

ARTIGO ORIGINAL

Análise da metodologia de aceleração cicatricial MAC® com uso da própolis e azul de toluidina na cicatrização de úlceras de membros inferiores

Analysis of the MAC® healing acceleration methodology with the use of propolis and toluidine blue in the healing of lower limb ulcers

Carolina Gonçalves Pinheiro^{a,b}; Marcus Vinicius de Mello Pinto^{c,d}; Miriam Viviane Baron^{e,f}; Aline Ronis Sampaio^c; Esteban Fortuny^g; Otácio Pereira Gomes^b; Vitória Freitas da Silva^b; José Geraldo de Alencar Santos Júnior^b; João Antônio Correa^a



^aCentro Universitário FMABC, Santo André, São Paulo, Brazil;

^bCentro Universitário Vale do Salgado, Icó, Ceará, Brazil;

^cCelulare Institute, Rio de Janeiro, Brazil;

^dCriador da Metodologia de Aceleração Cicatricial MAC®;

^eGraduate Program in Medicine and Health Sciences, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil;

^fInstituto Interdisciplinar de Educação Ciência e Saúde, Fortaleza, Ceará, Brazil;

^gUniversidad Finis Terrae e Diagnosra, Santiago, Chile.

Autor correspondente
carolgpineiro@hotmail.com

Manuscrito recebido: maio 2024
Manuscrito aceito: junho 2024
Versão online: julho 2024

Resumo

Introdução: a Terapia Fotodinâmica tem sido uma importante aliada no reparo tecidual, com efeitos positivos no tratamento de feridas e infecções.

Objetivo: analisar os efeitos da Metodologia de Aceleração Cicatricial (MAC®) com uso da própolis e azul de toluidina em úlceras de membros inferiores.

Método: estudo unicêntrico, experimental, randomizado e controlado. Realizado entre abril de 2021 e maio de 2022 no ambulatório da clínica escola em uma capital brasileira. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em uma proporção de 1:1 para receber a terapia fotodinâmica (grupo experimental), ou apenas curativo convencional (grupo controle). Foram incluídos pacientes com idade superior a 18 anos com diagnóstico de úlceras de membros inferiores. Dez pacientes compuseram o grupo experimental e 10 o grupo controle. Os pacientes foram atendidos três vezes na semana e acompanhados por dois meses. O desfecho primário foi a avaliação do progresso de cicatrização e o secundário, a análise microscópica de esfregaço da ferida quanto a presença de células e micro-organismos.

Resultados: no grupo experimental duas feridas não cicatrizaram completamente enquanto no grupo controle nenhuma das 10 feridas cicatrizou completamente durante o acompanhamento de 60 dias. No grupo experimental 90% dos pacientes não apresentavam bactérias e fungos ao final de 30 dias versus 40% do grupo controle.

Conclusão: o presente estudo mostrou que a terapia fotodinâmica é um potencial tratamento eficaz no processo de cicatrização de úlceras de membros inferiores. Isto pode impactar em redução de custos e qualidade de vida. Estudos maiores e bem desenhados são necessários para corroborar os achados do presente estudo.

Palavras-chave: feridas, infecção da ferida, regeneração, cicatrização, fototerapia.

Suggested citation: Pinheiro CG, Pinto MVM, Baron MV, Sampaio AR, Fortuny E, Gomes OP, Silva VF, Júnior JGAS, Correa JA. Analysis of the MAC® healing acceleration methodology with the use of propolis and toluidine blue in the healing of lower limb ulcers. *J Hum Growth Dev.* 2024; 34(2):305-314. DOI: <http://doi.org/10.36311/jhgd.v34.15499>

Síntese dos autores

Por que este estudo foi feito?

As úlceras crônicas de perna são um problema global significativo e feridas difíceis de cicatrizar. O tempo de tratamento geralmente é longo e às vezes requer vários anos, levando a muitas complicações, como deformidades articulares, limitação de sua mobilidade, ou mesmo incapacidade permanente, impactando negativamente a qualidade de vida. Esse estudo demonstrou um tempo de cicatrização curto (até 60 dias) com o tratamento envolvendo Terapia Fotodinâmica.

O que os pesquisadores fizeram e encontraram?

Em nosso estudo (estudo unicêntrico, experimental, randomizado e controlado) investigamos analisar os efeitos da Metodologia de Aceleração Cicatricial (MAC®) com uso da própolis e azul de toluidina em úlceras de membros inferiores, que concluímos que a Terapia Fotodinâmica é um potencial tratamento eficaz no processo de cicatrização de úlceras de membros inferiores.

O que essas descobertas significam?

Essa terapêutica pode impactar em redução de custos e oferecer uma melhor qualidade de vida para os portadores de úlceras de membros inferiores, devido a redução no tempo de cicatrização.

Hisghlights

Após o acompanhamento de 60 dias, o grupo controle houve redução no tamanho da lesão de 6 a 60%, porém não houve cicatrização completa, enquanto no grupo experimental 80% da amostra cicatrizou completamente a úlcera de membro inferior.

O presente estudo mostrou que a TFD (LED azul com comprimento de onda 470nm associado a pomada de própolis 10% + azul de toluidina), potencializou a cicatrização de úlceras de membros inferiores em período curto (até 60 dias).

Em nosso estudo observamos a presença de bactérias e fungos nas lesões antes do início do tratamento. Fator que contribui para o retardo da cicatrização. Assim, terapias que contribuem no controle microbiológico podem reduzir o tempo de cicatrização.

