

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**EFEITOS DE EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE *PIPER  
AMALAGO*, *PIPER VICOSANUM* E *PIPER GLABRATUM* EM MODELO DE  
FERIMENTOS DESCOLANTES EM RATOS WISTAR.**

**DOUGLAS NEUMAR MENON**

**Dourados – MS  
2023**

DOUGLAS NEUMAR MENON

Efeitos de extrato etanólico de folhas de *Piper amalago*, *Piper vicosanum* e *Piper glabratum* em modelo de ferimentos descolantes em ratos wistar.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Marcio Eduardo de Barros

Dourados – MS  
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

M547e Menon, Douglas Neumar

EFEITOS DE EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE PIPER AMALAGO, PIPER VICOSANUM E PIPER GLABRATUM EM MODELO DE FERIMENTOS DESCOLANTES EM RATOS WISTAR. [recurso eletrônico] / Douglas Neumar Menon. -- 2024.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Marcio Eduardo de Barros.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Desenhamentos cutâneos. 2. Etnofarmacologia. 3. Pele. 4. Cicatrização. I. Barros, Marcio Eduardo De. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA POR DOUGLAS NEUMAR MENON, ALUNO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "FARMACOLOGIA".

Aos cinco dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e três, às oito horas, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada "Efeitos de extrato etanólico de folhas de *Piper amalago*, *Piper vicosanum* e *Piper glabratum* em modelo de ferimentos descolantes em ratos wistar.", apresentada pelo doutorando Douglas Neumar Menon, do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Marcio Eduardo de Barros/UFGD (presidente/orientador), Prof.ª Dr.ª Candida Aparecida Leite Kassuya/UFGD (membro titular interno), Prof. Dr. Fabio Juliano Negroa/UFGD (membro titular interno), Prof.ª Dr.ª Ariany Carvalho dos Santos/UFGD (membro titular externo), Prof. Dr. Jonas da Silva Mota/UEMS (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer ao candidato e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após o candidato ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido o candidato considerado \_\_\_\_\_. A Presidente da Banca atesta a participação dos membros que estiveram presentes de forma remota, conforme declarações anexas. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 05 de dezembro de 2023.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marcio Eduardo de Barros  
Presidente/orientador

\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Candida Aparecida Leite Kassuya  
Membro Titular Interno  
(Participação Remota)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Fabio Juliano Negroa  
Membro Titular Interno  
(Participação Remota)

\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Ariany Carvalho dos Santos  
Membro Titular Externo  
(Participação Remota)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jonas da Silva Mota  
Membro Titular Externo  
(Participação Remota)

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

ATA HOMOLOGADA EM: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_, PELA PROPP/ UFGD.

## DEDICATÓRIA

Certa vez um dos maiores expoentes da história da ciência mundial proferiu a célebre frase: “se vi mais longe foi porque me apoiei nos ombros de gigantes”. Com esta afirmação parafraseada de Bernardo de Chartres, Sir Isaac Newton abarcou não apenas a reverência aos seus predecessores na ciência, mas também o reconhecimento de um dos aspectos mais relevantes na busca por novos conhecimentos: o de que nunca evoluímos sem a cooperação de importantes companheiros. Esta obra, assim como qualquer outra, jamais seria possível com o trabalho de apenas um cérebro inquieto ou um par de braços habilidosos e deixar de prestar a devida deferência a todos os corresponsáveis seria uma desonestidade intelectual que eu jamais ousaria cometer.

Dedico então esta obra a todos aqueles que tiveram participação direta ou indireta, sem as quais este projeto jamais se tornaria realidade:

Aos queridos alunos de iniciação científica Igor, Lavinia, Maria Thereza e Sahra, que contribuíram não apenas com a realização dos “trabalhos braçais”, mas também constantemente me desafiaram a aprimorar os conceitos e técnicas que construíram este trabalho.

À minha esposa Aline, que sempre conseguiu ordenar o caos que habita a minha mente.

Aos meus filhos Milena, Poliana e Vinícius, que me inspiram a buscar a evolução contínua. Mesmo sem saber vocês participaram da confecção deste trabalho abdicando da minha presença por longas e essenciais horas.

Aos técnicos Débora, Anahy, Jacenir e Daniela que muito além de proporcionar os meios físicos para a realização dos experimentos, também trouxeram contribuições intelectuais relevantes.

Aos professores Cândida, Jonas, Ariany e Roosevelt, que colaboraram com opiniões, materiais e técnicas sem as quais este trabalho não teria o mesmo nível acadêmico.

E finalmente ao professor Marcio, que acreditou no meu projeto, nas minhas ideias heterodoxas e deu sentido ao que poderia ser somente um amontoado de inspirações inúteis.

## EPÍGRAFE

"Devemos manter a nossa certeza de que depois  
dos dias ruins, os bons virão novamente."

(CURIE, 1867-1934)

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BZD: Benzodiazepínico

DL-50: Dose letal 50

GABA: Ácido gama amino butírico

IL: Interleucina

INF: Interferon

OHB: oxigenação hiperbárica

OMS: Organização Mundial da Saúde

SHAM:

EEPA: extrato etanólico de *Piper amalago*,

EEPG: extrato etanólico de *Piper glabratum*,

EEPV: extrato etanólico de *Piper vicosanum*

## **Efeitos de extrato etanólico de folhas de *Piper amalago*, *Piper vicosanum* e *Piper glabratum* em modelo de ferimentos descolantes em ratos wistar.**

### **RESUMO**

Os deslucamentos são uma categoria específica de traumatismos de partes moles, ocasionados normalmente por mecanismo de pressão e rotação, também podendo ser chamados de ferimentos descolantes. Este tipo de traumatismo ocasiona a formação de retalhos cutâneos de vascularização incerta, dificultando o processo de tomada de condutas terapêuticas. O tratamento habitual para deslucamentos complexos é a conversão da pele descolada em um enxerto cutâneo, no entanto esta abordagem oferece muitas limitações, principalmente relacionadas à vitalidade do leito receptor que frequentemente não oferece as condições ideais para receber um enxerto. Além disso o tratamento com enxertos de pele também pode proporcionar uma cobertura epitelial inadequada, resultando em pele delgada e susceptível a traumas, portanto qualquer tratamento que melhore a viabilidade dos tecidos traumatizados pode oferecer vantagens no tratamento dos deslucamentos.

A proposta deste trabalho foi avaliar o efeito de três extratos etanólicos das folhas de plantas do gênero *Piper* em um modelo animal de ferimentos descolantes em ratos *Wistar*, na diminuição da extensão de necrose cutânea e em alguns aspectos agudos da cicatrização. As plantas do gênero *piper*, pertencente à família *Piperaceae* constitui-se de angiospermas que podem se apresentar na forma de arbustos, árvores, ervas ou trepadeiras, com distribuição principal por zonas tropicais de todo o mundo. A utilização medicinal tradicional mais comum das plantas da família *Piperaceae* é no tratamento da dor e inflamação e a literatura científica apresenta diversos trabalhos com evidências de efeitos biológicos positivos nestas e em outras situações.

Neste trabalho foi realizada a indução dos ferimentos descolantes conforme modelo experimental proposto por Milcheski (2010) em procedimento cirúrgico sob anestesia geral com cetamina e xilazina. Os animais receberam tratamentos diariamente com os extratos etanólicos das folhas de *Piper amalago*, *Piper glabratum* e *Piper vicosanum* por via oral através de gavagem. Um grupo de controle positivo foi submetido a oxigenação hiperbárica com sessões diárias em câmara hiperbárica com oxigênio a 100% a 2,5 ATM de pressão. Um grupo SHAM não recebeu tratamento adicional, enquanto o grupo de controle negativo recebeu solução salina a 0,9% diariamente por

gavagem. Todos os animais foram submetidos a eutanásia do 7º dia pós operatório e os retalhos cutâneos foram retirados e mensuradas as áreas de necrose cutânea. Os retalhos também foram enviados para análise histopatológica.

O percentual de necrose cutânea dos retalhos descolados foi de, respectivamente (medidas em  $\text{cm}^2 \pm \text{EP}$ ): grupo SHAM = 62,84 %  $\pm$  6,38 %; grupo controle negativo = 63,03 %  $\pm$  4,11 %; EEPV = 40,80 %  $\pm$  4,76  $p < 0,05$ ; EEPG = 32,97 %  $\pm$  4,01 %  $p < 0,01$ ; EEPA = 32,40 %  $\pm$  4,61 %  $p < 0,01$ ; OH = 33,21 %  $\pm$  4,29 %  $p < 0,01$ .

A análise histopatológica evidenciou sinais de melhora de alguns parâmetros da cicatrização, como diminuição do edema, maior deposição de colágeno e infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, denotando um processo cicatricial em fase mais avançada.

Os extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum* revelaram potencial benéfico na redução de necrose cutânea no modelo testado. Os resultados obtidos nestes grupos foram semelhantes aos da oxigenação hiperbárica, uma terapia que apesar de consolidada no tratamento de feridas complexas ainda apresenta um custo financeiro elevado, fazendo com que a possibilidade de implementação de terapias derivadas de extratos vegetais se constitua em alternativa interessante.

**Palavras chave:** Desenlívamentos cutâneos, etnofarmacologia, pele, cicatrização.

## **Effects of ethanolic extract of *Piper amalago*, *Piper vicosanum* and *Piper glabratum* leaves in a model of degloving injuries in Wistar rats.**

### ***ABSTRACT***

Degloving injuries are a specific category of soft tissue injuries, typically caused by a combination of pressure and rotation mechanisms. This type of trauma results in the formation of skin flaps with uncertain vascularization, complicating the decision-making process for therapeutic interventions. The standard treatment for complex degloving involves converting the detached skin into a skin graft; however, this approach has numerous limitations, particularly related to the vitality of the recipient site, which often fails to provide ideal conditions for graft integration. Furthermore, skin graft treatments may lead to inadequate epithelial coverage, resulting in thin and trauma-prone skin. Therefore, any intervention that enhances the viability of traumatized tissues may offer advantages in managing degloving injuries.

The objective of this study was to assess the effect of three ethanolic extracts from the leaves of plants belonging to the *Piper* genus in an animal model of avulsion wounds in *Wistar* rats, with a focus on reducing the extent of cutaneous necrosis and addressing acute aspects of healing. The *Piper* genus, a member of the *Piperaceae* family, comprises angiosperms that manifest as shrubs, trees, herbs, or climbers, primarily distributed in tropical zones worldwide. The most common traditional medicinal use of *Piperaceae* plants is in the treatment of pain and inflammation, supported by scientific literature with numerous studies demonstrating positive biological effects in these and other situations.

In this study, degloving wounds were induced according to the experimental model proposed by Milcheski (2010), employing a surgical procedure under general anesthesia with ketamine and xylazine. Animals received daily treatments with ethanolic extracts from the leaves of *Piper amalago*, *Piper glabratum*, and *Piper vicosanum* orally through gavage. A positive control group underwent hyperbaric oxygenation with daily sessions in a hyperbaric chamber at 100% oxygen and 2.5 ATM pressure. A SHAM group received no additional treatment, while the negative control group received 0.9% saline solution daily by gavage. All animals were euthanized

on the 7th postoperative day, and cutaneous flaps were excised and measured for areas of cutaneous necrosis. The flaps were also subjected to histopathological analysis.

The percentage of cutaneous necrosis in the avulsed flaps was, respectively (measured in  $\text{cm}^2 \pm \text{SE}$ ): SHAM group =  $62.84\% \pm 6.38\%$ ; negative control group =  $63.03\% \pm 4.11\%$ ; EEPV =  $40.80\% \pm 4.76$ ,  $p < 0.05$ ; EEPG =  $32.97\% \pm 4.01$ ,  $p < 0.01$ ; EEPA =  $32.40\% \pm 4.61$ ,  $p < 0.01$ ; OH =  $33.21\% \pm 4.29$ ,  $p < 0.01$ . Histopathological analysis revealed signs of improvement in certain healing parameters, such as reduced edema, increased collagen deposition, and predominantly mononuclear inflammatory infiltrate, indicating a more advanced healing process.

The ethanolic extracts from the leaves of *P. amalago*, *P. glabratum*, and *P. vicosanum* demonstrated beneficial potential in reducing cutaneous necrosis in the tested model. The outcomes in these groups were comparable to hyperbaric oxygenation, a therapy that, despite being established in treating complex wounds, still incurs high financial costs, making the possibility of implementing therapies derived from plant extracts an interesting alternative.

**Keywords:** Degloving Injuries. Ethnopharmacology. Skin. Wound Healing.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	10
2.1 Deslucamentos.....	10
2.2. Plantas na Medicina e cirurgia plástica.....	24
2.3. O Gênero <i>Piper</i> .....	27
2.3.1 <i>Piper vicosanum</i> .....	27
2.3.2 <i>Piper amalago</i> .....	27
2.3.3. <i>Piper glabratum</i> .....	30
2.4. Oxigenação hiperbárica.....	32
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	34
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35
<b>5. APÊNDICE</b> .....	42
5.1. Artigo: Effect of ethanolic extracts from Piperaceae leaves on the reduction of skin necrosis and wound healing in an animal model of degloving injuries.....	42
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	55
<b>7. ANEXO</b> .....	57
7.1. Aprovação do comitê de ética no uso de animais .....	57

## 1. INTRODUÇÃO

Os deslucamentos são uma categoria específica de traumatismos de partes moles, ocasionados normalmente por mecanismo de pressão e rotação, como, por exemplo, no caso de atropelamentos, em que um membro pode ficar prensado sob uma roda do veículo que, com o movimento de rotação, causa um descolamento da pele e do tecido celular subcutâneo do plano fascial, ocasionando feridas complexas e de difícil tratamento. Por este motivo, este tipo de lesão é também, frequentemente mencionado como ferimento descolante (Lekuya, 2018)

Os ferimentos descolantes normalmente originam retalhos de vascularização incerta, situação que gera uma dúvida terapêutica entre preservar ou não o segmento de pele descolada, tornando o tratamento complexo e difícil de padronizar. O tratamento habitual dos ferimentos descolantes é converter a própria pele descolada em um enxerto cutâneo através da retirada do tecido celular subcutâneo e reposicionamento desta mesma pele sobre a área cruenta (Yan, 2013).

No entanto, esta conduta usualmente acarreta sequelas relevantes, haja vista que a cobertura com tecido delgado, como os enxertos de pele, nem sempre proporciona um revestimento adequado, resultando em pele frágil suscetível a traumas e ulcerações crônicas, bem como fibrose excessiva com comprometimento da função de revestimento epitelial. Por outro lado, os retalhos cutâneos resultantes do deslucamento são frequentemente desvascularizados e a sua manutenção na tentativa de proporcionar uma cobertura cutânea mais apropriada pode resultar em extensas áreas de necrose cutânea, com todas as complicações decorrentes desse fato, como infecções, aumento do tempo de permanência hospitalar e necessidade de múltiplas abordagens cirúrgicas com resultados estéticos e funcionais muitas vezes insatisfatórios.

A literatura científica atual apresenta diversos trabalhos evidenciando efeitos positivos de vários compostos naturais na cicatrização de feridas, porém não há estudos relacionando estes compostos com melhoras em ferimentos descolantes (Akhoondinasab, 2015; Abbassi, 2020). O potencial angiogênico, anti-inflamatório e cicatrizante de determinados produtos naturais em feridas crônicas nos leva a crer que os mesmos efeitos podem ocorrer em ferimentos agudos; assim, a possibilidade de utilização de tratamentos adjuvantes poderia embasar decisões favoráveis a condutas mais conservadoras e, conseqüentemente com melhores resultados.

A pesquisa por este tipo de tratamento não é simples, uma vez que os deslucamentos cutâneos habitualmente se apresentam extremamente heterogênea. Dessa forma, pesquisas com

animais se fazem peremptório. Os trabalhos com animais na área da cirurgia reconstrutora envolvendo retalhos isquêmicos utilizam predominantemente o retalho de McFarlane (Briggs, 1987) que se trata de um modelo de retalho dorsal com pedículo caudal em ratos que proporciona uma porção de tecido cutâneo isquêmico útil no estudo deste tipo de lesão. Este modelo não representa exatamente a fisiologia dos deslucamentos de membros, além de que frequentemente este retalho mantém uma vascularização evidente, que dificulta a avaliação da extensão do efeito do tratamento realizado.

Por este motivo, é comum encontrar trabalhos na literatura que apresentam resolução total da necrose cutânea com os tratamentos realizados no modelo de Mc Farlane. Nestas situações é impossível determinar qual intervenção obteve resultados melhores, já que ambas podem mostrar efeito idêntico, a qual é a resolução completa e ausência de necrose cutânea.

