-se a região a ser infiltrada com as soluções correspondentes a cada grupo e posteriormente excisada em lesões circulares de diâmetro médio 0,8 cm contendo epiderme, derme e a região superior do tecido celular gerada por *Punch Rhosse[®]* número 8 e tesoura de converse.

Infiltração das soluções grupos C, L e R

Todos os animais estavam em anestesia geral no momento da infiltração das soluções pertinentes a cada grupo. Respeitou-se a dose tóxica de cada anestésico local utilizado. Utilizou-se como padrão a aplicação de uma solução contendo a dose máxima permitida dos fármacos (ropivacaína 3mg/kg e levobupivacaína 3mg/kg) e completou-se a solução com cloreto de sódio a 0,9% totalizando 1ml de solução. Foi aplicado via subcutânea, com agulha hipodérmica, 0,5ml da solução no centro de cada área demarcada, em região interescapular. (Figura 1A).

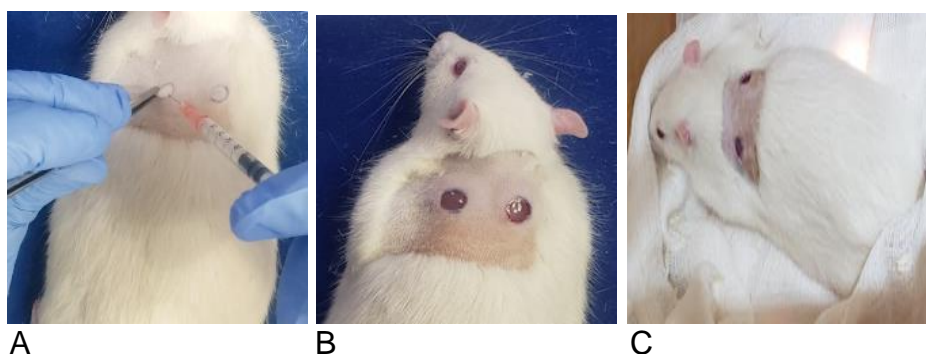


FIGURA 1 – A) Infiltração do anestésico na área da incisão; B) incisões circulares na área dorsal; C) recuperação pós-procedimento cirúrgico

Excisão das áreas infiltradas pelas soluções NaCl 0,9%, levobupivacaína e ropivacaína

Sob o mesmo plano anestésico, ainda sem respostas aos estímulos algicos, submetem-se os ratos à excisão cirúrgica (Figura 1B). As extensões das feridas operatórias foram mensuradas paquímetro digital plástico 150 mm PPV 1506[®] e as medidas de cada incisão circular inicial foram anotadas para posterior comparação.

Recuperação após procedimento anestésico-cirúrgico

Os animais foram acompanhados na recuperação do procedimento anestésico-cirúrgico por 6 h (Figura 1C). Deambulação e a ingestão de alimentos foram os critérios considerados na recuperação. Após, retornaram para suas gaiolas e continuaram a receber água e ração *ad libitum* e foram mantidos nas condições ambientais já mencionadas permanecendo no biotério por 5 dias. Nesse dia, realizou-se eutanásia com campânula contendo o gás anestésico isoflurano (Forane[®] Abbvie) em altas concentrações. A seguir, foram colocados em decúbito ventral, e a mensuração das áreas cicatriciais com o paquímetro foi efetuada. O fragmento de pele em processo de cicatrização de cada incisão circular infiltrada no 1^o dia do experimento foi cuidadosamente retirado de cada animal utilizando lâmina de bisturi n^o 15 para incisar a pele e realizar a exérese do material. Em seguida, os espécimes foram acondicionados em frascos contendo solução de Bouin (ácido pícrico, formaldeído e ácido acético) por 48 h. Após este período os fragmentos foram transferidos para recipientes devidamente identificados e encaminhados ao laboratório de patologia experimental. O processo de reparo tecidual foi avaliado através de cortes histológicos corados com hematoxilina&eosina (H&E) e picrossirius.