INTRODUÇÃO

Feridas crônicas se caracterizam por interrupção na continuidade da pele, em maior ou menor extensão, de longa duração ou de reincidência frequente, que não cicatrizam no intervalo de tempo de até 3 meses. Uma desorganização celular e molecular contribui para a ausência de cicatrização. Sua etiologia está associada a fatores como: diabetes, neuropatias, doença venosa crônica, doença arterial periférica, hipertensão arterial, trauma físico, anemia falciforme, infecções cutâneas, doenças inflamatórias, neoplasias e alterações nutricionais¹⁻³.

A prevalência de úlceras crônicas de perna na população geral é estimada em 1,5 por 1.000 pessoas⁴. As feridas crônicas, especialmente as úlceras diabéticas, precedem a 85% das amputações. A taxa de mortalidade em cinco anos após o desenvolvimento de uma úlcera diabética é de aproximadamente 40%⁵. Apesar de não haver estimativa exata, refere-se que, neste milênio, no Brasil, 3% da população poderá ser afetada com úlceras crônicas⁶.

Pesquisas tem mostrado a Terapia Fotodinâmica (TFD) como uma importante aliada no reparo tecidual⁷⁻¹¹. A TFD quando usada em conjunto com fotossensibilizadores mostrou efeitos positivos no tratamento de feridas, infecções e pós-operatório de cirurgia estética¹²⁻¹⁴. Assim, o fotossensibilizador – comumente azul de metileno ou azul de toluidina, ativado por uma fonte de luz (laser ou LED - Diodo Emissores de Luz), com comprimento de onda apropriado, gera espécies reativas de oxigênio (ROS), como o oxigênio singlete e superóxidos. Os produtos resultantes desta interação são citotóxicos para a célula alvo, levando à morte do micro-organismo por causarem desordens na parede celular¹⁵. A TFD empregando LED pode aumentar a produção de Adenosina Trifosfato (ATP) nas mitocôndrias, importante para o processo de cicatrização¹⁶.

O MAC® é um método que consta de um dispositivo de TFD que apresenta vantagens com relação aos dispositivos convencionais de laser/LED. O MAC® se sobressai a outras formas de aplicação da TFD, por reunir as melhores ferramentas na sua utilização, além

de reunir um melhor vetor para uma maior penetração medicamentosa, a partir da curva espaço tempo. Quando utiliza-se a fototerapia baseada no MAC® é necessário avaliar o sistema emissor de luz, para que a partir das dobras de espaço e tempo seja garantido, visando melhor resultado terapêutico¹¹.

Por outro lado, estudos com o emprego da própolis no tratamento de feridas de difícil cicatrização tem avançado nas últimas décadas. Isto se deve principalmente por se tratar de um produto de fácil acesso, disponibilidade e baixo custo. E, os resultados mostram efeitos benéficos de ação antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e de angiogênese, otimizando a cicatrização das feridas crônicas¹⁷. Diante do exposto levantou-se a seguinte questão de pesquisa: É possível potencializar o processo de cicatrização de feridas crônicas com o uso da TFD combinada ao uso da própolis e azul de toluidina? Para responder a esta questão o objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos da TFD combinada ao uso da própolis e azul de toluidina em úlceras de membros inferiores.

MÉTODO

Desenho do estudo

Trata-se de um estudo unicêntrico, experimental, randomizado e controlado, realizado no ambulatório da clínica escola do Centro Universitário Vale do Salgado, Ceará, Brasil. A presente pesquisa seguiu a resolução N° 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Unileão sob parecer N° 3.376.125.

Configurações e participantes

O estudo foi realizado entre abril de 2021 e maio de 2022, no ambulatório da clínica escola do Centro Universitário Vale do Salgado que atende pacientes com diagnóstico de úlceras de membros inferiores. Os pacientes foram distribuídos aleatoriamente em uma proporção de 1:1 para receber a terapia fotodinâmica (grupo experimental - GE), ou apenas curativo convencional (grupo controle - GC).

Critérios de elegibilidade

Foram incluídos no estudo pacientes com idade igual ou superior a 18 anos, que frequentam o ambulatório da clínica escola, com diagnóstico de úlceras de membros inferiores de qualquer etiologia. Os pacientes foram informados sobre o estudo e, em seguida, receberam e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para assinatura e participação na pesquisa. Os pacientes eram inelegíveis em caso de gravidez e comprometimento arterial.

Randomização e alocação

Este foi um estudo experimental, randomizado, de 2 grupos com uma alocação de intervenção de 1:1. Foi composto por uma amostra de conveniência. A sequência de randomização foi gerada por um pesquisador que não teve participação na pesquisa. A lista de randomização foi gerada por computador, que atribuiu sequencialmente os pacientes ao GC ou GE. Um pesquisador preparou envelopes selados, opacos e numerados contendo a alocação do grupo. Quando cada paciente era inscrito no estudo, o investigador abria o envelope com o menor número para definir o grupo.

Cegamento

As avaliações das imagens (fotografias) e análise microscópica das lâminas foi realizada por avaliador que não participou da pesquisa e desconhecia a alocação dos grupos. Códigos foram atribuídos às imagens e lâminas e as informações de identificação do paciente foram removidas. Os pacientes foram cegados com relação ao grupo de participação.