Milcheski *et al.* (2013) desenvolveram um modelo mais fidedigno em representar os deslucamentos de membros, que consiste em um descolamento circunferencial da pele do membro posterior de ratos, proporcionando um retalho muito semelhante aos grandes deslucamentos traumáticos em humanos, simulando a fisiopatologia desta condição. O modelo de Milcheski produz uma desvascularização mais ampla em comparação ao modelo de McFarlane e, portanto, é mais adequado para a simulação de deslucamentos cutâneos.

A proposta deste trabalho foi avaliar se a administração oral de três extratos vegetais etanólicos das folhas de plantas do gênero *Piper* podem reduzir a extensão da necrose em retalhos randômicos ou deslucamentos cutâneos no modelo animal de ferimentos descolantes em ratos, proposto por Milcheski, a fim da busca de novas formas de tratamento para esse tipo de lesão. Buscamos na literatura científica artigos relevantes sobre deslucamentos em humanos, bem como pesquisas com modelos animais de ferimentos descolantes. Também foram incluídos na revisão os artigos sobre efeitos medicinais das plantas do gênero *Piper*.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Deslucamentos**

Os ferimentos descolantes ou deslucamentos constituem um dos maiores desafios na cirurgia plástica reparadora. Ainda que feridas complexas e queimaduras sejam situações de difícil tratamento e resolução; e que por muitas vezes demandam condutas clínicas e cirúrgicas elaboradas e dispendiosas, os ferimentos descolantes tem uma peculiaridade: a dificuldade em se determinar a extensão da perfusão tecidual no retalho resultante e por conseguinte o tratamento a ser instituído (Mandel, 1981).

A reparação de feridas é uma das bases da atuação do cirurgião plástico reparador e estas podem se apresentar em diversos níveis de complexidade. Ferimentos incisivos, que demandam reparação simples, como a aposição das bordas de ferida mediante sutura livre de tensão e de material desvitalizado, são os casos mais frequentes e não requerem conduta especializada. Por outro lado, temos as situações de maior complexidade: avulsões, queimaduras, feridas complexas, úlceras por pressão, que demandam tratamentos elaborados e multimodais, como enxertos e retalhos (Bennett, 1989).

De maneira geral, o reparo de qualquer ferida demanda certas condições que, se presentes, propiciam uma resolução mais favorável do caso: perfeita coaptação das bordas da ferida, ausência de tensão na linha de sutura, ausência de infecção ou contaminantes e especialmente uma boa perfusão tecidual (Harries, Bosanquet e Harding, 2016). Por óbvio, nem sempre todas essas condições estão presentes e cabe ao cirurgião plástico determinar a melhor conduta em cada caso individualmente, como, por exemplo, em uma avulsão tecidual, onde não é possível realizar a aposição das bordas da ferida ou no caso de úlceras de pressão, em que normalmente há comprometimento da vascularização local (Kim e Simon, 2018).

Dessa forma, os deslucamentos se constituem uma categoria especialmente complexa de feridas, uma vez que apresentam simultaneamente características que dificultam, tanto a sua resolução espontânea quanto o reparo cirúrgico. O principal problema com os ferimentos descolantes é certamente relacionado ao comprometimento da vascularização dos tecidos e com a extensão do dano à perfusão, porém outras condições desfavoráveis estão frequentemente associadas, como a contaminação da ferida, avulsão tecidual e traumatismos simultâneos de outros tecidos locais (McGowan e Fallahi, 2022).

Ferimentos descolantes ou deslucamentos são aqueles em que a pele se desprende dos tecidos profundos subjacentes. O plano de descolamento mais habitual é ao nível da fáscia, até pelas características do tecido conjuntivo frouxo que faz a conexão fasciocutânea, mas este pode ocorrer também no plano muscular, subdérmico, ósseo ou mesmo uma combinação destes, configurando um ferimento de maior complexidade (Lekuya *et al.*, 2018).

Habitualmente os deslucamentos, assim como nos casos de avulsão tecidual, estão normalmente relacionados a traumatismos com alta energia, situação que pode cursar com múltiplas lesões associadas, seja localmente ou em órgãos distantes. Tecnicamente o descolamento cutâneo traumático pode ocorrer em qualquer parte do corpo, embora seja mais comum nos membros em casos de acidentes de trânsito (Eirini *et al.*, 2022).

Nesses acidentes pode ocorrer o mecanismo de prensão e rotação, em que o membro fica preso sob a roda do automóvel e o movimento inercial rotatório faz com que os tecidos sejam separados entre si, levando à ocorrência do deslucamento, que pode ser aberto ou fechado (Veena *et al.*, 2013). Denomina-se deslucamento aberto quando há solução de continuidade cutânea, ou seja, uma ferida propriamente dita, podendo variar em extensão e profundidade (Singh, Rymer, Youssef e Lim, 2018).

Nos casos de deslucamentos fechados a pele apresenta integridade estrutural, porém encontra-se desconectada dos planos profundos e conseqüentemente dos vasos que abastecem o plexo subdérmico, ocasionando a desvascularização e possível necrose cutânea. Esses casos de deslucamento fechado também são conhecidos como lesão de Morell-Lavallé (Nelson e Sawyer, 1995).

Além do mecanismo de prensão e rotação, várias outras situações podem culminar com ferimentos descolantes, como acidentes tangenciais com lâminas (Faria *et al.*, 2016), acidentes com maquinário industrial (Fijałkowska e Antoszewski, 2018) e prensão em eixos rotatórios (Singh e Aggarwal, 2020). Em relação aos eixos rotatórios também pode haver um tipo muito peculiar de ferimentos que são os escalpelamentos, quando os cabelos longos de uma pessoa se enrolam em um eixo exposto de motores como em barcos ou de karts, levando à avulsão tecidual de parte, ou de todo o couro cabeludo. Embora o termo deslucamento seja mais utilizado para os casos de membros, os escalpelamentos se configuram uma situação clínica muito similar, necessitando por muitas vezes de tratamentos semelhantes (MacLean *et al.*, 2022).

A nutrição vascular da pele se dá na maioria por meio do plexo subdérmico, uma rede vascular anastomótica que percorre toda a extensão da pele do corpo humano (Whitman *et al.*, 2022). Esta rede, por sua vez, é alimentada por ramos arteriais e venosos que delimitam dermatômos (Starkman *et al.*, 2017) de grande valia para a confecção de retalhos cutâneos. Este conhecimento nos permite programar a elevação de tecido cutâneo com suprimento vascular próprio e bem definido, os chamados retalhos axiais, onde o tecido descolado é nutrido por um pedículo vascular conhecido. Mesmo no caso de retalhos randômicos, o respeito a algumas regras, como a proporção entre a largura da base do retalho e sua extensão ou o posicionamento do pedículo para proporcionar melhor circulação, favorece a vitalidade dos retalhos (Rees *et al.*, 1994).

Ocorre que nos casos de ferimentos descolantes o retalho cutâneo resultante obviamente não foi cirurgicamente programado e, portanto, ele pode se apresentar das maneiras mais desfavoráveis possíveis: com fluxo vascular retrógrado, com pedículo muito estreito ou com espessura muito delgada. A verdade é que na maioria das vezes há ocorrência simultânea de vários desses fatores, proporcionando um retalho cutâneo de vascularização duvidosa ou por muitas vezes ineficiente. Este déficit circulatório, seja por insuficiência arterial ou venosa, ocasiona a necrose total, ou parcial do retalho resultante do ferimento (Lekuya *et al.*, 2018).

O déficit de suprimento arterial ocorre quando há perda de conexão com a artéria responsável por aquele determinado dermatômo onde houve o ferimento e se caracteriza pelos sinais clássicos de isquemia tecidual: palidez, temperatura fria e ausência de perfusão tecidual. Nesses casos a necrose costuma evoluir de maneira mais rápida, mas, por outro lado, é mais fácil de se fazer o diagnóstico clínico devido à clareza com que os sinais se apresentam. No entanto, a necrose por insuficiência arterial costuma ser menos frequente, uma vez que pequenas artérias colaterais podem compensar a nutrição vascular da área comprometida, ao passo que a circulação arterial conta com a pressão exercida pela sístole ventricular (Matsumoto *et al.*, 2017).

Já os casos de necrose por insuficiência venosa são mais comuns, uma vez que o retorno venoso ocorre quase totalmente por “inércia”, não contando com um “motor” ativo, como a circulação arterial e a sístole ventricular. Nesses casos a necrose tecidual ocorre de forma mais lenta e de difícil identificação inicial, uma vez que o suprimento arterial leva nutrição necessária às células até certo ponto (Quintero *et al.*, 2021). Como há deficiência na drenagem venosa, o sangue vai paulatinamente se acumulando nos tecidos, levando a um sistema de hipertensão local,

fazendo com que haja parada da circulação sanguínea assim que a pressão de perfusão local supera a pressão arterial. A partir desse momento, devido à privação de oxigênio, é deflagrada a cascata de eventos que irão culminar com a morte celular e necrose (Yan *et al.*, 2013).

Adicionalmente é comum haver estase linfática nos ferimentos complexos dos membros, situação que cursa com aumento do edema, piora da inflamação local e conseqüentemente aumento da fibrose, concorrendo assim para o aumento e piora da gravidade das sequelas dos deslucamentos (Sung, 2021).

Os deslucamentos podem ocorrer com ou sem solução de continuidade cutânea, sendo, dessa forma, classificados em deslucamentos abertos ou fechados.

Os deslucamentos fechados, também chamados de lesão de Morell-Lavallé, ocorrem quando há o desprendimento da pele e tecido celular subcutâneo do leito fascial subjacente. Este descolamento pode ocorrer devido ao traumatismo propriamente dito ou devido ao acúmulo de coleções líquidas resultantes do trauma (Li, 2014).

Neste último, caso há uma lesão inicial que pode levar a um sangramento ao nível da junção fasciocutânea ou mesmo à formação de seroma local. Estas coleções (hematoma ou seroma) podem evoluir com aumento de volume, que vai progressivamente dissecando os tecidos, levando ao desprendimento fasciocutâneo. Este descolamento pode ou não levar à desvascularização da pele devido ao comprometimento do plexo subdérmico, levando à ocorrência de necrose (Nelson e Sawyer, 1995)

Yan *et al.* (2013) propuseram um sistema de classificação para os deslucamentos abertos, baseado na presença de lesão associada de tecidos locais:

Padrão 1 - Deslucamentos isolados: Neste caso há o desprendimento da pele ao nível fasciocutâneo, porém não há lesões de partes moles ou fraturas subjacentes.

Padrão 2 - Deslucamentos com lesões de partes moles subjacentes: Quando ocorre o deslucamento associado com lesões da fáscia, músculos ou tendões. Também pode haver lesões de estruturas nobre, como vasos sanguíneos ou nervos.

Padrão 3 - Deslucamentos associados com fraturas de ossos longos: Estas são as situações em que há maior energia associada ao trauma. Conseqüentemente também encerram os casos mais complexos e de difícil tratamento. Nos deslucamentos de padrão 3 há o ferimento descolante, associado a fratura do osso longo subjacente. Também é frequente encontrar lesões de partes moles associadas nestes casos, o que confere especial complexidade.

Os deslucamentos, adicionalmente, podem ser classificados em circunferências ou não circunferenciais, de forma que a gravidade e prognóstico das lesões descolantes são proporcionais à extensão ao padrão do ferimento (Yan *et al.*, 2013).

O tratamento de feridas é um dos pilares da Cirurgia Plástica Reparadora, que por norma se depara com as mais diversas situações clínicas, cada qual com suas peculiaridades próprias, tornando cada caso uma ocorrência particular e que demanda uma conduta personalizada e apropriada (Levin, 1993). Devido a isso, desenvolveu-se na Cirurgia Plástica uma hierarquização das condutas no que ficou conhecido como a “escada da reconstrução”, uma filosofia de tratamento que basicamente consiste em se instituir o tratamento mais apropriado para cada caso, lançando mão das técnicas mais simples e menos traumáticas possíveis para se obter o resultado almejado, com o melhor desfecho possível do ponto de vista funcional e estético (Mohapatra e Thiruvoth, 2021).

A filosofia da escada reconstitutiva, dessa forma, não prega exclusivamente a utilização da técnica cirúrgica mais simples possível, mas sim a técnica mais simples que obtenha o melhor resultado para aquele determinado caso. Dessa maneira, um ferimento inciso, limpo e livre de contaminação deve ser tratado através da simples oposição das suas bordas com sutura simples. Por outro lado, um grande ferimento, com perda de substância, contaminação grosseira e tecidos desvitalizados irá demandar uma conduta cirúrgica mais sofisticada, muitas vezes lançando mão de combinação de estratégias da Cirurgia Plástica Reparadora, como transferência de tecido, avanço ou rotação de retalhos, enxertos, retalhos livres, além de tratamentos clínicos elaborados, como a terapia a vácuo e a oxigenação hiperbárica (Simman, 2009).

Simman e Abbas (2021) descrevem os procedimentos constantes da escada reconstitutiva, enumerando de forma hierarquizada, do mais simples para o mais complexo: fechamento primário, enxertos de pele, retalhos, expansão tecidual e retalhos microcirúrgicos.

O fechamento primário consiste na sutura primária de ferimentos que possuem pouca ou nenhuma perda de substância, que permitam uma coaptação das bordas livre de tensão e sem desvitalização dos tecidos. É bem aplicada para casos de ferimentos incisivos, pequenas ressecções de tumores de pele e fechamento de feridas cirúrgicas.

No caso dos enxertos de pele é realizada a transferência de tecido cutâneo para o fechamento da ferida, de maneira que a pele utilizada não mantenha conexão vascular com a área doadora. A nutrição tecidual do enxerto, nesse caso, vai depender exclusivamente das condições locais da área

receptora, que inicialmente através do processo de embebição plasmática irá prover os nutrientes e oxigênio necessários à viabilidade celular, até que se realize o processo de neovascularização inerente à integração do enxerto (Abassi, 2020).

Os enxertos cutâneos podem ser de dois tipos: enxertos de pele total ou enxertos de pele parcial (Bennett, 1989). No caso dos enxertos de pele total a pele a ser utilizada é retirada do leito receptor utilizando lâmina de bisturi, sendo retirado toda a espessura da epiderme e derme, ocasionando uma ferida cirúrgica habitualmente fusiforme, que permita a sutura primária de suas bordas, resultando em cicatriz linear na área doadora. Esta estratégia é bem utilizada para casos de pequenos ferimentos, pois há maior limitação da quantidade de tecido disponível para captação nesta modalidade de enxerto. Já os enxertos de pele parcial envolvem a epiderme e uma parte variável da derme. Este tipo de enxerto é coletado lançando-se mão de equipamentos cirúrgicos próprios para tal finalidade, como o dermatomo ou a faca de Blair, que realizam a extração de camadas delgadas da pele de regiões como coxas, nádegas ou dorso, não necessitando usar qualquer técnica de fechamento para a área doadora, que é deixada aberta para sofrer cicatrização por epitelização, uma vez que a maior parte da derme é mantida intacta. Importante não confundir com cicatrização por segunda intenção, situação em que há perda cutânea de espessura total e a ferida sofre cicatrização natural, sem intervenção médica, constituindo situação clínica muito diversa da aqui tratada.

O uso de enxertos de pele parcial permite a captação de extensões relativamente grande de tecido, inclusive permitindo a coleta de pele das mesmas áreas doadoras após um breve período de epitelização local e, portanto, é a técnica de escolha para reconstrução de grandes áreas de perdas cutâneas, como em casos de grandes queimaduras, por exemplo.

Os retalhos são transferências teciduais que mantêm um pedículo vascular próprio o conectando com a área doadora. Dessa forma, os retalhos não dependem tanto das condições do leito receptor para a sua integração, uma vez que o pedículo fornece os nutrientes e oxigênio necessários à viabilidade celular. Por essa razão, os enxertos são mais adequados para o fechamento de feridas com leito desfavorável, como exposição óssea ou cartilaginosa, que constituem tecidos pouco vascularizados que impossibilitam a integração de enxertos (Bennett, 1989).

Os retalhos podem ser de dois tipos: locais ou a distância. Os retalhos locais se referem aos casos de transferência de tecidos próximos ao local a ser tratado, proporcionando retalhos com pedículos curtos e conseqüentemente menor chance de isquemia ou congestão venosa. Já os

retalhos a distância possuem habitualmente pedículos mais longos, utilizados para tratamento de feridas em regiões distantes da área doadora. Normalmente constituem retalhos axiais, que são aqueles em que há um pedículo vascular definido, nutrido por um feixe vascular conhecido e determinado.