Avaliação histopatológica por H&E

As amostras foram fixadas em solução de Bouin (ácido pícrico, formaldeído e ácido acético), e lavadas em PBS pH 7,4 por 2 h. Posteriormente, foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol (70-100%), diafanizadas em 2 banhos de xilol, por 1 h cada, incluídas e emblocadas em parafina. Posteriormente, os blocos foram cortados em micrótomo (Spencer 820) a 3 µm e depositados em lâminas carregadas positivamente (*Immunoslide, EasyPath[®]*). Em seguida, foram desparafinizados em xilol, reidratados em concentrações decrescentes de etanol (100-70%) e água destilada e, então, processados para coloração panocítica de H&E, em seguida desidratados em etanol, diafanizados com xilol e montados com *Entellan[®]* (Merk) e lamínula. As lâminas foram analisadas em 3 campos para angiogênese com a contagem dos vasos. Utilizando o *software ImageJ* foi mensurada a espessura da epiderme, que será a largura média entre derme e a camada de queratina da epiderme.

Os dados coletados foram registrados para cada grupo. A avaliação dos resultados microscópicos foi adaptada de esquema estabelecido por Myers et al.¹⁵, um sistema arbitrário para classificar cicatrização de feridas foi estabelecido, com base na reação inflamatória, proliferação fibroblástica e capilar, e maturação do colágeno, conforme observado em seções coradas com H&E (Figura 2). Os elementos celulares das feridas foram contados ou estimados com base no número por campo de alta potência, para obter valor de 0 a 4+. A quantidade de edema, necrose muscular e alterações semelhantes foram estimadas. Cada elemento histológico recebeu um fator negativo ou positivo, este último para características que indicavam a cicatrização da ferida. O valor de 0 a 4+ de cada elemento em cada seção foi multiplicado pelo fator negativo ou positivo; a soma desses valores foi considerada como a classificação da ferida. Por esse método, feridas completamente cicatrizadas deveriam ter classificação de 100.

Variáveis	Ausente (0)	Discreto (+1)	Moderado (+2)	Espessa (+3)	Acentuada (+4)	Fator	Total
Neutrófilos							-10
Eosinófilos							-4
Inflamação aguda							-4
Inflamação crônica							2
Reepitelização							5
Proliferação de fibroblastos							5
Proliferação vascular							5
Tecido de granulação							5
ESCORE TOTAL							

Fonte: Myers AH. *Histologic Grading of the Experimental Healing Wound*. *Archives of Surgery*. 1961 Nov 1;83(5):771.¹⁵

FIGURA 2 - Escores para caracterização do processo de cicatrização

As informações obtidas a partir da observação microscópica foram classificadas de acordo com a intensidade em que foram encontradas e transformadas em variáveis quantitativas para cada achado histológico, sendo assim classificados de acordo com a sua ocorrência/intensidade:

Proliferação vascular

Foi considerada ausente, quando não se evidenciou vasos no corte histológico; discreta, quando foram visíveis poucos vasos esparsamente situados, de forma isolada no contexto; moderada, quando apareceram com maior frequência e dispersos no campo óptico; e acentuada, quando evidenciados com grande frequência, dispostos em todo o contexto.

Células mononucleares

Foram classificadas em ausente, quando elas não foram visualizadas no campo óptico; discreta, quando evidenciadas de forma isolada, possibilitando distinguir áreas livres de infiltrado; moderada, quando apareceram com maior frequência, constituindo agregados densos, mas possibilitando visualizar áreas livres de infiltrado; e acentuada, quando foram evidenciadas com grande frequência, constituindo agregados densos e justapostos, sem áreas livres de infiltrados.

Células polimorfonucleares

Foram classificadas em ausentes, quando não foram visualizadas no campo óptico; discretas, quando foram visíveis esparsamente, de forma isolada, com muitas áreas livres de infiltrados; moderada, quando foram visíveis formando agregados, porém com áreas adjacentes livres de infiltrados; acentuada, quando apareceram com grande frequência, formando agregados densos, sem áreas livres de infiltrados.

Proliferação fibroblástica

Foram classificadas em ausente, quando não se evidenciou proliferação de fibroblastos; discreta, quando houve fibroblastos proliferados esparsos em meio ao tecido conjuntivo frouxo; moderada, quando em moderada quantidade, constituindo pequenos feixes celulares multidirecionados; e acentuada, quando houve grande quantidade de fibroblastos proliferados constituindo agregados compactos de células arranjadas multidirecionadas.