Grupo controle

Os pacientes receberam atendimento pela tarde com horário previamente agendado. A avaliação, incluindo anamnese e exame físico foi realizada antes de iniciar a primeira sessão. Foram coletados dados sócio-demográficos, clínicos e relacionados a história da ferida. E foi coletado swab por intermédio de esfregaço da ferida.

O material coletado foi depositado em uma lâmina de vidro e armazenada em tubetes de borel com álcool etílico 95%. Os tubetes foram identificados com o código correspondente a cada paciente e data da coleta do material biológico. Na análise microscópica foram empregados o kit papanicolau, EA-36, Orange G6 e Hematoxilina de Harris. As lâminas foram observadas quanto a presença de micro-organismos patogênicos.

O GC recebeu curativos convencionais no ambulatório de prevenção e tratamento de feridas por enfermeiras da clínica escola. Foi realizada limpeza da ferida com soro fisiológico em temperatura ambiente, perfurado com agulha 25 x 0,70 mm. O jato era disparado a uma distância de 10 a 15 centímetros da ferida. Após foi realizado a limpeza com clorexidina a 2% seguido da aplicação de pomada (conforme prescrição do médico assistente) e cobertura com gaze estéril, atadura e esparadrapo.

Os participantes foram atendidos 3 vezes por semana e acompanhados por um período de 60 dias. Nos

dias intervalados aos dias de atendimento, os participantes foram orientados a lavar a ferida com soro fisiológico e cobrir com curativo de gaze estéril.

Grupo experimental

Os pacientes receberam atendimento sempre pela manhã com horário previamente agendado. A avaliação, incluindo anamnese e exame físico foi realizada antes de iniciar a primeira sessão. Foram coletados dados sócio-demográficos, clínicos e relacionados a história da ferida. E foi coletado swab por intermédio de esfregaço da ferida.

O material coletado foi depositado em uma lâmina de vidro e armazenada em tubetes de borel com álcool etílico 95%. Os tubetes foram identificados com o código correspondente a cada paciente e data da coleta do material biológico. Na análise microscópica foram empregados o kit papanicolau, EA-36, Orange G6 e Hematoxilina de Harris. As lâminas foram observadas quanto a presença de micro-organismos patogênicos.

Os participantes do GE foram avaliados por meio de teste de sensibilidade (própolis + azul de toluidina) antes do início do tratamento. O teste de sensibilidade foi realizado na pele íntegra no antebraço direito dos participantes. Nenhuma irritação ou aspecto de reação alérgica foi observada no GE.

Antes da aplicação da fototerapia era realizada limpeza da ferida com soro fisiológico em temperatura ambiente, perfurado com agulha 25 x 0,70 mm. O jato era disparado a uma distância de 10 a 15 centímetros da ferida. Após foi realizado a limpeza com clorexidina a 2%. Após, a ferida foi coberta com uma fina camada de pomada a base de própolis a 10% e azul de toluidina a 1%.

Em seguida foi aplicada a LED azul 470nm (o cluster possui 3 emissores de LED azul de 470nm e 1200mW de potência) com o dispositivo MAC reparo tecidual (figura 1). O cluster ficava a uma distância de 2 cm da ferida, e a LED foi empregada no modo varredura. O tempo de aplicação foi calculado de acordo com a área da ferida entregando 20 segundos de radiação por centímetro quadrado. Ao final a ferida era coberta com gaze estéril, atadura e esparadrapo.

Os participantes foram atendidos 3 vezes por semana até a cicatrização completa da ferida ou finalização do período de estudo. Nos dias intervalados aos dias de atendimento, os participantes foram orientados a lavar a ferida com soro fisiológico e cobrir com curativo de gaze estéril.

Este protocolo foi baseado no Método de Aceleração Cicatricial (MAC[®]) que propõe Identificar, Observar, Avaliar e Interpretar, para que seja possível realizar a terapêutica adequada no reparo tecidual por intermédio de fototerapia associado a fotofármaco (figura 1).

Avaliação do Progresso de cicatrização da ferida

Foi empregado o paquímetro digital para mensurar o progresso de cicatrização das feridas semanalmente. Imagens fotográficas das feridas durante a medida com o paquímetro foram coletadas semanalmente com uma câmera digital de smartphone da marca Xiaomi



Figura 1: Aplicação da pomada de própolis a 10% associada com azul de toluidina a 1% seguido da aplicação do LED. FONTE: Pinheiro et al., 2024.

Redmi Note 8 (Hebei, China) de 48 megapixels. Todos os participantes assinaram o termo de autorização de imagem. As imagens foram realizadas sempre em um mesmo local, com boa iluminação e fundo com superfície lisa e uniforme, conforme orientação de pesquisadores¹⁸.

Análise microscópica

Foram analisadas as características das células do material coletado por meio de esfregaço do leito da ferida. As lâminas preparadas foram analisadas no microscópio da marca OPTON® (São Paulo, Brasil). As lâminas foram avaliadas por biomédico experiente e cegado que não tinha conhecimento com relação aos grupos de estudo. A análise microbiológica avaliou a presença de células e micro-organismos. O material foi descrito de forma qualitativa e semi-quantitativa.

Análise estatística

As variáveis contínuas são descritas por meio de média e desvio padrão. As variáveis categóricas são apresentadas como valores absolutos e percentuais. Nas características de seguimento, as comparações entre os grupos foram calculadas por meio do teste Qui-quadrado

de Pearson. Foi adotado um nível de significância de $\alpha < 0,05$ nos testes estatísticos, sendo os resultados considerados estatisticamente significantes. Os dados do estudo foram coletados em planilha do Excel e exportados para o Statistical Package for the Social Science (SPSS), versão 23.0 para Windows para análise.