Em alguns casos não há disponibilidade de tecidos locais para a confecção de retalhos nem tampouco tecidos da vizinhança que possam ser mobilizados para o fechamento de determinadas feridas que não possuem um leito favorável à realização de enxertos. Um exemplo clássico são os ferimentos com perda tecidual no couro cabeludo. Nestes casos uma opção viável é a reconstrução com expansão tecidual, modalidade de tratamento em que um dispositivo chamado de dermo expansor ou expansor tecidual é implantado cirurgicamente sob a pele a ser expandida nas circunvizinhanças do ferimento. Posteriormente esse dispositivo vai sendo gradativamente expandido através da introdução no seu interior de solução salina por meio de válvula própria, levando ao aumento gradativo da pele da região. Em um segundo tempo cirúrgico o expansor é retirado e o excedente cutâneo criado pela expansão é utilizado para o fechamento da ferida.

Os retalhos microcirúrgicos consistem na modalidade mais complexa e sofisticada do fechamento cirúrgico de feridas. Nestes casos é realizada a transferência de retalhos livres, captados em regiões distantes do ferimento, sendo realizada anastomose microcirúrgica entre os vasos do pedículo e vasos da região da ferida. Este tipo de técnica requer treinamento e equipamentos muito específicos e no Brasil ainda dispõe de pouca disponibilidade, em especial no sistema público de saúde.

Os retalhos microcirúrgicos são a alternativa de escolha em ferimentos que necessitem cobertura cutânea eficiente e que não disponham de um leito receptor apropriado para a realização de enxertos, que não disponham de tecidos locais ou vizinhos aptos a realização de retalhos e com dificuldade para o uso de expansão tecidual. Um exemplo muito característico deste tipo de situação são os ferimentos profundos com perda de substância do terço distal da perna (Mohapatra, 2021).

Conforme a filosofia da escada reconstrutiva, a escolha da técnica cirúrgica a ser adotada para o fechamento da ferida vai depender de características próprias de cada ferimento, possibilitando o emprego de técnicas adequadas para cada situação (Hsu *et al.*, 2021). Dessa forma, não faz sentido, por exemplo, realizar um enxerto de pele sobre superfície óssea desperiostizada, pois esta não oferece os parâmetros para a integração dos enxertos (Snyder, 1976). Ainda que se

pense em utilizar procedimentos cirúrgicos mais simples a fim de se poupar o paciente de trauma cirúrgico adicional e consequente da resposta endócrino-metabólica subjacente, há que sempre se levar em consideração a necessidade do emprego de técnica que seja eficaz para aquele tipo de reconstrução, levando-se em consideração o prognóstico estético e funcional do resultado cirúrgico.

Kim e Simon (2018) avaliam os aspectos mais importantes a serem levados em consideração ao se programar o fechamento cirúrgico de qualquer tipo de ferida sendo eles:

#### A. Tecido disponível para o fechamento

É muito intuitivo para o cirurgião plástico, ou o clínico, ou até mesmo para o leigo, que a maneira mais simples de se fechar um ferimento é através do uso dos tecidos vizinhos à região afetada. Os primeiros relatos do uso de fios e sutura para oclusão de feridas datam de aproximadamente 3.500 a.C. na civilização egípcia (Snyder, 1976). No entanto, o fechamento primário de uma ferida demanda algumas condições essenciais para o sucesso do procedimento, sendo a principal delas a presença de tecido viável e disponível na periferia da ferida.

Um ferimento inciso, isto é, aquele que apresenta bordas regulares e bem vitalizadas, sem perda de substância e limpo, assim como ocorre nas incisões cirúrgicas, constitui o melhor exemplo de ferimento com tecidos vizinhos amplamente disponíveis para o fechamento primário. A pele circunvizinha a uma ferida deve se apresentar livre de contaminação e a coaptação das bordas deve ocorrer livre de tensão no centro da ferida, proporcionando um fechamento adequado e seguro. No entanto, nem sempre há disponibilidade de tecido com essas características, como nos casos de ferimentos com perda de substância, situação que pode demandar condutas diferenciadas (Keim e Marinucci, 2019).

#### B. Perda de substância

É comum em ferimentos traumáticos que ocorra laceração com avulsão tecidual e perda de substância tegumentar. Os diferentes mecanismos de trauma associados às lesões irão determinar diferentes características dos ferimentos. Assim, um ferimento por faca, que costuma apresentar bordas limpas e regulares, será diferente de um ferimento por mordedura canina, que pode se apresentar de forma irregular e com avulsão tecidual (Cheng, 2010).

A avulsão ou perda de substância constitui um problema a parte no tratamento das feridas, pois pode demandar condutas mais elaboradas, como as transferências teciduais, dependendo da

sua profundidade e extensão. No entanto, deve ser possível o tratamento de feridas com pequena perda de substância por meio de sutura simples, desde que haja mobilidade da pele vizinha e que isso não leve a deformação das características anatômicas locais. Outra possibilidade nesses casos é o descolamento das bordas da ferida para se aumentar a mobilidade dos tecidos vizinhos, possibilitando assim o fechamento primário. Por fim, nos casos com grande perda de substância, especialmente quando há a exposição de estruturas anatômicas nobres, haverá a necessidade de algum tipo de transferência tecidual (Cen, Jin, Yu e Weng, 2021). De qualquer forma, as feridas com perda de substância costumam necessitar de conduta especializada por parte do cirurgião plástico.

### C. Regularidade das bordas

Outro aspecto importante na avaliação inicial dos ferimentos traumáticos diz respeito à regularidade ou não das suas bordas. As feridas podem se apresentar com bordas lisas e regulares, que favorecem e facilitam a reconstrução ou com bordas irregulares, como nos casos das lacerações ou ferimentos contusos ou até mesmo com a formação de múltiplos retalhos de pele, no caso dos chamados ferimentos estrelados. Cada uma dessas situações irá suscitar a necessidade de uma conduta diferente e individualizada (Azmat e Council, 2022).

Ferimentos ocasionados por objetos cortantes costumam apresentar bordas regulares, enquanto aquele, ocasionados por contusão ou prensão, cursam normalmente com bordas irregulares, ou estreladas. As condições das bordas da ferida são determinantes para o seu fechamento, de forma que um ferimento muito irregular pode levar à necessidade de debridamento e regularização das bordas para possibilitar um fechamento adequado (Teot e Ohura, 2021).

Ferimentos estrelados são aqueles em que há a formação (não intencional) de múltiplos retalhos cutâneos. Normalmente são devidos a traumatismos contusos, que originam uma ferida extremamente irregular. Os retalhos originados deste tipo de acometimento podem se apresentar com a viabilidade vascular comprometida e é uma das questões a se definir para o tratamento a manutenção ou debridamento dessas áreas. Em casos de ferimentos estrelados em que a viabilidade dos tecidos não está comprometida, um fechamento criterioso por vezes associado e um debridamento mais conservador, apenas das bordas da ferida, costuma ser suficiente para a resolução do problema (Bianchi, 2000).

No entanto, os ferimentos contusos costumam também cursar com o comprometimento da vascularização das bordas da ferida, outro potencial problema no tratamento cirúrgico de feridas.

#### D. Vitalidade dos tecidos

O mecanismo de trauma nos ferimentos contusos costuma envolver a aplicação de uma quantidade razoável de energia, suficiente para produzir solução de continuidade da pele local. Essa mesma energia aplicada costuma provocar o esmagamento dos tecidos acometidos, levando ao comprometimento da circulação sanguínea local. Uma vez que todo o processo cicatricial depende de uma vascularização adequada para promover a cascata de eventos fisiológicos necessários, como o influxo de células imunológicas e de proteínas para a formação da matriz extracelular, é muito importante que os tecidos envolvidos na reparação cirúrgica da lesão apresentem vascularização adequada. De maneira contrária, o fechamento de feridas utilizando pele degradada por esmagamento ou desvascularizada irá proporcionar um reparo inadequado, sujeito a deiscência da sutura, processos infecciosos ou cicatrização desfavorável (Bianchi, 2000).

Assim sendo, se faz imperativa uma adequada avaliação da viabilidade dos tecidos perilesionais a fim de se promover um tratamento adequado, sendo por vezes necessária a realização de debridamento de tecidos desvitalizados previamente ao reparo cirúrgico do ferimento.

#### E. Tipo de tecido exposto

O fundo da lesão costuma ser um dos principais determinantes de qual conduta deve ser adotada, devido ao tipo de tecido exposto. Feridas com exposição apenas da gordura subcutânea podem por vezes receberem tratamento conservador e cicatrização por segunda intenção, quando não constituam topografia anatômica nobre, como áreas de articulação, face ou genitália. Por outro lado, quando há exposição de estruturas anatômicas nobres, como osso, cartilagem, nervos, tendões e vasos sanguíneos o fechamento cirúrgico se torna imperativo (Kim e Simon, 2018).

A presença de osso desperiostizado ou de cartilagem despericondrizada ao fundo de uma lesão torna praticamente nulo o processo de formação de tecido de granulação necessário à cicatrização por segunda intenção, impossibilitando praticamente a resolução espontânea deste tipo de ferimento. Já a presença de nervos expostos no fundo da lesão pode levar a complicações neurológicas, como neurite e comprometimento da condução nervosa local, gerando problemas diversos. Em todas essas situações se faz necessário a cobertura cutânea da região. Estas situações constituem quase sempre um leito receptor inapropriado para a utilização de enxertos cutâneos, sendo na maioria das vezes necessária a confecção de retalhos (Snyder, 1976).

## F. Contaminação local

A perfeita resolução dos ferimentos requer um ambiente limpo e livre de contaminantes, situação que não se verifica geralmente de ferimentos traumáticos, em que é comum se encontrar contaminação macroscópica e materiais estranhos, como terra, restos vegetais, pedras e diversos outros tipos de contaminantes. A presença destes materiais por si só já piora as condições locais por dificultar a perfeita coaptação das bordas e aumentar a reação inflamatória por corpo estranho, mas também podem propiciar o desenvolvimento de infecção local. A infecção impacta de diferentes maneiras o processo cicatricial, ao ponto em que aumenta o edema, prejudica a perfusão tecidual, aumenta a pressão mecânica nas bordas da lesão e compromete a formação da matriz extracelular. Desta forma é recomendável a remoção de todo tipo de contaminante macroscópico das feridas, ao mesmo tempo, em que nos ferimentos com forte suspeita de infecção concorrente deve ser considerada a hipótese de protelação do fechamento cirúrgico até a resolução deste (Edwards e Harding, 2004).

## G. Região anatômica

O sítio anatômico do ferimento é outra questão de importância fundamental na definição da conduta a ser adotada. As feridas que ocorrem em locais de pouca exposição social e que ficam normalmente escondidas sob as roupas admitem a resolução com uma cicatriz esteticamente desfavorável. Por outro lado, há algumas regiões que merecem ser tratadas com maior esmero e sensibilidade, uma vez que a simples presença de uma cicatriz pode suscitar reações sociais desfavoráveis, como, por exemplo, na face. Dessa forma, um ferimento na região tóraco-dorsal, área de pouca movimentação e exposição, demanda um tratamento diferente de uma lesão na asa nasal, por exemplo (Sorg *et al.*, 2016).

Algumas peculiaridades relacionadas à região anatômica merecem destaque, em especial aquelas localizadas na face. Pequenas perdas de substância em áreas nobres como nariz, lábios, orelhas e pálpebras podem ocasionar sequelas indesejáveis e estigmatizantes. Portanto, nesses casos, mesmo que seja possível se realizar a aproximação primária das bordas da lesão, deve-se considerar a realização de transferência de tecido para se manter a estrutura anatômica natural (Vazquez *et al.*, 2016).

As regiões de articulação também merecem atenção diferenciada durante a programação do tratamento, em especial as grandes articulações como a axila e cavo poplíteo. Devido à possibilidade de se realizar a flexão articular é comum a possibilidade de se realizar aproximação

das bordas de lesão dessas áreas, mesmo quando há alguma perda de substância. No entanto, este tipo de conduta pode levar ao encurtamento tegumentar e consequente perda de mobilidade articular, configurando importante sequela funcional. Este é outro exemplo de situação em que se é preferível realizar transferência tecidual ainda que haja a possibilidade de um fechamento primário. A avaliação de ferimentos em regiões articulares deve ser realizada preferencialmente em atitude de extensão articular para evitar erros de avaliação da quantidade de pele necessária ao fechamento (Qu *et al.*, 2018).

A região das mamas femininas e genitálias também merecem avaliação especializada, devido à possibilidade de sequelas sociais e reprodutivas.

#### H. Aspectos funcionais

A pele é considerada hoje o maior órgão do corpo humano, cobrindo toda a extensão corporal. No entanto, a pele apresenta características distintas conforme a região em que se encontra. A pele das palmas e plantas requer resistência mecânica, mas pode prescindir de elasticidade e por isso o tegumento dessas regiões se apresenta espesso e inelástico. A pele das regiões de dobras articulares, por sua vez, deve apresentar maior elasticidade para possibilitar a movimentação, porém não requer grande resistência. Esses aspectos funcionais devem ser levados em consideração no momento de se programar o fechamento de qualquer ferida, de maneira que regiões que demandam maior elasticidade requerem uma pele mais elástica para a reparação, assim como nas regiões que requerem um tegumento mais resistente (Teot e Ohura, 2021).

A finalidade de qualquer reconstrução na Cirurgia Plástica é promover o máximo de funcionalidade, portanto o reparo das lesões deve sempre respeitar os aspectos funcionais do tegumento que está sendo substituído.

Conforme mencionado anteriormente, os deslucamentos cutâneos são ferimentos potencialmente complexos, sob vários aspectos. Como habitualmente estão relacionados a traumatismo de alta energia, podem apresentar diversas características que comprometem a resolução da ferida, seja espontânea ou com tratamento cirúrgico envolvido. Os deslucamentos dos membros inferiores, sendo os mais comuns, são normalmente relacionados a acidentes de trânsito, situação que frequentemente ocasiona contaminação grosseira da ferida (Hierner *et al.*, 2009). Além disso, é comum, pelas próprias especificidades dos mecanismos de lesão, a formação de ferimentos estrelados, com perda de substância, com bordos irregulares e desvitalizados e com

exposição de estruturas nobres. Mas a característica mais peculiar e marcante dos ferimentos descolantes é a presença de retalhos cutâneos de vascularização duvidosa (Khan, 2004).

Dessa forma, o tratamento mais comumente aplicado aos desloupamentos é o de se utilizar a própria pele descolada para confecção de um enxerto cutâneo. Isto se dá através da remoção da camada de gordura subcutânea e adelgaçamento da pele descolada, com posterior posicionamento da mesma sobre o leito receptor e cuidados pós-operatórios pertinentes aos enxertos de pele total, como curativo oclusivo e imobilização, por exemplo (Yan *et al.*, 2013).

Esta conduta possui algumas limitações: a primeira delas é que o resultado estético e funcional dos enxertos costuma ser mais pobre quando se comparado aos retalhos ou à própria pele da região e isso ocasiona um dilema no momento de se tomar a decisão de que tipo de terapia instituir. A pronta decisão de se transformar a pele descolada em enxerto tem uma maior probabilidade de resultar em fechamento da ferida, mas às custas de um resultado estético-funcional mais pobre, enquanto a manutenção da pele com toda a espessura, bem como o tecido celular subcutâneo, proporciona um fechamento mais adequado, porém com uma maior chance de necrose do retalho e conseqüentemente uma situação de muito mais difícil resolução, inclusive necessitando de se lançar mão de captação de enxerto cutâneo de outras regiões corporais (Menon *et al.*, 2017).

O segundo problema na instituição da terapia convencional (conversão da pele descolada em enxerto) tem relação a característica do leito receptor em si, pois nem sempre a ferida resulta em um leito receptor favorável ao enxerto, como nos casos de ferimentos com exposição óssea, por exemplo. Nestas situações é mandatório realizar um fechamento com tegumento dotado de vascularização própria, que pode ser um retalho cutâneo local, um retalho muscular, um retalho microcirúrgico ou até mesmo a pele descolada no acidente, desde que tenha mantido intacta a vascularização (Teot e Ohura, 2021).

Então a grande questão acerca da tomada de decisão nos casos de desloupamentos cutâneos diz respeito a circulação sanguínea remanescente no retalho. O ideal seria que fosse possível determinar com exatidão a extensão do comprometimento vascular da pele para definir a extensão do debridamento, porém os métodos mencionados na literatura atual, como a utilização de marcadores quimioluminescentes ou radioisótopos, ainda consiste em métodos experimentais, com aplicação clínica limitada e indisponível na realidade da maior parte do Brasil (Malvezzi *et al.*, 1992). Além disso, as condições inerentes à evolução de um ferimento tão complexo como um

deslucamento são muito variáveis e podem apresentar grandes mudanças com o decorrer dos dias após o trauma. Um exemplo bastante frequente é dos casos em que inicialmente os tecidos apresentam boa perfusão tecidual, mas com a evolução do edema passam a sofrer com isquemia e congestão, evoluindo para necrose, fato que pode ser agravado com a presença de infecção (Simmons, 1982).