Síntese de colágeno

Classificou-se como ausente, quando não foram observadas fibras colágenas depositadas; discreta, quando a deposição deu-se em pequena quantidade, caracterizadas por fibras depositadas em meio aos fibroblastos proliferados; moderada, quando a deposição de colágeno formou feixes de fibras eosinofílicas,

espessas, intercaladas com áreas de tecido conjuntivo frouxo e fibroblastos proliferados; e acentuada, quando houve grande deposição de fibras colágenas, constituindo feixes de fibras eosinofílicas espessas, compactamente arrançadas em meio a fibroblastos proliferados e sem áreas de tecido conjuntivo frouxo.

Reepitelização

Classificou-se como ausente, quando não foi visível epitélio no campo óptico; discreto ou moderado, quando apareceu de forma incompleta ou parcial; acentuada, quando foi visível de forma total ou completa sobre o tecido conjuntivo.

Avaliação histopatológica por picrosirius

Concomitantemente, cortes sequenciais processados e submetidos à coloração para colágeno I e III. Resumidamente, os cortes foram colocados em *sirius red* 0,1% em solução saturada de ácido pícrico por 30 min, em seguida colocados em ácido acético 1% por 10 min, lavados em água destilada e corados por 1 min com hematoxilina de Harris. Posteriormente, foram diferenciados em ácido clorídrico 1% em etanol 70%, lavados em água corrente para alcalinização por 10 min, desidratados em etanol, diafanizados com xilol e montados com Entellan[®] (Merk) e lamínula.

As lâminas coradas foram analisadas ao microscópio de luz polarizada (Olympus BX40) a fim de mostrar a birrefringência das fibras colágenas, onde o colágeno I é observado na cor amarela e vermelha, o colágeno III na cor verde. A quantidade de cada colágeno foi avaliada com auxílio do *software ImageJ*, onde nas imagens dos 3 campos foi aplicado o limiar HSB "*Hue-Saturation-Balance*" que permitiu a contagem das áreas vermelhas, amarelos e verdes, possibilitando a observação da quantidade de cada um desses colágenos nas amostras em pixels (unidade de medida de uma imagem digital). Os dados obtidos foram analisados no *software* GraphPad Prism 6.0.

Análise estatística

Análise estatística da diferença das medidas das áreas cicatriciais, foram estudadas as variações do diâmetro da incisão circular em milímetros. Para isso, calculou-se as diferenças de medições entre os diâmetros das incisões circulares iniciais e finais. Em nenhum caso foi observada o aumento no diâmetro da incisão circular. A preparação dos dados foi realizada no MS Excel. Os gráficos de análises estatística foram realizados no *software* JMP versão 17 (SAS). O teste T foi realizado para avaliar possível variação entre as médias das incisões esquerdas e direitas. O teste de equivalência de variâncias (TOST) e o teste de Levene foram realizados para avaliar a homogeneidade das variâncias. O teste de ANOVA verificou se algum grupo teve médias diferença entre si. O teste de Dunnett foi utilizado para verificar se os grupos tiveram diferença entre o grupo controle. As análises foram realizadas para cada tipo de colágeno. Desta forma, 3 grupos foram averiguados: colágeno I, colágeno II colágeno III. O teste de Welch foi aplicado, para verificar se algum grupo teve diferença significativa. A significância adotada foi de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Todos os animais sobreviveram ao experimento e não foi evidenciado sinal de infecção nas feridas operatórias.

Análise do diâmetro das incisões circulares

Notou-se que todos os grupos apresentam algum tipo de evolução entre o diâmetro inicial e o final. O grupo C apresentou mediana de 0,2 mm, resultado similar ao grupo R. O grupo L apresentou mediana 0,3 mm, medida discretamente acima dos demais grupos (Figura 3).