Os resultados obtidos das lâminas foram classificados de acordo com as características de células e micro-organismos presentes, descritos de forma qualitativa e semi-quantitativa. As fotos foram analisadas avaliando o aspecto da ferida, quanto a coloração, bordas e pele perilesional, bem como as medidas de altura e largura, para cálculo de área quadrada.

RESULTADOS

População do estudo

Durante o período do estudo, 23 pacientes foram avaliados para seleção e, destes, 20 foram randomizados. 3 participantes desistiram após a avaliação. Assim, o estudo contou com 10 pacientes no GE e 10 no GC. A tabela 1 mostra as características sócio-demográficos de base dos pacientes.

Tabela 1: Características de linha de base

Características da amostra	GRUPO			
	GE (n = 10)		CG (n = 10)	
IDADE, ANOS				
Média	63		51,3	
Mínima	46		22	
Máxima	83		80	
SEXO, n (%)				
Feminino	4	40%	4	40%
Masculino	6	60%	6	60%

Tabela 1: Características de linha de base

Características da amostra	GRUPO			
	GE (n = 10)		CG (n = 10)	
RAÇA, n (%)				
Caucasianos	10	100%	10	100%
COMORBIDADES, n (%)				
Hipertensão	2	20%	3	30%
Diabetes	2	20%	4	40%
ESCOLARIDADE, n (%)				
Não Alfabetizado	2	20%	2	20%
Ensino Fundamental	5	50%	7	70%
Ensino Médio	3	30%	1	10%
RENDA, n (%)				
1 Salário-Mínimo	6	60%	8	80%
2 Salários-Mínimos	3	30%	1	10%
Mais de 2 Salários-Mínimos	1	10%	1	10%

Do GE um paciente possuía a ferida aberta há mais de 36 meses, os demais possuíam as feridas abertas sem cicatrização em período de 3 meses. Do GC dois indivíduos possuíam a ferida aberta a mais de 24 meses e o restante em período de 3 meses sem cicatrização.

A tabela 2 mostra as características das feridas avaliadas.

Outra variável analisada foi a pele ao redor da ferida, na qual, os pacientes GE apresentaram, 5 com aspecto e cor vermelha, indicativo de processo inflamatório e/ou infeccioso; 2 com dermatite ocre, indicativo de ferida venosa, e apenas 3 com coloração e aspecto normal. Já os pacientes do GC, 2 apresentaram a pele com edema, 4 com aspecto normal, 3 com pele ao redor da ferida de aspecto

e coloração vermelha e somente um com dermatite ocre. Sete indivíduos do GE, apresentam temperatura normal e 3 com temperatura quente, resultado semelhante no GC, a maioria também apresentou temperatura normal.

Vale ressaltar que, todos apresentaram fissuras ou rachaduras em membros inferiores e pulsos poplíteo e pedioso presentes.

Progresso de cicatrização da ferida

No GE duas feridas não cicatrizaram completamente enquanto no GC nenhuma das 10 feridas cicatrizou completamente ($P = 0.000$) durante o acompanhamento de 60 dias. A tabela 3 mostra a ocorrência de cicatrização e a comparação entre os grupos.

Tabela 2: Características da ferida

	GRUPO			
	GE		CG	
COR DA FERIDA, n (%)				
Amarelada	5	50%	2	20%
Rosada	0	0	2	20%
Vermelha	5	50%	6	60%
ODOR, n (%)				
Sim	7	70%	8	80%
Não	3	30%	2	20%
PRESENÇA DE EXSUDATO, n (%)				
Sim	10	100%	10	100%
Não	0	0	0	0
TIPO DE EXSUDATO, n (%)				
Seroso	8	80%	7	70%
Seroso/sanguinolento	1	10%	2	20%
Purulento	1	10%	1	10%

Tabela 3: Ocorrência de cicatrização e a comparação entre os grupos

GRUPOS	SIM	CICATRIZAÇÃO		P
		SIM	NÃO	
GRUPOS	GE	8 80%	2 20%	0,000
	CC	0 0%	10 100%	



Figura 2: mostra as imagens e o processo de cicatrização dos pacientes do GE. Figura 2 - Imagens de cicatrização dos pacientes do GE; A – Ferida 3 paciente GE 1; B – Ferida paciente GE 10; C – Ferida paciente GE 4; D – Ferida paciente GE 5.