Dessa forma, não existe um padrão para o tratamento dos ferimentos descolantes, que deve ser individualizado e aplicado conforme as características de cada caso, levando-se em consideração a posição anatômica, condições do tecido remanescente, exposição de estruturas nobres, perda de substância e contaminação local. Assim, o tratamento cirúrgico mais convencionalmente aplicado é a conversão da pele descolada em enxerto, porém pode ser necessária a utilização de enxerto de pele proveniente de outras regiões, retalhos locais ou a distância, ou muito frequentemente uma combinação das diversas técnicas anteriormente discutidas (Yan *et al.*, 2013).

Tão importante quanto o tratamento cirúrgico realizado, são os cuidados no pós-operatório. A manutenção de ambiente homeostático, livre de infecções e em condições nutricionais ideais é fundamental para a boa evolução de qualquer paciente cirúrgico. Portanto, os cuidados clínicos e locais, como curativos adequados, são de fundamental importância (Malvezzi *et al.*, 1992). Algumas terapias adicionais merecem menção por apresentarem bons resultados clínicos, em especial a oxigenação hiperbárica e a terapia a vácuo.

Esta modalidade terapêutica aumenta a perfusão tecidual de oxigênio, através da manutenção do paciente em câmara específica com oxigênio a 100% e alta pressão atmosférica. Esta terapia tem robustos resultados clínicos demonstrados na literatura na melhora de diversos tipos de feridas, tanto aquelas tratadas cirurgicamente quanto na cicatrização por segunda intenção (Andrade e Santos, 2016). A oxigenação hiperbárica será mais detalhadamente discutida em tópico específico mais a frente.

Qualquer ferida cursa com edema e produção de líquidos, a exemplo dos seromas, que podem influenciar negativamente a sua resolução. A terapia a vácuo consiste na aplicação de um sistema fechado de curativo submetido a uma pressão negativa intermitente em torno de 120 mmHg, podendo variar. A pressão negativa aplicada a ferida tem como finalidade a remoção constante de possíveis líquidos, diminuição do edema e estímulo à migração das células epiteliais envolvidas no processo de cicatrização. Estas propriedades somadas comprovaram ter efeito

benéfico na redução do tempo de cicatrização de feridas e pode ser utilizada como terapia adicional no tratamento dos deslucamentos (Jerome, 2007).

## 2.2. Plantas na medicina e na cirurgia plástica

A Organização Mundial da Saúde – (OMS) define a medicina tradicional como um termo genérico que abrange tanto os sistemas de Medicina Tradicional como a medicina tradicional chinesa, a Ayurveda indiana e a medicina unani árabe quanto várias práticas de medicina indígena. Segundo a OMS (2002) a medicina tradicional pode envolver tratamentos medicamentosos, com o uso de plantas ou partes de plantas, partes de animais ou minerais e não medicamentosos, com o uso de terapias manuais, como as massagens, acupuntura e terapias espirituais.

A utilização de plantas com finalidade de melhora da saúde ou cura de doenças é talvez a prática mais antiga da medicina e pode ser realizada de diversas maneiras, como a preparação de cataplasmas, infusões, compressas, inalações, banhos, pós, tinturas ou uso direto das partes das plantas como folhas ou látex para cobrir ferimentos (Martins, 2005).

A aceitação da implementação do uso de plantas medicinais varia muito, tanto do ponto de vista do profissional de saúde quanto das políticas públicas. A OMS (2002) cita três níveis de integração da medicina tradicional aos sistemas de saúde: integrativo, inclusivo e tolerante. O sistema integrativo é aquele em que a medicina tradicional está integrada e é ofertada pelo sistema de saúde vigente no país. Sistema inclusivo, por sua vez, se caracteriza pela oferta de algumas práticas de medicina tradicional no sistema de saúde, porém de forma não totalmente integrada, podendo haver falhas em alguns aspectos, como promoção, treinamento ou regulação da medicina tradicional. Por fim, o sistema tolerante consiste em um sistema de saúde totalmente baseado em práticas alopáticas, porém com algumas medidas da medicina tradicional permitidas por lei.

A introdução das técnicas da medicina tradicional na prática clínica, contudo, sempre foi vista com certa desconfiança ou até mesmo repulsa por parte dos médicos (Pietroni, 1992). Em contraste e de certa forma até paradoxal, grande parte dos medicamentos alopáticos são derivados de produtos naturais, como, por exemplo, a morfina e o ácido acetil salicílico, dois medicamentos derivados de plantas amplamente utilizados na medicina ocidental.

Os cirurgiões plásticos costumam ser especialistas bastante dados à introdução de novas tecnologias na sua prática clínico-cirúrgica, especialmente aquelas que contam com forte marketing

da indústria e que prometem um aprimoramento dos resultados cirúrgicos. Em contrapartida, a utilização de terapias tradicionais é frequentemente vítima de certo preconceito por parte desses especialistas, habitualmente condicionados a associar os bons resultados com a aplicação de tecnologias dispendiosas e frequentemente inviáveis financeiramente.

Apesar disso, dois aspectos merecem distinção: a percepção destes métodos tradicionais por parte dos pacientes e a incorporação de técnicas da medicina tradicional à rotina da cirurgia plástica (Patel, 2022).

Apesar da resistência por parte dos cirurgiões em se aplicar as técnicas tradicionais, há que se observar a percepção dos pacientes em relação a estes tipos de tratamento. Uma pesquisa conduzida pela Universidade da Flórida, envolvendo pacientes de cirurgia estética e reparadora, chegou à impressionante conclusão de que 80% dos pacientes recorreram a técnicas de medicina integrativa em algum momento do tratamento. As técnicas mais utilizadas foram o uso de vitaminas (61%) e massagem (29%). A utilização de algum tipo de planta foi relatada por 21% dos pacientes da pesquisa, sendo a terceira técnica mais presente. Mais importante do que isso foi a conclusão de que os pacientes em geral acreditavam que a introdução destes métodos traria resultados benéficos para a sua recuperação e também o desejo por parte destes que o cirurgião dominasse o conhecimento acerca dos métodos da medicina integrativa (Patel *et al.*, 2017).

Como discutido anteriormente, pode ser desafiador tentar convencer um cirurgião a utilizar um cataplasma natural com finalidade cicatrizante, enquanto seria muito mais fácil convencê-lo a usar um laser de última geração, ainda que ambos apresentassem nível de evidência científica semelhantes (Menon *et al.*, 2017). Apesar disso, muitas técnicas da medicina tradicional foram incorporadas à rotina da prática clínica da cirurgia plástica, especialmente em relação aos cuidados pós-operatórios. O exemplo mais comum e frequente talvez seja a realização de massagens, tanto para reduzir o edema quanto de melhorar o aspecto de cicatrizes e diminuir a retração e formação de fibrose (Abushukur *et al.*, 2022), mas outras situações também merecem destaque.

A massagem pode ser utilizada de duas maneiras diferentes no pós-operatório, com finalidades distintas: a drenagem linfática tem como finalidade reduzir o edema provocado pela agressão cirúrgica. O edema prejudica o processo de recuperação pós-cirúrgico de formas diferentes, aumentando a tensão na linha de sutura, diminuindo a perfusão tecidual e diluindo os fatores de crescimento e nutrientes necessários à cicatrização (Weinzweig, 1999. Dessa forma, a

drenagem linfática reduz o edema ao mobilizar o líquido extravasado do terceiro espaço, reduzindo a dor e reduzindo o tempo de cicatrização (Lokosvá *et al.* 2017).

Outra forma de aplicação de massagem no pós-operatório é a chamada massagem cicatricial, em que a massagem é aplicada diretamente sobre a cicatriz, com o intuito de liberar as traves fibrosas ocasionadas durante o processo cicatricial, promovendo melhora estética e funcional da cicatriz, com menor fibroplasia e conseqüentemente uma cicatriz menos aparente e com menor índice de retração (Shin e Bordeaux, 2012).

Outra prática integrativa tradicionalmente associada a cirurgias plásticas é a utilização de arnica, que se refere a diversas espécies de plantas herbáceas, com uso medicinal popular relacionado ao tratamento de contusões e equimoses, com comprovado efeito analgésico e anti-inflamatório. Alguns cirurgiões plásticos utilizam preparações com doses homeopáticas de arnica por via oral com finalidade de reduzir sangramento intraoperatório e também preparados tópicos para o tratamento de equimoses pós-operatórias (Dinman, 2007).

Ainda no campo dos fitoterápicos, o extrato de cebola é utilizado por muitos cirurgiões plásticos para proporcionar uma cicatriz mais adequada do ponto de vista estético, com menor grau de fibrose e fibroplasia (Karagoz *et al.*, 2009) e menor índice de hiperpigmentação (Horsnuter *et al.*, 2007). O extrato de cebola está disponível para uso clínico em formulação industrial associada a heparina e alantoína em forma de gel para aplicação tópica sobre as cicatrizes.

Outra planta largamente utilizada com finalidade cosmética e no tratamento de feridas é a *Aloe vera*, devido ao seu potencial de hidratação tópica, favorecendo tanto o processo cicatricial quanto o cuidado com a pele (Shahzad e Ahmed, 2013). *Aloe vera* é utilizada em uma infinidade de produtos cosméticos como cremes e xampus, mas também pode ser utilizada in natura, com a aplicação tópica do gel proveniente da folha (Oryan *et al.*, 2019). A literatura científica em cirurgia plástica oferece diversas evidências da utilidade deste produto natural, como no tratamento de queimaduras (Levin *et al.*, 2022) (Akhoondinasab *et al.*, 2005), na cicatrização de áreas doadoras de enxertos cutâneos, acne e cicatrizes hipertróficas (Abbasi *et al.*, 2020) (Zhong *et al.*, 2021) (Fang *et al.*, 2017), (Surakunprapha *et al.*, 2020).

Por fim, o extrato de *Melilotus* é utilizado popularmente como analgésico e anti-inflamatório e alguns cirurgiões plásticos utilizam como tratamento para redução do edema e equimoses pós-operatórios (Xu, Zeng, Mao e Fan, 2008).

### 2.3. O gênero *Piper*

As plantas do gênero *piper*, pertencente à família *Piperaceae* constitui-se de angiospermas que podem se apresentar na forma de arbustos, árvores, ervas ou trepadeiras, com distribuição principal por zonas tropicais de todo o mundo. As plantas do gênero *Piper* são muito utilizadas na gastronomia, como forma de temperos, onde talvez o principal representante seja *Piper nigrum*, planta da qual se produz a pimenta-do-reino, um dos temperos mais antigos e mais utilizados do mundo (Takooree *et al*, 2019). Além das propriedades gastronômicas, as plantas do gênero *Piper*, que só no Brasil apresenta próximo de trezentas espécies, apresentam atividades medicinais em diversas áreas (Salehi *et al.*, 2019).

#### 2.3.1. *Piper vicosanum*

*Piper vicosanum* é um arbusto terrícola nativo e endêmico do Brasil, com ocorrência na Amazônia, no cerrado e na mata atlântica (Guimarães, Medeiros e Queirox, 2022). Assim como as outras plantas do gênero, *P. vicosanum* possui propriedades aromáticas, produzindo óleo essencial estudado por Jussara *et al*, (2011) que evidenciaram sessenta e cinco componentes, sendo limoneno e 1,8 cineol os majoritários.

A literatura científica acerca de *P. vicosanum* é escassa, especialmente no que se refere às ciências da saúde. Estudo conduzido por Hoff Brait *et al.* (2015) testou a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *P. vicosanum*, bem como sua toxicidade. Os autores observaram efeito anti-inflamatório *in vitro* e ausência de genotoxicidade e de mutagenicidade.

Em outro artigo, Leite *et al* (2022) testaram a atividade anti-inflamatória e anti-artrítica do extrato etanólico das folhas de *P. vicosanum*. Os autores verificaram significativa melhora dos parâmetros inflamatórios e redução da hiperalgesia

#### 2.3.2. *Piper amalago*

*Piper amalago* é uma planta arbustiva nativa encontrada na Amazônia, caatinga, cerrado e mata atlântica, popularmente chamada de falso jaborandi e utilizada como analgésico (Guimarães, Medeiros e Queirox, 2022; Silva Arrigo *et al*, 2016).

Um grande estudo de caracterização fitoquímica foi realizado por Santos *et al.* (2018) em que se delinearão os principais metabólitos secundários presentes no óleo essencial das folhas e

caule de *P. amalago*, evidenciando a predominância de monoterpenos e sesquiterpenos, achados semelhantes aos encontrados por Silva *et al.* (2017).

Os principais estudos acerca das possíveis atividades biológicas de *P. amalago* se referem principalmente a ações relacionadas ao sistema nervoso central, ação antimicrobiana ou anti-inflamatória e também efeitos sobre o sistema urinário. A maioria dos estudos relatados na literatura trata-se de estudos experimentais, com uso de animais ou testes *in vitro*.

Um estudo conduzido por Mullally *et al.* (2016) evidenciou atividade ansiolítica do extrato etanólico das folhas de *P. amalago* através de testes neurocomportamentais conduzidos com animais. Os animais foram submetidos a testes validados para avaliação comportamental, demonstrando efeito ansiolítico de *P. amalago* semelhante ao do Diazepam, utilizado como controle positivo. Neste estudo foram realizados os testes de labirinto em cruz elevado, de resposta emocional condicionada, de interação social, com resultados positivos neles todos. Também foi realizado fracionamento guiado por bioensaio que evidenciou deslocamento de 3H-flunitrazepam do receptor GABA-BZD, configurando assim o possível mecanismo de ação ansiolítico deste extrato.

Em contrapartida, outro estudo neuro comportamental conduzido por Lopes *et al.* (2012) encontrou resultados divergentes dos apresentados por Mullally *et al.* (2016). Neste estudo, também conduzido com ratos Wistar, os autores observaram maior tempo de permanência dos animais no braço fechado do labirinto elevado, evidenciando um efeito ansiogênico (Lopes *et al.*, 2012). No entanto, existem diferenças nas metodologias desses dois estudos que podem justificar a divergência dos resultados: enquanto no estudo de Lopes os tratamentos foram administradas por meio de injeção intraperitoneal, no trabalho de Mullally os animais receberam o extrato etanólico das folhas por via oral, adicionados a leite condensado. Além disso, as doses testadas também foram diferentes, sendo 250mg/kg e 420 mg/Kg no estudo de Lopes e 8 mg/kg, 25 mg/kg e 75 mg/kg no estudo de Mullally *et al.* (2016).

Uma revisão realizada por Castañeda *et al.* (2022) também enumera possíveis efeitos de *P. amalago* sobre o sistema nervoso central, provavelmente relacionados ao GABA, serotonina, acetilcolina ou vias neuroprotetoras.

O uso popular medicinal mais comum de *P. vicosanum* no Brasil é como analgésico ou anti-inflamatório e esses efeitos são corroborados em estudos experimentais, com a demonstração de eficácia do extrato etanólico de *P. amalago* na redução da hiperalgesia, com efeito antinociceptivo

e anti-artrítico. Adicionalmente, pode demonstrar que o efeito analgésico e anti-artrítico do extrato etanólicos de *P. amalago* foi semelhante ao da dexametasona (Arrigo et al., 2016).

A atividade anti-inflamatória tópica desta planta também foi testada, utilizando-se o modelo de edema auricular induzido por óleo de cróton. Neste estudo, os autores realizaram a indução do edema com a aplicação do óleo de cróton simultaneamente ao extrato vegetal em estudo e avaliaram a atividade inflamatória através da mensuração do edema auricular, tendo sido reduzido em 19% a 80% nos grupos tratados com extrato etanólico das folhas de *P. vicosanum* (Sosa et al., 2002).

Outro uso popular muito comum de *P. amalago* é como agente antimicrobiano ou antiparasitário. Carrara et al. (2014). atestaram a atividade anti-esquistossomótica in vitro do extrato aquoso de folhas e desta planta, onde observaram 100% de mortalidade dos helmintos com o extrato diclorometano das folhas de *P. amalago* apresentando similaridade com praziquantel, utilizado no estudo como controle positivo. Este mesmo grupo de pesquisa realizou um estudo para avaliar a atividade anti leishmânia de *P. amalago* utilizando os métodos de extração de dióxido de carbono supercrítico e propano comprimido, evidenciando atividade contra ambas as formas, promastigota e amastigota intracelular de Leishmânia amazonenses (Carrara et al., 2011)

Novaes et al. (2013) encontraram relevantes efeitos do extrato etanólico de folhas de *P. amalago* sobre o sistema urinário em estudo experimental conduzido com ratos. Os autores observaram efeito diurético semelhante ao da furosemida que foi utilizado como controle positivo, além de potencial natriurético e caliurético. Neste mesmo estudo os autores realizaram testes in vitro para investigação do potencial antilitiásico deste extrato, encontrando resultados positivos com a diminuição da formação de cristais de oxalato de cálcio, com potencial benefício à prevenção da formação de cálculos urinários. Achados semelhantes, de redução da formação de cristais de oxalato foram encontrados por dos Santos et al. (2018), testando a atividade dos óleos essenciais das folhas e caule de *P. amalago*. Neste estudo os autores observaram maior eficácia do óleo essencial proveniente das folhas para esta finalidade.