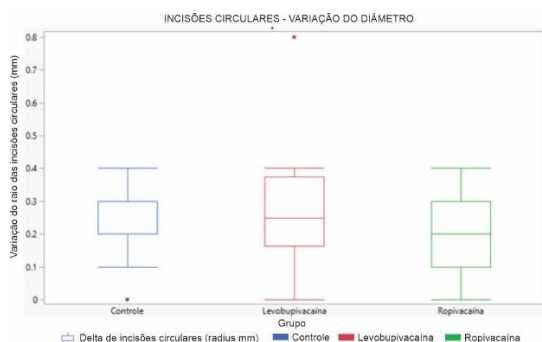


FIGURA 3 - Boxplot da variação do diâmetro das incisões circulares.

Não foram, portanto, verificados diferenças estatisticamente significativas entre as médias de reepitelização para os grupos L e R em relação ao grupo C.

Análise do processo inflamatório por H&E

Os dados visualizados foram aplicados na tabela de Meyers e col. (Tabela 1) em que cada coluna tem peso dentro da avaliação histológica, no que diz respeito às características da cicatrização tecidual.

CONTROLE							
Variáveis	Ausente (0)	Discreto (+1)	Moderado (+2)	Espessa (+3)	Acentuada (+4)	Fator	Total
Neutrófilos				x		-10	-7
Eosinófilos	x					-4	-4
Inflamação aguda		x				-4	-3
Inflamação crônica			x			2	4
Reepitelização		x				5	6
Proliferação de fibroblastos				x		5	8
Proliferação vascular				x		5	8
Tecido de granulação					x	5	9
ESCORE TOTAL							21
LEVOBUPICAÍNA							
Variáveis	Ausente (0)	Discreto (+1)	Moderado (+2)	Espessa (+3)	Acentuada (+4)	Fator	Total
Neutrófilos				x		-10	-7
Eosinófilos	x					-4	-4
Inflamação aguda		x				-4	-3
Inflamação crônica		x				2	3
Reepitelização			x			5	7
Proliferação de fibroblastos					x	5	9
Proliferação vascular					x	5	9
Tecido de granulação				x		5	8
ESCORE TOTAL							22
ROPIVACAÍNA							
Variáveis	Ausente (0)	Discreto (+1)	Moderado (+2)	Espessa (+3)	Acentuada (+4)	Fator	Total
Neutrófilos				x		-10	-7
Eosinófilos	x					-4	-4
Inflamação aguda		x				-4	-3
Inflamação crônica	x					2	2
Reepitelização			x			5	7
Proliferação de fibroblastos				x		5	8
Proliferação vascular				x		5	8
Tecido de granulação				x		5	8
ESCORE TOTAL							19

TABELA 1 - Escores para caracterização do processo de cicatrização (Myers et. al.1961)

Os resultados obtidos a partir da comparação dos efeitos da levobupivacaína (grupo L), ropivacaína (grupo R) e o grupo controle (grupo C) não demonstraram diferenças significativas em relação à reepitelização, proliferação de fibroblastos e proliferação vascular (Figura 4).

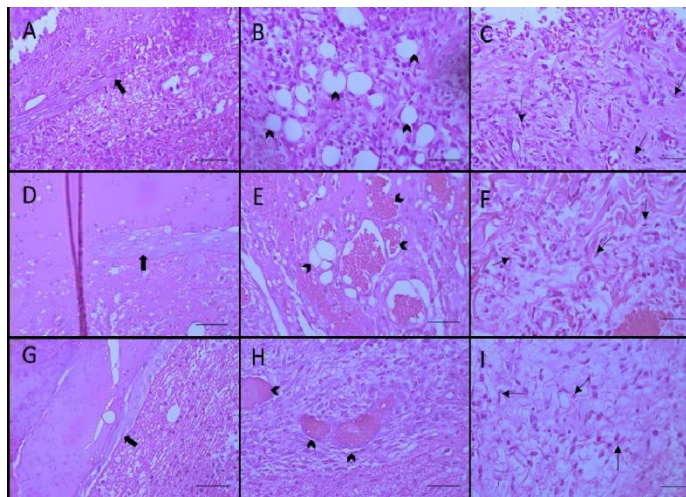


FIGURA 4 – Reepitelização, proliferação de fibroblastos e proliferação vascular: A, B, C) Controles; D, F) levobupivacaína; G, I) ropivacaína, reepitelização (seta larga), neovascularização (cabeça de seta), fibroblastos (seta fina) (50 μ m, H&E)

Análise da deposição do colágeno por picrosirius

As amostras do grupo L demonstraram deposição substancialmente maior de colágenos tipo I, II e III em comparação com os grupos C e R (Figura 5).