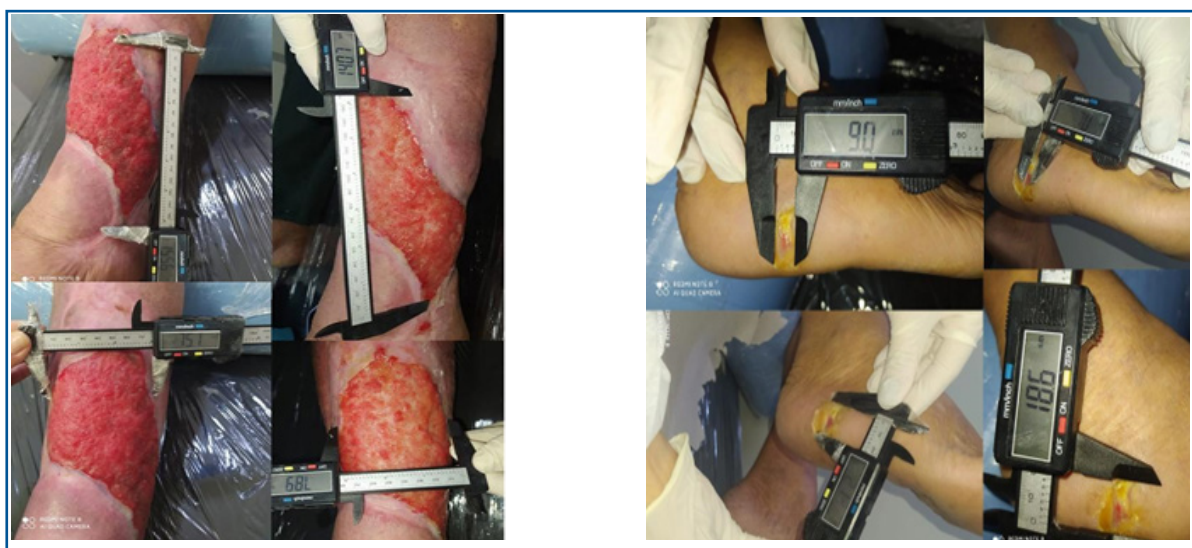


Figura 3: mostra as imagens e o processo de cicatrização dos pacientes do GC. Figura 3 - Imagens de cicatrização dos pacientes do GC; A – Ferida paciente GC 1; B – Ferida paciente GC 3

Análise microscópica

Dentre as características microbiológicas presentes nas feridas, houve um predomínio de presença de bactérias e fungos, estruturas leveduriformes e células epiteliais.

No GE em todos os participantes foi detectada a presença de bactérias e em três feridas acompanhadas de estruturas leveduriformes, indicativo de fungos. Após 30 dias, foi coletado e analisado novamente o esfregaço em lâmina e apenas uma ferida do GE foram detectadas bactérias (dados não apresentados).

No GC houve presença de bactérias em sete feridas e três possuíam estruturas leveduriformes. Após 30 dias a análise microbiológica mostrou presença de bactérias em quatro indivíduos e fungos em dois indivíduos. Todos apresentaram micro-organismos em menor número (dados não apresentados).

Outra característica detectada foi a presença de filamentos de muco, presente antes e após os 30 dias de tratamento em ambos os grupos, indicativo de exsudato. Foi detectado células epiteliais após 30 dias de tratamento em seis indivíduos do GE e dois do GC.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que a TFD combinada ao uso da própolis e azul de toluidina parece potencializar o processo de cicatrização de úlceras de membros inferiores. Contudo, duas feridas no GE não estavam totalmente cicatrizadas ao final de 60 dias de acompanhamento.

No GE duas feridas não cicatrizaram completamente enquanto no GC nenhuma das 10 feridas cicatrizou completamente durante o acompanhamento de 60 dias. Isso indica que novas ferramentas e métodos que potencializem o processo de cicatrização são necessários.

A cicatrização é um processo complexo, com alterações vasculares e celulares, mecanismos de proliferação celular, síntese e deposição de colágeno, produção de elastina e revascularização, até a contração da ferida¹⁹. Assim, a utilização da fototerapia em associação com um fotossensibilizador, auxilia no processo de cicatrização.

Em casos de perda de integridade da pele, vários processos devem ser realizados para restaurar a pele às suas funções normais. O processo de cicatrização envolve uma série de interações complexas entre diferentes tipos de células, fatores de crescimento, quimiocinas e citoquinas, enzimas e componentes da MEC. O processo de fechamento da ferida envolve várias etapas que são acionadas por moléculas vasoativas que produzem um efeito dominó de vários sinais autócrinos, parácrinos e endócrinos¹³.

As úlceras crônicas de perna são um problema global significativo e feridas difíceis de cicatrizar. O tempo de tratamento geralmente é longo e às vezes requer vários anos, levando a muitas complicações, como deformidades articulares, limitação de sua mobilidade, ou mesmo incapacidade permanente, impactando negativamente a qualidade de vida^{10,19}.

Quando se utiliza a fototerapia baseada no método MAC[®], é necessário avaliar o sistema emissor de luz, a propriedade do campo elétrico da matéria por onde esta

luz se propaga, para avaliar o tempo das dobras no espaço-tempo, visando o resultado terapêutico. Isso se deve ao fato de o método utilizar óticas não convencionais no uso de lasers e LEDs. Quando o tempo de emissão do fóton é dobrado, a célula responde porque o estímulo é mantido sem alterar a velocidade de densidade de potência de pico, sem declínio ou bioinibição¹¹.

A terapia fotodinâmica almeja eliminar os micro-organismos que persistem ao preparo químico-mecânico, e baseia-se na interação entre um fotossensibilizador, uma fonte de luz e o oxigênio, sendo o fotossensibilizador e sua concentração; e a fonte de luz, seu comprimento de onda e potência os fatores que mais podem variar, afetando o resultado. O seu mecanismo de ação ocorre pela administração de um fotossensibilizador, que é irradiado por uma fonte de luz visível. A absorção da luz excita o fotossensibilizador que, na presença de oxigênio gera substâncias tóxicas para as células bacterianas⁹. A fonte de luz transfere energia para o agente fotossensibilizante, e reage com substratos intracelulares, formando radicais livres, os quais, interagem com o oxigênio molecular para formar espécies reativas de oxigênio e destruição da parede microbiana²⁰.