O uso tópico de subprodutos de *P. amalago* já foi testado em modelos experimentais, demonstrando atividade anti-inflamatória por esta via de administração (Sosa et al., 2002). Apesar dos relatos do uso popular de *P. amalago* como adjuvante no tratamento de feridas, a literatura é escassa em relação a esta propriedade. Dos Santos (2020) relatam um caso de um paciente com ferimento por serra circular no polegar e portador de diabetes tipo 2 que foi tratado com aplicação tópica de extrato aquoso das folhas de *P. amalago*, evoluindo com boa cicatrização da ferida

Giovannini *et al.* (2017) realizaram um levantamento bibliográfico acerca de espécies vegetais utilizados popularmente para o tratamento de acidentes ofídicos, relatando a utilização de *P. amalago* com esta finalidade. Os autores levantam a possibilidade de que as ações analgésica e anti-inflamatória de *P. amalago* poderiam justificar a sua utilização para o tratamento de acidentes ofídicos.

A toxicidade oral aguda in vivo do óleo essencial de *P. amalago* foi testada por Santos *et al.* (2018) não tendo sido observados sinais de toxicidade após 14 dias de administração de duas doses diferentes de óleo essencial de *P. amalago*. Durante este estudo os autores observaram sinais clínicos de toxicidade nos animais do estudo como alterações comportamentais e do hábito alimentar ou óbitos, bem como avaliação de órgãos e tecidos por biópsia post mortem, não observando alterações em relação ao grupo de controle.

Stein *et al.* (2022) realizaram testes para avaliar a toxicidade subaguda e a genotoxicidade de *P. amalago*, encontrando sinais de toxicidade subaguda. Neste estudo os autores realizaram a administração de extrato etanólico de folhas de *P. amalago* através de gavagem por um período de 28 dias, observando ao final do estudo a redução da contagem de hematócrito, diminuição da albumina sérica, aumento do consumo de água e alimentos e aumento do peso do fígado, baço e rins. Para os testes de genotoxicidade foram realizados os ensaios de cometa e do micronúcleo, não tendo sido observados sinais de genotoxicidade ou mutagenicidade. Os mesmos achados relacionados a genotoxicidade foram relatados por Lopes *et al.* (2012).

### 2.3.3. Piper glabratum

*Piper glabratum*, também conhecida popularmente como pimenta-longa é um arbusto terrícola nativo do Brasil e encontrado na Amazônia, Caatinga, Mata Atlântica e Cerrado e assim como as demais plantas do gênero, *P. glabratum* é utilizada popularmente para o tratamento da dor e inflamação (Guimarães, Medeiros e Queiroz, 2022) (Leitão *et al.*, 2020). Ainda de forma semelhante às outras espécies do gênero, há relatos na literatura de estudos avaliando efeitos analgésico e anti-inflamatório, antiparasitário e diurético de *P. glabratum*.

Branquinho *et al.* (2017) realizaram estudo experimental em que testaram a atividade analgésica e anti-inflamatória do óleo essencial de *P. glabratum*. No estudo os autores realizaram os testes de pleurisia induzida pela carragenina, do edema de pata induzido pela carragenina, de

hiperalgesia mecânica e de sensibilidade térmica induzida pela acetona. Em todos os testes o óleo essencial de *P. glabratum* mostrou resultados positivos, com redução do edema de pata, redução da nocicepção, redução da sensibilidade ao frio e redução da migração leucocitária e do extravasamento de proteínas no modelo de pleurisia. Todos os efeitos observados foram doze dependentes. Outro estudo semelhante observou resultados ainda mais positivos, em algumas situações até superiores ao uso de dexametasona utilizada como controle positivo (Guimarães, Medeiros e Queiroz, 2022).

Um estudo conduzido por Flores *et al.* (2008) testou diversos derivados do ácido benzoico originários de duas espécies de *Piper*, entre elas *P. glabratum*, tendo observado atividade anti leishmânia, anti tripanossoma e anti plasmódio em alguns desses compostos.

A ação de *P. glabratum* sobre o sistema urinário foi testada em um estudo conduzido por Prando *et al.* (2014) em que testaram a atividade diurética do extrato metanólico de raízes de *P. glabratum* e de uma amida pirrolidina derivada desta planta. Os achados deste estudo evidenciam atividade diurética da amida pirrolidina, com aumento do volume e do pH urinário, embora o mesmo efeito não tenha sido observado com o extrato metanólico.

Existem relatos divergentes na literatura acerca da toxicidade de *P. glabratum*. No estudo conduzido por Prando *et al.*, relatam achados compatíveis com toxicidade hepática aguda com o óleo essencial de *P. glabratum*, com uma DL50 de 2426,216 mg/kg em fêmeas e acima de 3000 mg/kg em machos<sup>95</sup>. No entanto, em dois estudos, utilizando óleo essencial e extrato etanólicos, os autores não observaram sinais de toxicidade aguda e relatam DL50 acima de 5000 mg/kg, embora no estudo com o extrato etanólicos os autores tenham observado sinais fugazes de depressão do sistema nervoso central após a administração do extrato (Branquinho *et al.*, 2017) (Flores *et al.*, 2017)

#### 2.4. Oxigenação hiperbárica:

A oxigenação hiperbárica (OHB) consiste no fornecimento de um ambiente com concentração de 100% de oxigênio, sob pressão supra-atmosférica, habitualmente de 2 ATM (Chantre et al., 2018). Este tipo de terapia foi originalmente concebido para o tratamento de condições associadas a descompressão, como a doença descompressiva dos mergulhadores (Sen e Sen, 2021), mas ao longo do tempo despertou interesse em outras áreas da Medicina, como para o tratamento de feridas agudas e crônicas, melhora da perfusão tecidual e aumento do desempenho esportivo (Set e Lenasi, 2023). Hoje as indicações para OHB incluem ampla variedade de condições clínicas, como embolia gasosa, intoxicação por monóxido de carbono, infecções por anaeróbios, síndrome do esmagamento, doença descompressiva, insuficiência arterial, alguns tipos de anemias, osteomielite crônica, retalhos isquêmicos e queimaduras (Kirby *et al.*, 2019)

Dessa forma, a literatura científica apresenta vasto material acerca da oxigenação hiperbárica, abordando os mais variados temas e propriedades. Iremos enfatizar aqui os temas de maior interesse na cirurgia plástica reparadora.

O processo de cicatrização de feridas envolve um aumento no gasto energético e nas demandas nutricionais dos tecidos em processo de reparação. Desta forma, a oferta adicional de oxigênio ocasionada pela OHB teoricamente irá favorecer o processo cicatricial (Tejada *et al.*, 2019). Além da simples entrega de oxigênio adicional, a OHB ainda estimula a angiogênese, a síntese de colágeno, migração de células-tronco e melhora da resposta imune no leito da ferida (Berner, Videal, Will e Castillo, 2014).

Um estudo randomizado com pacientes com úlcera diabética observou melhora da cicatrização e redução do tempo de cicatrização com a adição da oxigenação hiperbárica ao tratamento convencional (Nik Hisamuddin *et al.*, 2019). Outro estudo com pacientes portadores de úlceras diabéticas observou maior probabilidade de resolução total da ferida, menor risco de amputação, melhora dos parâmetros de inflamação, fluxo sanguíneo e de qualidade de vida em pacientes tratados com 5 sessões semanais de 120 minutos de oxigenação a 100% a 2,5 ATM (Chen *et al.*, 2017).

Diversos estudos experimentais apontam para um aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos com a implementação de OHB associada aos cuidados habituais. Rech *et al.* (2015)

observaram, além da melhora da sobrevida dos retalhos, aumento no teor de colágeno na ferida operatória em um modelo animal de retalho cutâneo.

Weber *et al.* (2018) realizaram uma comparação entre OHB diária ou duas vezes ao dia na melhora da sobrevivência de retalhos randômicos em um modelo animal, tendo observado melhora significativa com ambos os protocolos de OHB em comparação ao controle, mas sem diferença entre os dois protocolos.

Há relato na literatura de utilização da OHB como procedimento de salvação para retalhos congestos. A congestão venosa é um dos principais causadores de necrose dos retalhos, uma vez que a insuficiência venosa leva ao aumento da pressão de perfusão que por sua vez causa interrupção do fluxo sanguíneo e necrose tecidual. Park *et al.* (2022) relatam um caso de paciente com congestão venosa em retalho livre confeccionado para reconstrução mamária que não evoluiu para necrose devido ao tratamento com OHB.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Testar a eficácia de extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum* na redução da necrose cutânea e na cicatrização das feridas em modelo de ferimentos descolantes em ratos Wistar.

#### 3.2. Objetivos específicos

Avaliar o potencial de redução de necrose cutânea em modelo de ferimentos descolantes em ratos Wistar com o uso de extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum*.

Testar o efeito cicatrizante dos extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum*.

Analisar a ação na reepitelização dos ferimentos descolantes dos extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum*.

Mensurar o potencial na redução do infiltrato inflamatório e suas características após uso dos extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum*.

Estudar as características da matriz extracelular presente nas feridas em cicatrização com o uso dos extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum*.

Analisar o efeito dos extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum* na angiogênese no modelo de ferimentos descolantes em ratos Wistar.

Comparar os efeitos dos extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum* com a oxigenação hiperbárica na redução de necrose e cicatrização de feridas no modelo de ferimentos descolantes em ratos Wistar.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, M. S. et al. Efficacy of a Natural Topical Skin Ointment for Managing Split-Thickness Skin Graft Donor Sites: A Pilot Double-blind Randomized Controlled Trial. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 33, n. 7, p. 1-5, jul. 2020.

ABUSHUKUR, Y. et al. Improving Breast Surgery Outcomes Through Alternative Therapy: A Systematic Review. **Cureus**, v. 14, n. 3, e23443, mar. 2022.

AKHOONDINASAB, M. R. et al. Assessing the effect of three herbal medicines in second and third-degree burns in rats and comparison with silver sulfadiazine ointment. **Burns**, v. 41, n. 1, p. 125-131, fev. 2015.

ANDRADE, S. M.; SANTOS, I. C. Hyperbaric oxygen therapy for wound care. **Revista Gaucha de Enfermagem**, v. 37, n. 2, e59257, jun. 2016. Inglês, Português.

AZMAT, C. E.; COUNCIL, M. **Wound Closure Techniques**. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. 2022. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532872/..](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532872/)

BENNETT, J. E. Grafts and flaps. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Baltimore, v. 83, n. 1, p. 194, jan. 1989. DOI: 10.1097/00006534-198901000-00049.

BURUSAPAT, C. et al. Topical Aloe Vera Gel for Accelerated Wound Healing of Split-Thickness Skin Graft Donor Sites: A Double-Blind, Randomized, Controlled Trial. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 142, n. 1, p. 217-226, jul. 2018

BERGAMASCO, E. C.; GRIPPAUDO, F. R. Epidemiological study of degloving injuries at the Veterinary Hospital of the University of São Paulo - 109 cases. **Journal of Veterinary Science**, v. 12, n. 2, p. 159-163, 2011.

BIANCHI, J. The cleansing of superficial traumatic wounds. **British Journal of Nursing**, v. 9, n. 19 Suppl, p. S28, S30, S32 passim, out. 2000. DOI: 10.12968/bjon.2000.9.Sup3.12484. PMID: 12271240.

BRANQUINHO, L. S. et al. Anti-inflammatory and toxicological evaluation of essential oil from *Piper glabratum* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 198, p. 372-378, fev. 2017.

CARRARA, V. S. et al. HPLC analysis of supercritical carbon dioxide and compressed propane extracts from *Piper amalago* L. with antileishmanial activity. **Molecules**, v. 17, n. 1, p. 15-33, dez. 2011

CARRARA, V. S. et al. In vitro schistosomicidal effects of aqueous and dichloromethane fractions from leaves and stems of *Piper* species and the isolation of an active amide from *P. amalago* L. (Piperaceae). **Journal of Helminthology**, v. 88, n. 3, p. 321-326, set. 2014.

- CHANTRE, C. et al. L'oxygénothérapie hyperbare, une discipline peu connue [Hyperbaric oxygen therapy, a little-known discipline]. **Revue Infirmière**, v. 67, n. 242, p. 14-15, jun-jul. 2018.
- CHEN, C. Y. et al. Adjunctive Hyperbaric Oxygen Therapy for Healing of Chronic Diabetic Foot Ulcers: A Randomized Controlled Trial. **Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing**, v. 44, n. 6, p. 536-545, nov-dez. 2017.
- CEN, H. et al. Clinical decision model for the reconstruction of 175 cases of scalp avulsion/defect. **American Journal of Otolaryngology**, v. 42, n. 1, p. 102752, jan./fev. 2021. DOI: 10.1016/j.amjoto.2020.102752. Epub 2020 Oct 18.
- CHENG, L.; CHAI, Y. [Treatment progress of extremity skin avulsion]. **Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi**, v. 24, n. 6, p. 758-760, jun. 2010. Chinês. PMID: 20632517.
- DOS SANTOS, V. L. P. et al. The wound healing effect of aqueous extract from Piper amalago L. in diabetic patient. **Explore**, v. 16, n. 6, p. 368-371, nov-dez. 2020.
- EIRINI, G. et al. Motor vehicle - pedestrian occupational accident: A case report study. **Soudní Lékařství (Forensic Medicine)**, v. 67, n. 1, p. 3-6, primavera 2022.
- EDWARDS, R.; HARDING, K. G. Bacteria and wound healing. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 91-96, abr. 2004.
- FLORES, N. et al. Benzoic acid derivatives from Piper species and their antiparasitic activity. **Journal of Natural Products**, v. 71, n. 9, p. 1538-1543, set. 2008.
- GIOVANNINI, P.; HOWES, M. R. Medicinal plants used to treat snakebite in Central America: Review and assessment of scientific evidence. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 199, p. 240-256, mar. 2017.
- GUIMARÃES, E. F.; MEDEIROS, E. V. S. S.; QUEIROZ, G. A. Piper in Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12782>. Acesso em: 30 nov. 2022.
- JUNIOR, A. J. et al. Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Ethanolic Extract of Piper vicosanum Leaves. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 11, 2455, nov 14, 2022.
- HARRIES, R. L. et al. Wound bed preparation: TIME for an update. **International Wound Journal**, v. 13, Suppl 3, p. 8-14, set. 2016
- HSU, K. F. et al. Negative-pressure wound therapy combined with artificial dermis (Terudermis) followed by split-thickness skin graft might be an effective treatment option for wounds exposing tendon and bone: A retrospective observation study. **Medicine (Baltimore)**, v. 100, n. 14, e25395, 9 abr. 2021.

- KEIM, A.; MARINUCCI, J. Making better wound management decisions. **Jornal da Academia Americana de Assistentes Médicos (JAAPA)**, v. 32, n. 4, p. 15-22, abr. 2019.
- KIRBY, J. P. et al. Essentials of Hyperbaric Oxygen Therapy: 2019 Review. **Missouri Medicine**, v. 116, n. 3, p. 176-179, mai-jun. 2019.
- KIM, J.; SIMON, R. Calculated Decisions: Wound Closure Classification. **Pediatric Emergency Medicine Practice**, v. 14, Suppl 10, p. 1-3, set. 2018..
- LATIFI, R. et al. The therapeutic challenges of degloving soft-tissue injuries. **Journal of Emergency Trauma and Shock**, v. 7, n. 3, p. 228-232, jul. 2014.
- LEITÃO, M. M. et al. Effects of an ethanolic extract and fractions from Piper glabratum (Piperaceae) leaves on pain and inflammation. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 117, p. 104762, nov. 2020.
- LEKUYA, H. M. et al. Degloving injuries with versus without underlying fracture in a sub-Saharan African tertiary hospital: a prospective observational study. **Journal of Orthopaedic Surgery Research**, v. 13, n. 1, p. 2, jan. 2018.
- LEVIN, L. S. The reconstructive ladder. An orthoplastic approach. **Orthopedic Clinics of North America**, v. 24, n. 3, p. 393-409, jul. 1993.
- LI H, ZHANG F, LEI G. Morel-Lavallee lesion. **Chin Med J (Engl)**. 2014;127(7):1351-6. PMID: 24709193.
- MENON, D. N. et al. Effects of heparin and hyperbaric oxygenation on necrosis reduction in an animal model for degloving injuries. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 1, p. 64-71, jan./fev. 2017.
- MCGOWAN, S. P.; FALLAHI, A. K. M. Degloving Injuries. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK573464/>.
- MOHAPATRA, D. P.; THIRUVOTH, F. M. Reconstruction 2.0: Restructuring the Reconstructive Ladder. **Cirurgia Plástica e Reconstructiva**, v. 147, n. 3, p. 572e-573e, mar. 2021.
- NELSON, J. M.; SAWYER, M. A. Degloving injury from a helicopter rotor strike. **Military Medicine**, v. 160, n. 12, p. 644-645, dez. 1995.
- SINGH, R. et al. The Morel-Lavallée lesion and its management: A review of the literature. **Journal of Orthopaedics**, v. 15, n. 4, p. 917-921, ago. 2018.
- SIMMAN, R. Wound closure and the reconstructive ladder in plastic surgery. **Journal of the American College of Certified Wound Specialists**, v. 1, n. 1, p. 6-11, maio 2009.