O grupo L apresentou média de produção tipo I seis vezes superior aos grupos C e R ($p < 0,0002$, Figura 6A); do tipo II, 12 vezes superior aos grupos C e R ($p < 0,0001$, Figura 6B); do tipo III, doze vezes superior em comparação com os grupos C e R ($p < 0,0002$, Figura 6C).

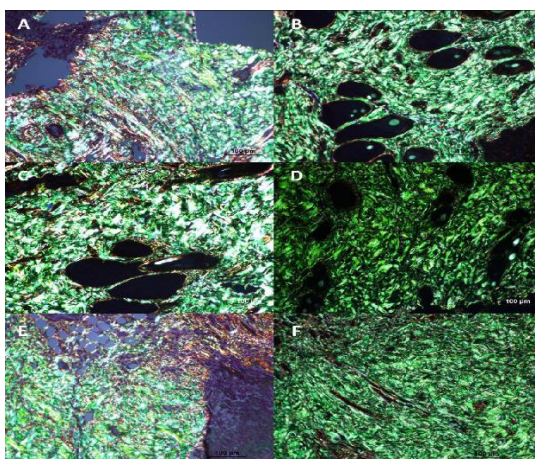


FIGURA 5 – Deposição de colágeno: A, B) Controles; C, D) levobupivacaína; E, F) ropivacaína, colágeno tipo I (amarela e vermelha), colágeno do tipo III (verde) (picrosirius, 100 µm)

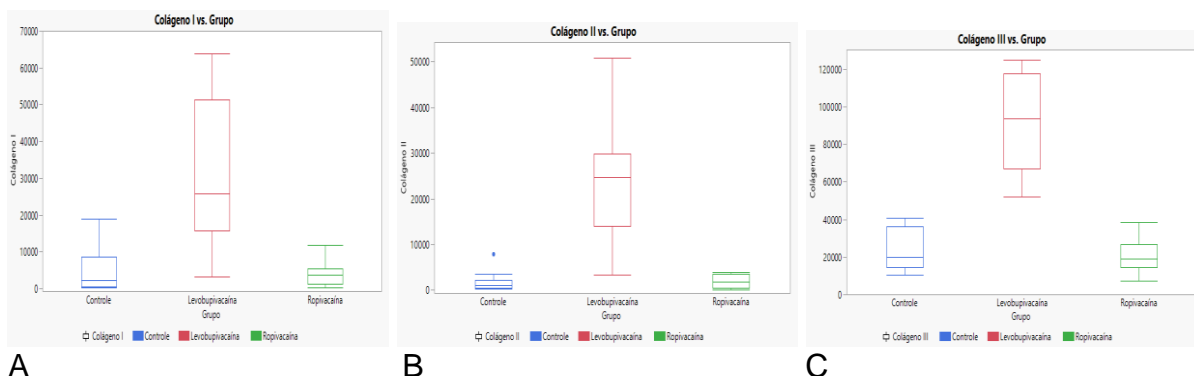


FIGURA 6 – Colágeno em pixels: A) tipo I; B) tipo II; c) tipo III

DISCUSSÃO

O modelo animal utilizado, ratos Wistar, provou ser eficaz para avaliar a influência dos anestésicos locais no processo de cicatrização de feridas. A ausência de infecções nas feridas operatórias e a sobrevivência de todos os animais reforçam a validade do modelo. No entanto, como apontado por análise prévia, as diferenças fisiológicas entre humanos e roedores devem ser consideradas quando se tenta extrapolar os resultados para aplicações clínicas.¹⁶

As principais etapas do processo de cicatrização de feridas, como a hemostasia, inflamação e angiogênese, são influenciadas pela matriz extracelular (ECM), pelo colágeno e seus compostos. Em resposta à lesão, o colágeno induz a ativação e agregação das plaquetas, resultando na deposição de um coágulo de fibrina no local da lesão. Na fase inflamatória da cicatrização de feridas, a ativação das células imunes estimula a secreção de citocinas pró-inflamatórias que influenciam a migração de fibroblastos, células epiteliais e endoteliais. Os fibroblastos contribuem para a deposição de colágeno. Simultaneamente, a degradação do colágeno libera fragmentos que promovem a proliferação de fibroblastos e a síntese de fatores de crescimento que levam à angiogênese e reepitelização.¹⁷