Em um estudo com terapia fotodinâmica para o tratamento de úlceras de perna infectadas, com 20 pacientes, alocados em dois grupos. O primeiro grupo recebeu terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico (ALA-PDT) (10 pacientes), e o segundo grupo de 10 pacientes recebeu dicloridrato de octenidina local (gel de octenilina) exposto a uma fonte de luz placebo com um filtro inserido que imitava a luz vermelha. No grupo ALA-PDT, a remissão completa (RC) foi obtida em quatro pacientes (40%), resposta parcial (>50% de redução no diâmetro da úlcera) em quatro pacientes (40%) e nenhuma resposta em dois pacientes (20%) que também desenvolveram deterioração da condição local com edema, eritema e inflamação¹⁰.

Na presente pesquisa, foram detectadas a presença de bactérias em diversas feridas. Embora não tenha sido analisado o tipo de bactéria presente, foi possível evidenciar ausência ou redução de sua presença com o uso da TFD. Assim, terapias que consigam realizar controle microbiológico podem sugerir redução no tempo de cicatrização. Esses resultados confirmam a observação de outros autores sobre o potencial da TFD como uma alternativa aos antibióticos²¹.

Pesquisadores observaram redução da carga bacteriana das feridas crônicas ou infectadas em que 66,6% com o uso da TFD. Além disso, observaram que a TFD é um método que não ocasiona resistência aos micro-organismos e possui ação específica nos tecidos desvitalizados, sem danificar as células saudáveis⁸.

A própolis é utilizada pelas abelhas contra a proliferação de micro-organismos e apresenta várias outras propriedades bioativas, como a ação antiviral, anti-inflamatória, antioxidante e antiparasitárias, algumas atividades imunomoduladoras, como ativação de macrófagos e aumento das respostas imunes humoral e celular²². Um importante fator que contribui positivamente para a cicatrização é a ação antimicrobiana frente a vários agentes etiológicos, por exemplo, bactérias Gram positivas como *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e

Gram negativas *Escherichia coli* e leveduras, sobretudo *Candida albicans*²³.

A propriedade cicatrizante da própolis, assim como várias outras propriedades biológicas, está relacionada com flavonoides e ácidos fenólicos. A atividade anti-inflamatória observada na própolis parece ser devida à presença de flavonoides, especialmente galangina, que apresenta atividade inibitória contra a COX e lipoxigenase. Tem sido relatado também que o CAPE, possui atividade anti-inflamatória por inibir a liberação de ácido araquidônico da membrana celular, suprimindo as atividades das enzimas COX-1 e COX-2, além de inibir a síntese das prostaglandinas, ativar a glândula timo, auxiliando o sistema imune pela promoção da atividade fagocítica e estimulando a imunidade celular²⁴.

Na respiração celular, nas cristas mitocondriais, as dobras espaço/tempo feitas pela metodologia MAC[®] aceleram o transporte de elétrons, acelerando conseqüentemente, o processo de produção de espécies reativas de oxigênio, assim, mais oxigênio singleto é produzido. Isso se deve ao fato de o método utilizar óticas não convencionais no uso de lasers e LEDs. Quando o tempo de emissão do fóton é dobrado, a célula responde porque o estímulo é mantido sem alterar a velocidade de densidade de potência de pico, sem declínio ou bioinibição¹¹.

Pesquisadores realizaram uma pesquisa em ceratite bacteriana induzida em coelhos, demonstrando eficácia antibacteriana *in vivo* contra *S. aureus* no grupo que recebeu o tratamento de azul de toluidina com luz vermelha¹². O azul de toluidina tem sido utilizado em conjunto com o LED proporcionando efeito fotodinâmico de quimioterapia antimicrobiana, a fim de inibir a viabilidade de biofilmes produzidos por bactérias e fungos²⁵. O azul de toluidina fotoexcitado é amplamente utilizado como bactericida²⁶.

Para que aconteça a cicatrização é necessário, ausência de infecção; estimulação dos mecanismos de reparo para promover a migração e adesão celular, melhora da resistência à tração da pele, da elasticidade e das propriedades hidratantes da pele. Além de ação anti-inflamatória, antisséptica e antimicrobiana, e adequada nutrição para completar o fechamento da ferida¹³.

As limitações do presente estudo estão relacionadas ao pequeno número da amostra. Além disso, foi realizado em centro único, portanto os resultados não podem ser generalizados para diferentes pacientes e ambientes. Neste sentido, futuros estudos devem empregar um desenho de ensaio clínico randomizado bem desenhado com período de acompanhamento maior e multicêntrico.

Apesar do pequeno número da amostra, este estudo traz insights importantes sobre potenciais recursos terapêuticos que não empregam antibióticos no processo do reparo tecidual. Este é um aspecto importante a ser levado em consideração em futuras pesquisas, uma vez que a resistência bacteriana a antibióticos é um problema enfrentado em todas as partes do mundo. Além disso, a TFD incorpora tratamentos baratos (como o própolis e azul de toluidina) dentro de uma perspectiva nova, a metodologia MAC[®], que envolve um método voltado na avaliação de possíveis fatores específicos que podem retardar a cicatrização. Diante do raciocínio clínico busca-se empregar a fototerapia associada a fotofármacos

específicos aliados ao reparo tecidual. Neste sentido, é possível empregar um método que pode reduzir os custos no tratamento de feridas crônicas substancialmente. Além de evitar amputações e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

■ CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a TFD utilizada através do MAC[®] combinada ao uso da própolis e azul de toluidina é um potencial tratamento eficaz no processo de cicatrização de úlceras de membros inferiores. A resposta do MAC[®] é acentuada pela utilização de um equipamento de fototerapia, desenvolvido pelo criador do método, e pelas curvas espaço e tempo que garantem a maior absorção medicamentosa. Isto pode impactar em redução de custos e qualidade de vida. A combinação do azul de toluidina, própolis e LED azul, através da metodologia MAC[®] mostrou controle microbiano, redução de exsudato, aumento no tecido de granulação, contração da ferida, e, conseqüentemente, a cicatrização de úlceras dos membros inferiores. Esses resultados positivos foram encontrados em pacientes do GE que apresentavam diferentes patologias (hipertensão venosa, diabetes e processo infeccioso), sendo fatores que dificultam a cicatrização. Portanto, mostrando-se um tratamento promissor para pacientes com feridas crônicas com diferentes comorbidades.

Contribuições dos autores

Todos os autores contribuíram para o manuscrito. A CGP e a JAC tiveram acesso total a todos os dados do estudo e assumem a responsabilidade pela integridade dos dados e pela precisão da análise dos dados. Conceito e desenho do estudo: CGP e JAC. Aquisição de dados: CGP, JAC, MVMP, MVB, OPG, VFS, ARS, EF e JGASJ. Análise e interpretação dos dados: MVMP, OPG. Redação do manuscrito: CGP, JAC, MVMP, MVB, ARS, EF e JGASJ. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Todos os autores. Financiamento obtido: CGP. Suporte administrativo, técnico ou material: CGP, JAC e VFS. Supervisão do estudo: CGP. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Fonte de financiamento

Próprio do pesquisador principal e BCMED produtos e equipamentos para saúde LTDA, Brasil.

Interesses competitivos

Dr. Marcus Vinicius de Mello Pinto é criador MAC[®]. Os demais autores não têm conflitos relevantes a divulgar.

Agradecimentos

Agradecimento ao senhor Álvaro de Freitas Almeida, CEO da Empresa Bcmed Produtos e Equipamentos para saúde Ltda, Brasil.

Artigo baseado na dissertação da autora Carolina Gonçalves Pinheiro intitulada METODOLOGIA DE ACELERAÇÃO CICATRIZAL COM USO DA PRÓPOLIS EM ÚLCERAS DE MEMBROS INFERIORES do Centro Universitário FMABC em 2023.

REFERÊNCIAS

1. Resende, N. M., Nascimento, T. C., Lopes, F. R. F., Junior, A. G. P., & Souza, N. M. (2017). Cuidado de pessoas com feridas crônicas na Atenção Primária à Saúde. *JMPHC| Journal of Management & Primary Health Care| ISSN 2179-6750*, 8(1), 99-108.
2. Lentsck, M. H., Baratieri, T., Trincaus, M. R., Mattei, A. P., & Miyahara, C. T. S. (2018). Quality of life related to clinical aspects in people with chronic wound. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 52.
3. Oliveira, A. C. D., Rocha, D. D. M., Bezerra, S. M. G., Andrade, E. M. L. R., Santos, A. M. R. D., & Nogueira, L. T. (2019). Qualidade de vida de pessoas com feridas crônicas. *Acta Paulista de enfermagem*, 32, 194-201.
4. Leren, L., Johansen, E. A., Eide, H., Sørnum Falk, R., & Ljoså, T. M. (2021). Prevalence and factors associated with ulcer-related pain in persons with chronic leg ulcers—an explorative study. *Journal of Clinical Nursing*, 30(17-18), 2732-2741.
5. Bowers S, Franco E. Chronic Wounds: Evaluation and Management. *Am Fam Physician*. 2020 Feb 1;101(3):159-166.
6. Pires, Sandra Maria Bastos, Rodrigues, Ana Luzia, Bastos, Claudia Biancato, & Cubas, Marcia Regina. (2021). Validação de conteúdo dos enunciados do subconjunto cipe® para pessoas com úlceras vasculogênicas. *Reme: Revista Mineira de Enfermagem*, 25, e-1363. Epub 16 de julho de 2021
7. Tardivo, J. P., Serrano, R., Zimmermann, L. M., Matos, L. L., Baptista, M. S., Pinhal, M. A. S., & Atallah, Á. N. (2017). Is surgical debridement necessary in the diabetic foot treated with photodynamic therapy?. *Diabetic Foot & Ankle*, 8(1), 1373552.
8. Domingues, E. A. R., Urizzi, F., & de Souza, F. R. (2022). Efeito da terapia fotodinâmica em feridas agudas e crônicas: revisão de escopo. *Revista Enfermagem Atual In Derme*, 96(38).
9. Souza Viana, B. A., Endo, M. S., & Pavan, N. N. O. (2021). Uso da terapia fotodinâmica na redução de microrganismos das infecções endodônticas. *Archives of health investigation*, 10(3), 474-479.
10. Krupka, M., Božek, A., Bartusik-Aebisher, D., Ciešlar, G., & Kawczyk-Krupka, A. (2021). Photodynamic therapy for the treatment of infected leg ulcers—A pilot study. *Antibiotics*, 10(5), 506.
11. Pinto, M. V. M., Vilardi J.R., N. P., Petrone, F., Sampaio, A. R., Fortuny, E, Passos, T. P. P., Meyer, P. F., Oliveira Júnior, M. P., Baron, M. V. (2021). Analysis of the M.A.C® healing acceleration methodology in a muscle injury. *International Journal of Development Research*, 11 (11), 51670-51675.
12. Su, G., Wei, Z., Wang, L., Shen, J., Baudouin, C., Labbé, A., & Liang, Q. (2020). Evaluation of toluidine blue-mediated photodynamic therapy for experimental bacterial keratitis in rabbits. *Translational vision science & technology*, 9(3), 13-13.
13. Medellin-Luna, M. F., Castaneda-Delgado, J. E., Martínez-Balderas, V. Y., & Cervantes-Villagrana, A. R. (2019). Medicinal plant extracts and their use as wound closure inducing agents. *Journal of Medicinal Food*, 22(5), 435-443.
14. Moreira, C. M. A., Pinheiro, C. G., Sampaio, A. R., dos Santos, M. P., Santamaria, A. F. M., Baron, M. V., ... & de Mello Pinto, M. V. (2020). Use of the Scar Acceleration Method/Método de Aceleração Cicatricial—MAC®—in the Treatment of Capsular Contracture: Case Report. *Open Journal of Therapy and Rehabilitation*, 8(04), 131.
15. Moura, J. P. G., Brandão, L. B., & Barcessat, A. R. P. (2018). Estudo da Terapia Fotodinâmica (PDT) no reparo de lesões teciduais: estudo de casos clínicos. *Estação Científica (UNIFAP)*, 8(1), 103-110.
16. Pinto, M.V.M. *Fototerapia: aspectos clínicos da reabilitação*. São Paulo: Andreoli, 2011.
17. Barbosa, M. H., Zuffi, F. B., Maruxo, H. B., & Jorge, L. L. R. (2009). Ação terapêutica da própolis em lesões cutâneas. *Acta Paulista de Enfermagem*, 22, 318-322.
18. Hochman, B., Nahas, F. X., & Ferreira, L. M. (2005). Photography in medical research. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 20, 19-25.
19. Bavaresco, T., Osmarin, V. M., Pires, A. U. B., Moraes, V. M., & Lucena, A. D. F. (2019). Terapia a laser de baixa potência na cicatrização de feridas. *Rev. enferm. UFPE on line*, 216-226.
20. Brandão, M. G. S. A., Ximenes, M. A. M., Cruz, G. S., Brito, E. H. S., Veras, V. S., Barros, L. M., & Araújo, T. M. (2020). Terapia fotodinâmica no tratamento de feridas infectadas nos pés de pessoas com diabetes mellitus: síntese de boas evidências: Photodynamic therapy in the treatment of infected wounds on the feet of people with diabetes mellitus. *Revista Enfermagem Atual In Derme*, 92(30).