SIMMAN, R.; ABBAS, F. T. Foot Wounds and the Reconstructive Ladder. **Plástica e Reconstructiva Global Aberta**, v. 9, n. 12, e3989, 27 dez. 2021.

SORG, H. et al. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. **European Surgical Research**, v. 58, n. 1-2, p. 81-94, 2017.

TEOT, L.; OHURA, N. Challenges and Management in Wound Care. **Cirurgia Plástica e Reconstructiva**, v. 147, n. 1S-1, p. 9S-15S, jan. 2021.

VAZQUEZ, M. P. et al. Plaies et traumatismes de la face de l'enfant [Facial trauma and injury in children]. **Annales de Chirurgie Plastique Esthétique**, v. 61, n. 5, p. 543-559, out. 2016. French.

VEENA, P. W. et al. Degloving injuries of the abdominal wall. **Journal of Wound Care**, v. 22, n. 10, p. 562-568, out. 2013.

YAN, H. et al. The management of degloving injury of lower extremities: technical refinement and classification. **Jornal de Trauma e Cirurgia de Cuidados Agudos**, v. 74, n. 2, p. 604-610, fev. 2013.

SNYDER, C. C. On the history of the suture. **Cirurgia Plástica e Reconstructiva**, v. 58, n. 4, p. 401-406, out. 1976.

BURUSAPAT, C. et al. Topical Aloe Vera Gel for Accelerated Wound Healing of Split-Thickness Skin Graft Donor Sites: A Double-Blind, Randomized, Controlled Trial. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 142, n. 1, p. 217-226, jul. 2018

DA SILVA ARRIGO, J. et al. Anti-nociceptive, anti-hyperalgesic and anti-arthritis activity of amides and extract obtained from Piper amalago in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 179, p. 101-109, 2016. Epub 2015 Dec 23. PMID: 26723468.

DA SILVA, J. K. et al. Essential oils from Neotropical Piper species and their biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, 2571, 2017.

DINMAN, S. **Arnica**. **Plast Surg Nurs**, v. 27, n. 1, p. 52-53, jan./mar. 2007.

FANG, Q. Q. et al. The Effectiveness of Topical Anti-scarring Agents and a Novel Combined Process on Cutaneous Scar Management. **Current Pharmaceutical Design**, v. 23, n. 15, p. 2268-2275, 2017.

GUIMARÃES, E. F.; MEDEIROS, E. V. S. S.; QUEIROZ, G. A. Piper in Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12735>. Acesso em: 10 nov. 2022.

GUIMARÃES, E. F.; MEDEIROS, E. V. S. S.; QUEIROZ, G. A. Piper in Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB20323>. Acesso em: 10 nov. 2022.

HIERNER, R. et al. Die Décollementverletzung im Bereich der unteren Extremität [Degloving injuries of the lower limb]. **Unfallchirurg**, v. 112, n. 1, p. 55-62; quiz 63, jan. 2009. German.

HOSNUTER, M. et al. The effects of onion extract on hypertrophic and keloid scars. **Journal of Wound Care**, v. 16, n. 6, p. 251-254, jun. 2007.

JEROME, D. Advances in negative pressure wound therapy: the VAC instill. **Journal of Wound, Ostomy, and Continence Nursing**, v. 34, n. 2, p. 191-194, mar./abr. 2007.

KHAN, A. T.; TAHMEEDEULLAH; OBAIDULLAH. Degloving injuries of the lower limb. **Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan**, v. 14, n. 7, p. 416-418, jul. 2004.

LEVIN, N. J. et al. A Systematic Review and Meta-Analysis Comparing Burn Healing Outcomes Between Silver Sulfadiazine and Aloe vera. **Cureus**, v. 14, n. 10, e30815, out. 2022.

LOPKES, J. J. et al. Neurobehavioral and toxicological activities of two potentially CNS-acting medicinal plants of Piper genus. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 1-2, p. 9-14, jan. 2012.

LOSKOTOVÁ, A. et al. Myofascial-manual lymphatic drainage for burn trauma: a service evaluation. **British Journal of Community Nursing**, v. 22, Suppl 5, p. S6-S12, maio 2017.

LUSSIGNOLI, S. Effect of Traumeel S, a homeopathic formulation, on blood-induced inflammation in rats. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 7, n. 4, p. 225-230, 1999.

MALVEZZI, L. et al. The correlation between three methods of skin perfusion pressure measurement: radionuclide washout, laser Doppler flow, and photoplethysmography. **Journal of Vascular Surgery**, v. 15, n. 5, p. 823-829; discussion 829-30, maio 1992.

MESQUITA, J. M. O. et al. Essential Oil Constituents of Piper vicosanum Yunker from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Essential Oil Research**, p. 392-395, nov. 2011.

MILCHESKI, D. A. et al. Experimental model of degloving injury in rats: effect of allopurinol and pentoxifylline in improving viability of avulsed flaps. **Annals of Plastic Surgery**, v. 70, n. 3, p. 366-369, mar. 2013.

NIK HISAMUDDIN, N. A. R. et al. Use of hyperbaric oxygen therapy (HBOT) in chronic diabetic wound - A randomised trial. **Medical Journal of Malaysia**, v. 74, n. 5, p. 418-424, out. 2019.

NOVAES, A. S. et al. Diuretic and antilithiasic activities of ethanolic extract from Piper amalago (Piperaceae). **Phytomedicine**, v. 21, n. 4, p. 523-528, mar. 2014.

ORYAN, A. et al. Healing potential of injectable Aloe vera hydrogel loaded by adipose-derived stem cell in skin tissue-engineering in a rat burn wound model. **Cell and Tissue Research**, v. 377, n. 2, p. 215-227, ago. 2019.

PATEL, N. et al. Utilization and perception of integrative medicine among plastic surgery patients. **Annals of Plastic Surgery**, v. 78, p. 557-561, 2017.

PARK, S. SK. et al. Superior gluteal artery perforator flap salvaged via hyperbaric oxygen therapy. **BMJ Case Reports**, v. 15, n. 3, e248411, mar 29, 2022.

PRANDO, T. B. et al. Amides from Piper as a Diuretic: Behind the Ethnopharmacological Uses of Piper glabratum Kunth. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 615109, jul. 2014.

PIETRONI, P. C. Beyond the boundaries: relationship between general practice and complementary medicine. **BMJ**, v. 305, n. 6853, p. 564-566, set. 1992.

QU, J. et al. Antibacterial adhesive injectable hydrogels with rapid self-healing, extensibility and compressibility as wound dressing for joints skin wound healing. **Biomaterials**, v. 183, p. 185-199, nov. 2018. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2018.08.044. Epub 2018 Aug 24. PMID: 30172244.

RECH, F. V. et al. Action of hyperbaric oxygenation in the rat skin flap. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 235-241, abr. 2015.

SEN, S.; SEN, S. Therapeutic effects of hyperbaric oxygen: integrated review. **Medical Gas Research**, v. 11, n. 1, p. 30-33, jan-mar. 2021.

ŠET, V.; LENASI, H. Does Hyperbaric Oxygenation Improve Athletic Performance? **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 37, n. 2, p. 482-493, fev. 2023.

SHIN, T. M.; BORDEAUX, J. S. The role of massage in scar management: a literature review. **Dermatologic Surgery**, v. 38, n. 3, p. 414-423, mar. 2012.

SALEHI, B. et al. Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. **Molecules**, v. 24, n. 7, 1364, 2019.

SOSA, S. et al. Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 2, p. 211-215, jul. 2002.

SHAHZAD, M. N.; AHMED, N. Effectiveness of Aloe Vera gel compared with 1% silver sulfadiazine cream as burn wound dressing in second-degree burns. **Journal of the Pakistan Medical Association**, v. 63, n. 2, p. 225-230, fev. 2013.

SHARMA, S. et al. Second-Degree Burns and Aloe Vera: A Meta-analysis and Systematic Review. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 35, n. 11, p. 1-9, nov. 2022.

SHIN, T. M.; BORDEAUX, J. S. The role of massage in scar management: a literature review. **Dermatologic Surgery**, v. 38, n. 3, p. 414-423, mar. 2012. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2011.02201.x. Epub 2011 Nov 7.

- STEIN, J. et al. Evaluation of the safety of ethanolic extract from Piper amalago L. (Piperaceae) leaves in vivo: Subacute toxicity and genotoxicity studies. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 129, 105118, mar. 2022.
- Sung C, Wang S, Hsu J, Yu R, Wong AK. Current Understanding of Pathological Mechanisms of Lymphedema. **Adv Wound Care (New Rochelle)**. 2022 Jul;11(7):361-373. doi: 10.1089/wound.2021.0041. Epub 2021 Nov 25. PMID: 34521256; PMCID: PMC9051876.
- SUSSMAN, C. Managing wound care. Utilization management ensures optimal clinical outcomes. **Rehabilitation Management**, v. 11, n. 3, p. 40-41, 131, abr./maio 1998.
- SURAKUNPRAPHA, P. et al. A Prospective Randomized Double-blind study of silicone gel plus Herbal Extracts Versus Placebo in Pre-sternal hypertrophic scar prevention and amelioration. **Heliyon**, v. 6, n. 5, e03883, 2020.
- TAKOOREE, H. et al. A systematic review on black pepper (Piper nigrum L.): from folk uses to pharmacological applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, sup1, p. S210-S243, 2019.
- TEJADA, S. et al. Therapeutic Effects of Hyperbaric Oxygen in the Process of Wound Healing. **Current Pharmaceutical Design**, v. 25, n. 15, p. 1682-1693, 2019..
- WEINZWEIG, J. **Plastic Surgery Secrets**. Philadelphia, PA: Hanley & Belfus, 1999.
- WEBER, R. et al. Random flap survival with hyperbaric oxygen: daily versus twice-daily treatments. **Undersea & Hyperbaric Medicine**, v. 45, n. 2, p. 157-164, mar-abr. 2018.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Traditional Medicine Strategy 2002 - 2005**. Geneva: OMS, 2002.
- XU, F. et al. The efficacy of melilotus extract in the management of postoperative ecchymosis and edema after simultaneous rhinoplasty and blepharoplasty. **Aesthetic Plastic Surgery**, v. 32, n. 4, p. 599-603, jul. 2008.
- YAN, H. et al. Management of degloving injuries of the foot with a defatted full-thickness skin graft. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, v. 95, n. 18, p. 1675-1681, 18 set. 2013. DOI: 10.2106/JBJS.L.01085. PMID: 24048555.
- ZHONG, H. et al. Efficacy of a New Non-drug Acne Therapy: Aloe Vera Gel Combined With Ultrasound and Soft Mask for the Treatment of Mild to Severe Facial Acne. **Frontiers in Medicine**, v. 8, 662640, 2021.

## **5. APÊNDICE:**

5.1. Artigo: Effect of ethanolic extracts from Piperaceae leaves on the reduction of skin necrosis and wound healing in an animal model of degloving injuries.



## Effect of ethanolic extracts from *Piperaceae* leaves on the reduction of skin necrosis and wound healing in an animal model of degloving injuries

Douglas Neumar Menon<sup>1,2\*</sup>, Igor de Almeida Balduino Leite<sup>1</sup>, Maria Theresa de Alencar Ramsdorf<sup>1</sup>, Lavínia dos Santos Chagas<sup>1</sup>, Sahra Amaral Arroyo<sup>1</sup>, Ariany Carvalho dos Santos<sup>1</sup>, Candida Aparecida Leite Kassuya<sup>1</sup>, Jonas da Silva Mota<sup>3</sup>, Marcio Eduardo de Barros<sup>1</sup>

1. Universidade Federal da Grande Dourados – Health Science Department – Dourados (MS) – Brazil.
2. Universidade Federal da Grande Dourados – General Surgery – Dourados (MS) – Brazil.
3. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – Chemistry Department – Dourados (MS) – Brazil.

### ABSTRACT

**Purpose:** To assess the effect of the ethanolic extract of the leaves of three species of plants from the *Piperaceae* family on reducing necrosis and enhancing wound healing in an animal model of degloving injuries. **Methods:** The animals were divided into six groups, each consisting of six animals: sham, negative control, EEPA (Piper *amalago* ethanolic extract), EEPG (Piper *glabratum* ethanolic extract), EEPV (Piper *vicosanum* ethanolic extract), and positive control receiving hyperbaric oxygenation. The animals underwent surgery to induce excision wounds, and the extent of cutaneous necrosis was evaluated using graphic software, while wound healing was assessed through histopathology. **Results:** Skin necrosis percentage area was: sham group = 62.84% 6.38; negative control group = 63.03% 4.11; P. *vicosanum* = 40.80% 4.76 p < 0.05; P. *glabratum* 32.97% 4.01 p < 0.01; P. *amalago* = 32.40% 4.61 p < 0.01; hyperbaric oxygenation = 33.21% 4.29 p < 0.01. All treated groups showed higher collagen deposition and less intense, plus predominantly mononuclear inflammatory infiltrate, suggesting improved healing process. **Conclusions:** The three tested extracts demonstrated efficacy in reducing the extent of cutaneous necrosis caused by degloving injuries and also showed evidence of improvement in the wound healing process.

**Key words:** Degloving Injuries. Ethnopharmacology. Skin. Wound Healing.

## Introduction

Degloving injuries are most often caused by high-impact trauma, such as running over<sup>1</sup>. One of the mechanisms most frequently associated with degloving injuries is the gripping and rotation system, in which a body part is trapped between the vehicle wheel and the ground. In this case, friction with the moving wheel causes the skin to detach from the deep planes, leading to degloving, which can occur in the subcutaneous, subfascial, submuscular planes or even in multiple planes<sup>2</sup>. For these reasons, the association of degloving with trauma of multiple tissues, such as bone fractures, nerve and muscle injuries and crush syndrome are also common<sup>3</sup>. Thus, degloving injuries constitute a unique category of trauma because they present multiple morbidity mechanisms: the wound itself, leading to the continuity solution, tissue trauma, loss of skin coverage, devitalization of tissues, leading to increased likelihood of infection and reperfusion injury<sup>4</sup>.

Tissue necrosis can occur by different pathophysiological mechanisms, such as ischemia or venous congestion<sup>5</sup>. In the case of ischemia, cell death occurs purely and simply due to the oxygenation deficit caused by the lack of arterial blood in the affected tissue. However, necrosis occurs much more frequently due to local venous congestion<sup>6</sup>. As the arterial flow

\*Corresponding author: dougmenon@hotmail.com

Received: Aug 16, 2023 | Accepted: Sept 24, 2023

Research performed at Postgraduate Program in Health Science, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados (MS), Brazil. Part of Doctor Degree, Postgraduate Program in Health Science. Tutor: Prof. Dr. Marcio Eduardo de Barros.



relies on the head of pressure, caused by ventricular systole, the arrival of arterial blood to tissues is normally easier even in partially devascularized tissues. That is the case of degloving injuries or random skin flaps. Venous return, in turn, does not rely on an active pumping by the heart, occurs passively and it is, therefore, more susceptible to total or partial flow interruptions<sup>7</sup>.

The fact that the wall of venous vessels is devoid of a muscular layer provides it less structural rigidity when compared to arteries, and this characteristic favors the occurrence of partial obstructions to venous drainage, due to torsion, traction or compression, narrowing the lumen of affected vessels. This condition of venous hypoflow generates accumulation of venous blood in the tissue, which generates a system of local venous hypertension, leading to vascular leakage into the interstice, further increasing the perfusion pressure that can culminate in tissue hypoperfusion at the time in which the perfusion pressure exceeds the intraluminal pressure of arteries and arterial capillaries, responsible for tissue nutrition. Similarly, any situation that leads to increased edema tends to worsen the perfusion pressure ratio, facilitating the occurrence of necrotic phenomena, a situation in which inflammation plays a relevant role. Usually, these mechanisms do not occur in isolation, especially in cases of traumatic degloving injuries, but rather there is a combination of all these conditions (ischemia, venous congestion, and inflammation/edema) reciprocally feeding each other, generating a vicious cycle in which venous hypoflow generates tissue hypoperfusion, which worsens inflammation and edema, making venous return even more difficult, culminating in the unfavorable outcome of tissue death<sup>8</sup>.