Os resultados indicaram que a infiltração de anestésicos locais na ferida operatória pode desempenhar papel no processo de reparo do tecido. O grupo tratado com levobupivacaína (grupo L) demonstrou deposição de colágenos mais acentuada em comparação aos demais grupos. Esses achados corroboram investigações anteriores que observaram a estimulação de fibroblastos e formação de tecido de granulação com o uso de anestésicos locais.¹⁸

Os dados gerados apontam que o anestésico local parece exercer influência significativa na cicatrização, conforme evidenciado pelo aumento da deposição de colágenos nos animais do grupo L. Este grupo apresentou deposição intensa de colágenos tipo I, II e III, indicativos de resposta robusta de cicatrização e reparação do tecido. No entanto, o grupo L também apresentou maior variabilidade, sugerindo resposta heterogênea ao anestésico local, que merece ser explorada em pesquisas

futuras. Tais descobertas revelam potenciais aplicações terapêuticas da levobupivacaína no controle da resposta inflamatória e cicatricial com o uso de anestésicos locais.

Estudo anterior fornece visão abrangente sobre o processo de reparação e regeneração com os efeitos dos anestésicos locais na cicatrização de feridas. Como já reconhecidos mecanismos celulares e moleculares envolvidos na cicatrização de feridas.¹⁹

Além disso, outra investigação aborda as propriedades anti-inflamatórias dos anestésicos locais e seu potencial para modular a resposta inflamatória durante a cicatrização de feridas. Essa pesquisa oferece percepções relevantes sobre a influência destes fármacos nessa cicatrização, e que fortalece os efeitos observados com o uso da levobupivacaína.²⁰

O grupo L mostrou níveis significativamente mais altos de colágenos tipo I, II e III, sugerindo cicatrização mais robusta. O papel dos diferentes tipos de colágeno na cicatrização de feridas foi documentado em pesquisa prévia, a qual mostrou que os colágenos tipo I e III são cruciais para a força da ferida e integridade estrutural.²¹ Além disso, vale destacar que o grupo L apresentou maior variabilidade nos resultados, o que sugere que a resposta ao anestésico local pode ser influenciada por fatores ainda não identificados, uma área que merece investigação futura.

CONCLUSÃO

Na análise da influência da ropivacaína e da levobupivacaína na fase inflamatória da cicatrização não se observou diferenças entre elas em relação às áreas cicatriciais, inflamação e neovascularização. Entretanto, verificou-se diferença estatística significativa na produção de colágenos, com intensidade de 6 a 12 vezes maior de colágenos tipos I, II e III no grupo levobupivacaína, levando à conclusão que ela pode exercer papel importante no processo cicatricial. Por outro lado, o grupo ropivacaína apresentou resultados similares ao grupo cloreto de sódio 0,9%. Portanto, este fármaco parece não interferir na cicatrização de feridas cirúrgicas.