21. Morley, S., Griffiths, J., Philips, G., Moseley, H., O'grady, C., Mellish, K., ... & Rhodes, L. E. (2013). Phase IIa randomized, placebo-controlled study of antimicrobial photodynamic therapy in bacterially colonized, chronic leg ulcers and diabetic foot ulcers: a new approach to antimicrobial therapy. *British Journal of Dermatology*, 168(3), 617-624.
22. Fischer, G., Hübner, S. O., Vargas, G. D., & Vidor, T. (2021). Imunomodulação pela própolis. *Arquivos do Instituto Biológico*, 75, 247-253.
23. Longhini, R., Raksa, S. M., Oliveira, A. C. P., Svidzinski, T. I., & Franco, S. L. (2007). Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17, 388-395.
24. Lustosa, S. R., Galindo, A. B., Nunes, L. C., Randau, K. P., & Rolim Neto, P. J. (2008). Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18, 447-454.
25. de Campos Vidal, B., & Mello, M. L. S. (2019). Toluidine blue staining for cell and tissue biology applications. *Acta histochemica*, 121(2), 101-112.
26. Dubey, T., Gorantla, N. V., Chandrashekara, K. T., & Chinnathambi, S. (2019). Photoexcited toluidine blue inhibits tau aggregation in Alzheimer's disease. *ACS omega*, 4(20), 18793-18802.

Abstract

Introduction: Photodynamic Therapy has been an important ally in tissue repair, with positive effects in the treatment of wounds and infections.

Objective: To analyze the effects of the Healing Acceleration Methodology (MAC[®]) using propolis and toluidine blue on lower limb ulcers.

Methods: Single-center, experimental, randomized and controlled study. Carried out between April 2021 and May 2022 at the outpatient clinic of the school clinic in a Brazilian capital. Patients were randomly assigned in a 1:1 ratio to receive photodynamic therapy (experimental group) or conventional dressing alone (control group). Patients over 18 years of age diagnosed with lower limb ulcers were included. Ten patients comprised the experimental group and 10 the control group. Patients were seen three times a week and monitored for two months. The primary outcome was the assessment of healing progress and the secondary outcome was the microscopic analysis of wound smears for the presence of cells and microorganisms.

Results: In the experimental group, two wounds did not heal completely while in the control group, none of the 10 wounds healed completely during the 60-day follow-up. In the experimental group, 90% of patients did not have bacteria and fungi at the end of 30 days versus 40% in the control group.

Conclusion: The present study showed that photodynamic therapy is a potential effective treatment in the healing process of lower limb ulcers. This can impact cost reduction and quality of life. Larger, well-designed studies are needed to corroborate the findings of the present study.

Keywords: wounds, wound infection, regeneration, healing, phototherapy.

©The authors (2024), this article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.