Reconstructive surgery often makes use of skin flaps with random vascularization, a situation in which there may be ischemic involvement of tissues. Therefore, the search for compounds or treatments that can improve the viability of these tissues becomes remarkably interesting, either by increasing blood circulation or by reducing inflammation resulting from tissue trauma<sup>9</sup>. It is difficult to homogenize a study group with human patients with degloving injuries due to the diversity of presentation of this type of injury. On the other hand, the low incidence of necrosis in surgically designed skin flaps makes the sample universe required for this type of study to be quite large, making clinical research in this area difficult.

In the meantime, studies with animal models have emerged as a useful tool in the search for adjuvant solutions in cases of ischemic flaps, whether surgical or traumatic. Thus, some animal models have been proposed with the aim of making this type of research possible, with emphasis on the dorsal flap suggested by McFarlane et al.<sup>10</sup> and the paw degloving model described by Milcheski et al.<sup>11</sup>. The implementation of measures that can reduce the possibility of necrosis in flaps with questionable vascularization has several advantages in the field of reconstructive surgery, as it allows carrying out less aggressive treatments in cases of traumatic degloving injuries, reducing the possibility of tissue necrosis in random or even axial flaps, improving wound healing, and reducing the possibility of infections<sup>12</sup>.

Over the years, plants of the genus piper have been used as alternative treatment for toothaches, diarrhea, burns, bronchitis, infections and as wound dressing<sup>13</sup>. The genus Piper, of the *Piperaceae* family, is found in tropical and subtropical regions and comprises about 2,000 species. These plants are used worldwide for food and medicinal purposes<sup>14</sup>. Studies have shown that the genus Piper has antioxidant and anti-inflammatory effects on oxidative damage in several diseases<sup>15</sup>. The species of this genus are erect or climbing herbs, shrubs or rarely trees and have great economic and medicinal importance<sup>16</sup>. The popular use of *Piperaceae* for antibiotic, anti-inflammatory and healing purposes, as demonstrated by Durant et al.<sup>17</sup>, has encouraged studies on the activity of these plants in the treatment of degloving injuries, a situation in which these three characteristics can synergistically contribute to bring about beneficial results, as demonstrated by Myers<sup>18</sup>.

Thus, this study aimed to evaluate the effect of three plant species of the *Piperaceae* family on the reduction of tissue necrosis in an animal model of degloving injuries, based on its popular use as a healing agent in the treatment of injuries.

## ■ Methods

This is an experimental study using adult Wistar rats from the animal facility of the Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), kept under a 12-hour light/dark cycle at constant temperature of 21°C with food and water ad libitum

since the beginning of experiments until the day of euthanasia. The present study received approval from the ethics committee for the use of animals, under protocol number 32/2019.

### Plant materials

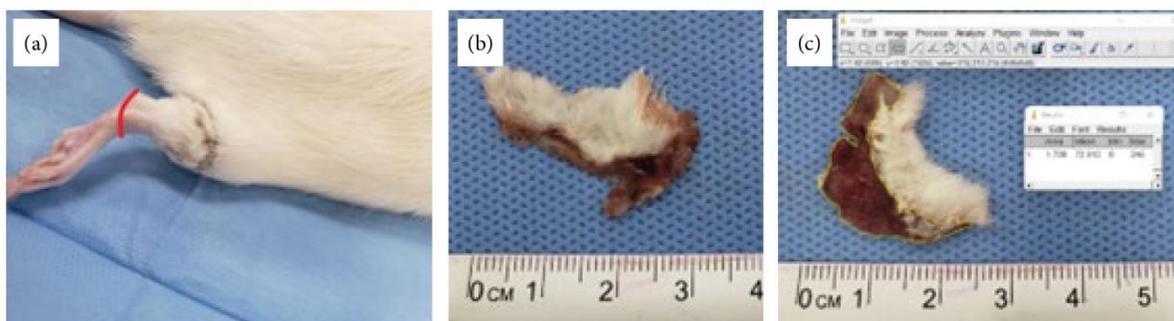
All species used in this study were collected in the municipality of Dourados, MS, Brazil, in the respective geographic coordinates: *P. vicosanum* Yunck. (22°12'37.8"S; 54°55'02.6"W), *P. amalago* L. (22°12'42.9"S; 54°54'55.6"W) and *P. glabratum* (Kunth) Steud. (22°12'37.7"S; 54°55'03.2"W). Identification was conducted by Elsie Franklin Guimarães, from the Research Institute of the Botanical Garden of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Specimens of each species were produced and deposited at the UFGD herbarium under the respective numbers: *P. vicosanum* (DDMS 4411), *P. amalago* (DDMS 4410) and *P. glabratum* (DDMS 4412). All plant names have been checked with <http://www.theplantlist.org> on June 8th, 2023.

### Extraction

*Piper glabratum* (1430 g), *Piper amalago* (816 g) and *Piper vicosanum* (1,100 g) leaves were dried at room temperature and subsequently submitted to three extractions by maceration in 92% ethanol, and then the extract was submitted to concentration in rotary evaporator. The extract was then dried in a hood, resulting in 203 g of *Piper glabratum* ethanolic extract (EPG) (14.19% yield), 34.27 g of *Piper amalago* ethanolic extract (EEPA) (4.2% yield) and 52.8 g of *Piper vicosanum* ethanolic extract (EEPV) (4.8% yield).

### Surgical procedure

All animals underwent surgery to induce degloving injuries in the right hind limb, according to the model proposed by Milcheski *et al.*<sup>11</sup> under general anesthesia with protocol of 60 mg/kg ketamine associated with 10 mg/kg xylazine intramuscularly applied to the left hind limb. After confirming the anesthetic plane by suppressing the corneal-palpebral reflex, the injury was induced by circumcission of the skin at the base of the limb up to the fasciocutaneous plane and subsequent traction of the flap with Allis-type gripping surgical clamps, resulting in unglowing of the limb to the level of the ankle joint. The resulting flap was then repositioned in its site of origin and sutured with 5 mononylon, thus creating a reverse and random blood flow flap (Fig. 1a).



Source: Elaborated by the authors.

**Figure 1** – Flaps obtained after surgical procedure. (a) Repositioned flap showing necrosis on the 7<sup>th</sup> postoperative day. The red line represents the caudal limit of the degloving injury; (b) Example of flap obtained after euthanasia, showing the presence of tissue necrosis. (c) Image exemplifying the measurement of the necrotic area using the ImageJ software, with result in cm<sup>2</sup>.

### Drug administration:

Groups were randomly divided with six animals each: negative control group, sham group, positive control group, group treated with daily sessions of hyperbaric oxygenation (HO) with 100% O<sub>2</sub> and 2 ATM pressure<sup>12</sup>, and study groups, which

Effect of ethanolic extracts from *Piperaceae* leaves on the reduction of skin necrosis and wound healing in an animal model of degloving injuries

respectively received: ethanolic extract from Piper *vicosanum* leaves (EEPV), ethanolic extract from Piper *glabratum* leaves (EEPG) and ethanolic extract from Piper *amalago* leaves (EEPA). Animals, with average age of 30 days and average weight of 280 g, received the respective treatments, as shown in Table 1.

**Table 1** – Summary of treatments administered according to groups.

Group (n = 6)	Treatment	Dose/route of administration
Control	0.9% Saline solution	1 mL/day – gavage
Sham	Only making the skin flap	-
Positive control	HO	30 minutes daily
Piper <i>vicosanum</i>	EEPV	300 mg/kg – gavage
Piper <i>amalago</i>	EEPA	100 mg/kg – gavage
Piper <i>glabratum</i>	EEPG	300 mg/kg – gavage

EEPA: Piper *amalago* ethanolic extract; EEPG: Piper *glabratum* ethanolic extract. EEPV: Piper *vicosanum* ethanolic extract; HO: hyperbaric oxygenation. Source: Elaborated by the authors.

Plant extracts were administered through gavage, diluted in 0.9% saline solution, totaling a volume of 1 mL. Animals from the control group received 1 mL of saline solution also by gavage, and animals from the positive control group were submitted to daily sessions of hyperbaric oxygenation with 100% oxygen at 2 ATM pressure in hyperbaric chamber specifically designed for animals<sup>9</sup>. The doses of respective treatments were defined based on data from literature, and doses with the best response and fewest side effects were chosen.

Animals were daily monitored with the administration of the respective treatments according to the study protocol until the seventh postoperative day, when euthanasia was performed through overdose of 100 mg/kg ketamine and 50 mg/kg xylazine, associated with exsanguination by cardiac puncture.

### *Skin necrosis measurement*

After euthanasia, skin flaps were removed, flattened, and photographed against a blue background (Fig. 1b). The measurement of the total area and macroscopic damaged tissue, assumed as skin necrosis area, was performed using the ImageJ software (Wayne Rasband, National Institutes of Health, United States of America, 1997) (Fig. 1c). Figure 1 shows the process of obtaining and measuring skin flaps.

### *Histopathological evaluation of wound repair*

The skin flaps were fixed in 10% buffered formalin. After fixation, they were cleaved, dehydrated in increasing concentrations of ethyl alcohol, cleared in xylene, and embedded in paraffin. Sections were cut at a thickness of 4 µm and stained with hematoxylin and eosin (HE) and Masson's trichrome for assessment under light microscopy. Statistical analysis was performed using the mean ± standard error (SE), and one-criterion analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test. Results with p less than or equal to 0.05 were considered statistically significant.

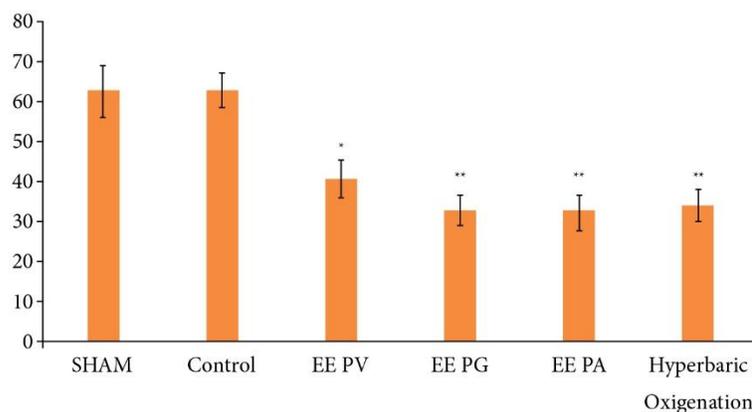
## ■ Results

### *Skin necrosis reduction*

After euthanasia and measurement of the necrotic area of each animal, the following results were found:

- Sham group = 62.84% ± 6.38;
- Negative control group = 63.03% ± 4.11;
- P. *vicosanum* = 40.81% ± 4.76 p < 0.05;

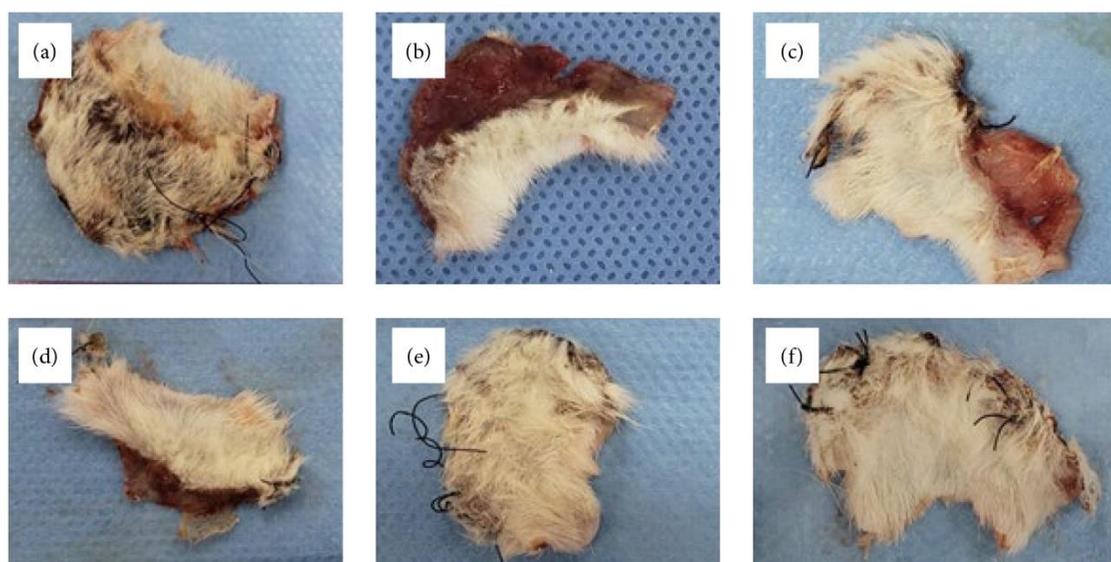
- *P. glabratum* 32.97% ± 4.01 p < 0.01;
- *P. amalago* = 32.40% ± 4.61 p < 0.01;
- OH = 33.21% ± 4.29 p < 0.01 (Fig. 2).



SE: standard error; EEPV: Piper *vicosanum* ethanolic extract; EEPG: Piper *glabratum* ethanolic extract; EEPA: Piper *amalago* ethanolic extract; \*p < 0.05; \*\*p < 0.01. Source: Elaborated by the authors.

**Figure 2** – Results of means ± SE of the necrosis percentage.

Figure 3 shows examples of flaps obtained from each group. One of the animals from the sham group was excluded from the study due to the occurrence of autophagy in the necrotic flap area, impairing its measurement. The comparison of groups that used plant extracts with hyperbaric oxygenation did not show statistical difference, thus showing similarity in their results.



Source: Elaborated by the authors.

**Figure 3** – Flaps obtained after euthanasia showing different necrosis percentages: (a) sham group; (b) control group; (c) hyperbaric oxygenation group; (d) *P. vicosanum* group; (e) *P. glabratum* group; (f) *P. amalago* group.

Table 2 shows the means ± SE of weight, total flap area, necrotic flap area and flap necrosis percentage of rats in the respective groups.

Effect of ethanolic extracts from *Piperaceae* leaves on the reduction of skin necrosis and wound healing in an animal model of degloving injuries

**Table 2** – Data on the weight of rats, total flap area, necrotic flap area and necrosis percentage in the respective groups.

Group (n = 6)	Animal weight (g)	Flap total area (cm <sup>2</sup> )	Flap necrotic area (cm <sup>2</sup> )	Necrosis percentage area (%)
Sham	267.83 ± 11.20	5.07 ± 0.47	3.24 ± 0.52	62.84% ± 6.38
Control	296.16 ± 12.27	3.24 ± 0.24	2.06 ± 0.24	63.03% ± 4.11
<i>P. vicosanum</i>	289.33 ± 14.03	3.47 ± 0.13	1.40 ± 0.15	40.81% ± 4.76*
<i>P. glabratum</i>	297.83 ± 14.11	3.82 ± 0.09	1.26 ± 0.16	32.97% ± 4.01**
<i>P. amalago</i>	268.66 ± 19.70	3.77 ± 0.11	1.22 ± 0.18	32.40% ± 4.61**
Hyperbaric oxygenation	264.33 ± 9.01	3.51 ± 0.14	1.17 ± 0.13	33.21% ± 4.29**

\*p<0.05 \*\*p<0.01 Source: Elaborated by the authors.

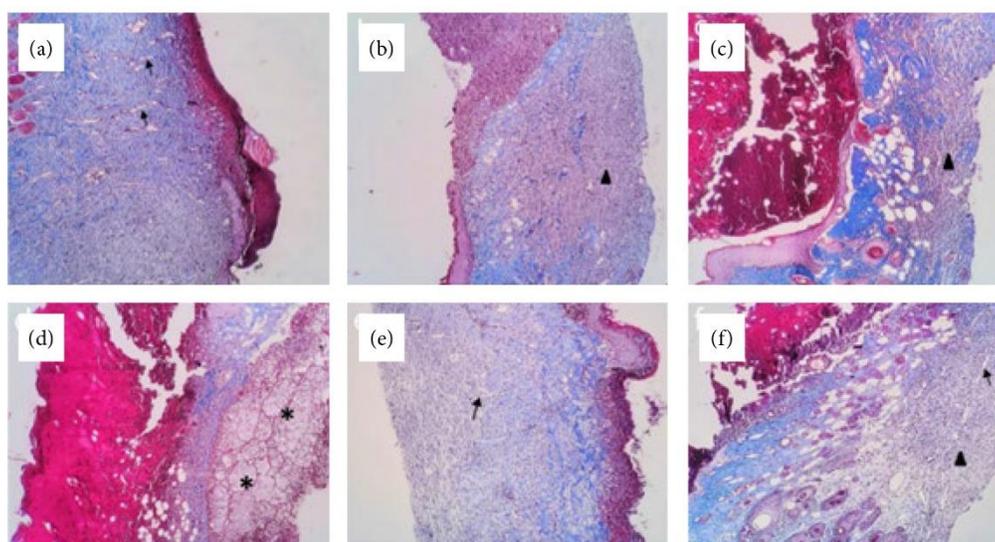
### Histopathological wound repair evaluation

The histopathological findings are summarized in the Table 3 and Fig. 4.