REFERÊNCIAS

1. Kehlet H, Jensen TS, Woolf CJ. Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. *Lancet*. 2006;367(9522):1618-25.
2. Marhofer P, Columb M, Hopkins PM, Greher M, Marhofer D, Thallinger C, et al. Dose response of local anesthetic wound infiltration for postoperative analgesia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Anesthesiology*. 2009;110(1):132-40.
3. Thomas GJ, Bauman JC, Bergeron S, Wasvary HJ, Ziegler MA. Perioperative Lidocaine Infusion Reduces Opioid Use in Enhanced Recovery After Surgery Patients Undergoing Laparoscopic Colectomy. *The American Surgeon*. 2023;89(11):4806-4810. doi:10.1177/00031348221135785
4. Hootsmans, N., Parmiter, S., Connors, K. et al. Outcomes of an enhanced recovery after surgery (ERAS) program to limit perioperative opioid use in outpatient minimally invasive GI and hernia surgeries. *Surg Endosc* 37, 7192–7198 (2023).
5. Stamenkovic DM, Bezmarevic M, Bojic S, Unic-Stojanovic D, Stojkovic D, Slavkovic DZ, Bancevic V, Maric N, Karanikolas M. Updates on Wound Infiltration Use for Postoperative Pain Management: A Narrative Review. *J Clin Med*. 2021 Oct 11;10(20):4659.
6. Gerbershagen HJ, Aduckathil S, van Wijck AJ, Peelen LM, Kalkman CJ, Meissner W. Pain intensity on the first day after surgery: a prospective cohort study comparing 179 surgical procedures. *Anesthesiology*. 2013;118(4):934-44.
7. Hollmann MW, Durieux ME. Local anesthetics and the inflammatory response: a new therapeutic indication? *Anesthesiology*. 2000;93(3):858-75.
8. Pogatzki-Zahn EM, Segelcke D, Schug SA. Postoperative pain-from mechanisms to treatment. *Pain Rep*. 2017;2(2):e588.
9. Horizumi Y, Goto S, Takatsuka M, Yokoyama H. Effects of Local Anesthetics on Liposomal Membranes Determined by Their Inhibitory Activity of Lipid Peroxidation. *Mol Pharm*. 2023 Jun 5;20(6):2911-2918.

10. Bai, J. W., An, D., Perlas, A., & Chan, V. (2020). Adjuncts to local anesthetic wound infiltration for postoperative analgesia: a systematic review. *Regional Anesthesia & Pain Medicine*, rapm–2020–101593. doi:10.1136/rapm-2020-101593
11. Kim JT, Kim HJ, Cho YJ, Cho MK, Lee JY, Lee SH, et al. Local anesthetics and adjuvants in wound healing: beyond the analgesic effect. *J Wound Care*. 2019;28(8):516-23.
12. Steyaert A, Burssens P, Forsyth R, Vanderstraeten G, Vermeersch H, De Cock D, et al. Local anesthetics improve tendon healing after Achilles tendon injury in a rat model. *Acta Orthop*. 2018;89(6):640-5.
13. Becker DE, Reed KL. Local anesthetics: review of pharmacological considerations. *Anesth Prog*. 2012;59(2):90-101; quiz 102-3.
14. Cucchiaro G, Ganesh A. Local anesthetics in pediatric regional anesthesia. *Paediatr Anaesth*. 2015;25(1):10-9.
15. Myers AH. Histologic Grading of the Experimental Healing Wound. *Archives of Surgery*. 1961 Nov 1;83(5):771.
16. Abdullahi A, Amini-Nik S, Jeschke MG. Animal models in burn research. *Cell Mol Life Sci*. 2014 Sep;71(17):3241-55. doi: 10.1007/s00018-014-1612-5. Epub 2014 Apr 9.
17. Mathew-Steiner SS, Roy S, Sen CK. Collagen in Wound Healing. *Bioengineering (Basel)*. 2021 May 11;8(5):63. doi: 10.3390/bioengineering8050063. PMID: 34064689; PMCID: PMC8151502.
18. Abrão J, Fernandes CR, White PF, et al. "Effect of local anesthetic infiltration with bupivacaine and ropivacaine on wound healing: a placebo-controlled study" *Int Wound J*. 2014;11(4):379-85.
19. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008;453(7193):314-21.
20. Cassuto J, Sinclair R, Bonderovic M. Anti-inflammatory properties of local anesthetics and their present and potential clinical implications. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2006;50(3):265-82.
21. Smith J, Grande D. Animal models in tissue engineering. *Tissue Eng*. 2000;6(2):183-195.

Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que os dados, aplicativos e outros conteúdos subjacentes ao manuscrito estão referenciados.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa, quando aplicável, estão descritas no manuscrito.
- Os autores declaram que uma vez que um manuscrito é postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo só poderá ser retirado mediante pedido à Secretaria Editorial do SciELO Preprints, que afixará um aviso de retratação no seu lugar.
- Os autores concordam que o manuscrito aprovado será disponibilizado sob licença [Creative Commons CC-BY](#).
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores e declaração de conflito de interesses estão incluídas de maneira explícita e em seções específicas do manuscrito.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.
- O autor submissor declara que todos os autores do manuscrito concordam com a submissão ao SciELO Preprints.