**Table 3** – Histopathological findings summary.

	Reepithelization	Inflammatory infiltrate	Extracellular matrix	Angiogenesis
Sham	-	+++	+	++
Control	-	++	++	++
EEPV	-	+++	-	+
EEPG	-	++	++	++
EEPA	-	+++	+	++
HO	-	+++	+	++

EEPV: *Piper vicosanum* ethanolic extract; EEPG: *Piper glabratum* ethanolic extract; EEPA: *Piper amalago* ethanolic extract; HO: hyperbaric oxygenation. Source: Elaborated by the authors.



Source: Wlaborated by the authors.

**Figure 4** – Histopathology of flaps: (a) control group; (b) sham group; (c) hyperbaric oxygenation group; (d) *P. vicosanum* group; (e) *P. glabratum* group; (f) *P. amalago* group. Masson's trichrome, 10X caption: Angiogenesis (arrows); mononuclear inflammatory infiltrate (arrowheads); edema (asterisks).

## ■ Discussion

The use of natural products in conventional medicine still faces some resistance, especially in surgical areas, in which more aggressive and assertive treatments are traditionally used. However, the use of such substances for prophylactic purposes or as adjuvant in the postoperative period could lead to a better acceptance by clinicians, surgeons, and other health professionals<sup>20</sup>. Topical products of natural origin have already been used by surgeons to improve scar aspects, such as onion extract<sup>21</sup>, or to reduce edema and ecchymosis, as in the case of Arnica<sup>22</sup>. The development of topical products derived from Piper with a view to postsurgical use is a promising possibility, but still dependent on further studies.

The extracts used in this study were previously submitted to phytochemical analysis<sup>23</sup>, and the major secondary metabolites found were: alkaloids in *P. vicosanum* and *P. amalago* and organic acids, tannins, steroids, and triterpenes in *P. glabratum*. There are reports in literature of the anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial activities of these secondary metabolites<sup>24</sup>, whose synergic action may justify the positive findings of reduced necrosis in the model used in this study. Previous studies have shown the presence of pyrrolidine amides, chalcones, flavonol<sup>25</sup> and piperidines<sup>23</sup> in *P. amalago*. Silva *et al.*<sup>26</sup> demonstrated the antimicrobial activity of chalcone and flavonol has antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial activities<sup>27</sup>. Pyrrolidines are known antioxidant agents, with proven beneficial effects in improving healing in intestinal anastomoses in studies with ischemia and reperfusion models<sup>28,29</sup>. An extensive review conducted by Mitra *et al.*<sup>30</sup> evaluated in details the antineoplastic action of piperidine associated with the inhibition of interleukin 6 (IL-6) production by various metabolic pathways. IL-6 is a classic pathway of inflammation, and the study of inhibitory mechanisms has been gaining prominence in the scientific community in search for anti-inflammatory therapies<sup>31</sup>. The anti-inflammatory activity of piperidines associated with IL-6 inhibition may be related to the effects found in this study.

In the present study, all tested plants were effective in reducing the skin necrosis percentage. The histopathological evaluation showed a slight difference in relation to the mononuclear inflammatory infiltrate present in the deep dermis, with apparent advantage for EEPG compared to EEPV and EEPA, and, although specific inflammation tests were not performed, there may be some correlation of the reduction of local inflammation with the lowest necrosis rates found in animals treated with EEPG. Other evidence of improved wound healing was observed in the histopathological analysis, particularly in the group treated with EEPG, which showed a less intense and predominantly mononuclear inflammatory infiltrate, corresponding to a more advanced phase of the inflammatory process secondary to healing. Additionally, in the treated groups, with a greater predominance in the EEPG group, there was a higher deposition of collagen fibers, supporting the hypothesis of a more advanced healing process.

The histopathological analysis did not demonstrate complete reepithelialization in any of the studied groups. However, it should be noted that this study only evaluated the first seven days, which is still a very early phase of the healing process to observe this type of effect. Observing the animals for a longer period, such as 21 to 30 days, could provide better clarification of this hypothesis. However, the main purpose of this study was to evaluate the ischemic tissue damage caused by cutaneous detachment, and extending the observation period would compromise this analysis. Future studies examining the effect of EEPG, EEPV, and EEPA on reepithelialization using this or other wound models could be highly informative.

All tested extracts showed results equivalent to those of hyperbaric oxygenation, a therapy already consolidated in the treatment of complex injuries. However, the implementation, maintenance and administration of hyperbaric therapy involves high financial costs, restricting access to this type of treatment, especially in developing countries<sup>32</sup>.

The necrosis produced in skin degloving injuries and in ischemic flaps is of the coagulative type due to cellular hypoperfusion. With low blood flow, the cell changes its metabolism to the anaerobic form, causing intracellular lactate accumulation and leading to changes in transmembrane transport mechanisms. The consequences are increased intracellular pH, decreased adenosine triphosphate (ATP) levels and finally coagulation of proteins, leading to cell death. Endothelial damage also leads to platelet aggregation and neutrophil adherence to the vascular wall, increasing ischemia and triggering the coagulation cascade, thus forming a vicious cycle that will culminate in cell death and tissue necrosis<sup>33</sup>. The anti-inflammatory activity

of by-products from plants of the genus *Piper* can provide benefits in two different ways: reducing endothelial damage and inhibiting platelet and lymphocyte aggregation<sup>34</sup>.

Although endothelial damage was not evaluated in this study, it was possible to observe induction of angiogenesis and preservation of capillaries in the histopathological evaluation, suggesting the presence of this protective mechanism. Further studies analyzing endothelial damage markers may better elucidate this hypothesis.

The presence of edema in injuries is detrimental to the healing process by causing the dilution and decrease in the concentration of necessary proteins for the fibroplasia process, increasing tension at wound edges and decreasing local perfusion<sup>35</sup>. Previous studies<sup>34,36</sup> have demonstrated the action of *Piperaceae* in reducing inflammation and edema, thus constituting another possible mechanism of action responsible for tissue protection.

Another important aspect is cell damage by reperfusion, which occurs when oxygen is reintroduced into the cell after a period of anaerobic metabolism. Reperfusion leads to the formation of free oxygen radicals that lead to cell death and tissue damage<sup>37</sup>. The antioxidant properties present in plants of the genus *Piper*, as described by Carsono<sup>38</sup>, may also exert a protective function in the case of reperfusion injury. The anti-inflammatory and antioxidant actions of *Piper* extracts possibly play a synergistic and multimodal role in tissue protection.

Regarding toxicity, previous studies have shown positive evidence of the low-risk potential with the use of these extracts. Acute oral toxicity, genotoxicity, and mutagenicity tests of *Piper vicosanum* have demonstrated the safety of this plant<sup>36</sup>. On the other hand, a study conducted by Stein et al.<sup>39</sup> demonstrated signs of subacute toxicity in tests with *Piper amalago*, showing reduction in hematocrit, increase in platelet counts and serum levels of cholesterol and alkaline phosphatase, although showing safety from the point of view of genotoxicity or mutagenicity during comet and micronucleus tests. The authors suggested the possibility of toxicity with the extended use of this substance. Therefore, the use for short periods of time, such as for the acute treatment of injuries, can still be considered after the conduction of these studies. Finally, tests with *Piper glabratum* did not show signs of acute or subacute oral toxicity<sup>34</sup>.

The results obtained in this study in future clinical trials could offer efficient therapeutic alternatives at substantially reduced costs, expanding access to treatment, especially in underdeveloped or developing regions, while the offer of expensive treatments, such as hyperbaric oxygenation and vacuum therapy, is still low in many countries.

## ■ Conclusion

All plants under study showed beneficial potential in reducing necrosis in the present model. A comparison of plant extracts with positive control, hyperbaric oxygenation<sup>12</sup>, known to be effective in reducing tissue necrosis in situations of circulatory compromise, showed statistically equivalent results, but from the economic point of view the adoption of therapies derived from *Piperaceae* may be more advantageous. The low financial cost associated with these products is a promising alternative for prophylactic or adjuvant therapies in surgical procedures or wound treatment, especially in low-income countries.

The literature demonstrates safety from the point of view of mutagenicity and genotoxicity for all extracts under study, but there may be subacute oral toxicity with the use of *Piper amalago*, and its use for extended periods must be carefully analyzed.

Thus, *Piperaceae* seems to be promising alternatives for the future development of therapies for compromised circulatory conditions, as well as for the treatment of complex wounds, and further studies are still needed.

## ■ Conflict of interest

Nothing to declare.

## ■ Authors' contribution

**Substantive scientific and intellectual contributions to the study:** Menon DN, Santos AC, Kassuya CAL, Mota JS and Barros ME; **Conception and design:** Menon DN and Barros ME; **Acquisition of data:** Menon DN, Leite IAB, Ramsdorf MTA, Chagas LS and Arroyo SA; **Analysis and interpretation of data:** Menon DN and Barros ME; **Histopathological examinations:** Santos AC; **Statistics analysis:** Menon DN; **Manuscript preparation:** Menon DN; **Manuscript writing:** Menon DN and Arroyo SA; **Critical revision:** Barros ME.

## ■ Data availability statement

All data sets were generated or analyzed in the current study.

## ■ Funding

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

<https://doi.org/10.13039/501100002322>

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

<https://doi.org/10.13039/501100003593>

Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul

<https://doi.org/10.13039/501100005672>

Grant No:

Informar numero dos  
garnts/projetos

## ■ Acknowledgements

Thanks to the following for technical assistance during this study: Jacenir Vieira da Silva, Anahy Arruda Burigato, Daniela Torres Cantadori, Melissa Negrao Sepulvida, Anderson Rodolfo de Lima and professor Roosevelt Isaias Carvalho Souza.

## ■ About the authors

Menon DN is master.

Leite IAB, Ramsdorf MTA, Chagas LS and Arroyo SA are graduate students.

Santos AC, Kassuya CAL, Mota JS and Barros ME are PhD.

## ■ References

1. Milcheski DA, Ferreira MC, Nakamoto HA, TUMA P, Gemperli R. Tratamento cirúrgico de ferimentos descolantes nos membros inferiores: proposta de protocolo de atendimento. *Rev Col Bras Cir.* 2010;37(3):199–203. <https://doi.org/10.1590/S0100-69912010000300007>
2. Xu Q, Zhu L, Wang G, Sun Y, Wang J, Lin J, Pei Y, Cui Y, Liu B, Yuan X, Zhang H, Zang C. Application of cryopreserved autologous skin replantation in the treatment of degloving injury of limbs. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2022;75(7):2387–440. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2022.04.006>
3. Boudreault DJ, Lance SH, Garcia JA. Barbed Suture as a Treatment Approach in Complex Degloving Injuries. *Ann Plast Surg.* 2016;76(Suppl.3):S155–7. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000000725>

4. Sakai G, Suzuki T, Hishikawa T, Shirai Y, Kurozumi T, Shindo M. Primary reattachment of avulsed skin flaps with negative pressure wound therapy in degloving injuries of the lower extremity. *Injury*. 2017;48(1):137–41. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2016.10.026>
5. Covello GS, Martins DVR, Padilha GC, Cavalheiro CS, Vieira LA, Caetano EB. Serratus anterior muscle flap for reconstruction of extremity injuries. *Acta Ortop Bras*. 2022;30(Spe.1):e250673. <https://doi.org/10.1590/1413-785220223001e250673>
6. Mousavian A, Sabzevari S, Parsazad S, Moosavian H. Leech Therapy Protects Free Flaps against Venous Congestion, Thrombus Formation, and Ischemia/Reperfusion Injury: Benefits, Complications, and Contradictions. *J Bone Joint Surg Am*. 2022;10(3):252–60. <https://doi.org/10.22038/ABJS.2022.55013.2736>
7. Qiao Q, Moon W, Zhang F, Chen SG, Kunda L, Lineaweaver WC, Buncke HJ. Patterns of flap loss related to arterial and venous insufficiency in the rat pedicled TRAM flap. *Ann Plast Surg*. 1999;43(2):167–71.
8. Maitani K, Tomita K, Tashima H, Nomori M, Taminato M, Kubo T. Successful Salvage of Pedicled Latissimus Dorsi Flap after Venous Thrombosis by Selective Thrombolytic Therapy. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2020;8(12):e3299. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000003299>
9. Habibi Z, Hoormand M, Banimohammad M, Ajami M, Amin G, Pazoki-Toroudi H. The Novel Role of *Crocus sativus* L. in Enhancing Skin Flap Survival by Affecting Apoptosis Independent of mTOR: A Data-Virtualized Study. *Aesthetic Plast Surg*. 2022;46(6):3047–62. <https://doi.org/10.1007/s00266-022-03048-6>
10. McFarlane RM, DeYoung G, Henry RA. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. *Plast Reconstr Surg*. 1965;35(2):177–82. <https://doi.org/10.1097/00006534-196502000-00007>
11. Milcheski DA, Nakamoto HA, Tuma P, Nóbrega L, Ferreira MC. Experimental Model of Degloving Injury in Rats. *Ann Plast Surg*. 2013;70(3):366–9. <https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e318230601a>
12. Menon DN, Teixeira L, Paurosi NB, Barros ME. Effects of heparin and hyperbaric oxygenation on necrosis reduction in an animal model for degloving injuries. *Rev Col Bras Cir*. 2017;44(1):64–71. <https://doi.org/10.1590/0100-69912017001014>
13. Zakaria ZA, Patahuddin H, Mohamad AS, Israf DA, Sulaiman MR. In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the aqueous extract of the leaves of *Piper sarmentosum*. *J Ethnopharmacol*. 2010;128(1):42–8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.021>
14. Pamar V, Jain S, Bisht K, Jain R, Taneja P, Jha A, Tyagi O, Prasad A, Wengel J, Olsen C, Boll P. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*. 1997;46(4):597–673. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00328-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00328-2)
15. Soares KD, Bordignon SA, Apel MA. Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oils of *Piper gaudichaudianum* and *Piper mikanianum*. *J Ethnopharmacol*. 2022;297:115533. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115533>
16. Negreiros JRS, Miqueloni DP. Morphological and phytochemical characterization of *Piper hispidinervum* DC. and *Piper aduncum* L. populations in the state of Acre. *Rev Ceres*. 2015;62(1):78–86. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201562010010>
17. Durant-Archibold AA, Santana AI, Gupta M. Ethnomedical uses and pharmacological activities of most prevalent species of genus *Piper* in Panama: A review. *J Ethnopharmacol*. 2018;217:63–82. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.008>
18. Myers MB. Understanding Flap Necrosis. *Plast Reconstr Surg*. 1986;78(6):813–4. <https://doi.org/10.1097/00006534-198678060-00018>
19. Bertolotto PR, Fagundes DJ, Simões MDJ, Oshima CT, Montero EFDS, Simões RS, Fagundes ATN. Effects of hyperbaric oxygen therapy on the rat intestinal mucosa apoptosis caused by ischemia-reperfusion injury. *Microsurgery*. 2007;27(4):224–7. <https://doi.org/10.1002/micr.20349>
20. Patel N, Pierson J, Lee T, Mast B, Lee BTB, Estores I, Singhal D. Utilization and Perception of Integrative Medicine Among Plastic Surgery Patients. *Ann Plast Surg*. 2017;78(5):557–61. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000000916>

21. Tran B, Wu JJ, Ratner D, Han G. Topical Scar Treatment Products for Wounds: A Systematic Review. *Dermatol Surg.* 2020;46(12):1564–71. <https://doi.org/10.1097/DSS.0000000000002712>
22. Ruan QZ, Chen AD, Tran B, Epstein S, Fukudome EY, Tobias AM, Lin SJ, Lee BT, Yeh GY, Singhal D. Integrative Medicine in Plastic Surgery. *Ann Plast Surg.* 2019;82(4):459–68. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000001676>
23. Oesterreich SA, Traesel GK, Piccinelli AC, Aquino DFS, Mota J, Estanislau C, Kassuya CAL. Antidepressant and anxiolytic effects of ethanol extracts from four piper species. *SaBios Rev Saúde Biol.* 2015;10(1):34–42.
24. Salehi B, Zakaria ZA, Gyawali R, Ibrahim SA, Rajkovic J, Shinwari ZK, Khan T, Sharifi-Rad J, Ozleyen A, Turkdonmez E, Valussi M, Tumer TB, Fidalgo LM, Martorell M, Setzer WN. Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. *Molecules.* 2019;24(7):1364. <https://doi.org/10.3390/molecules24071364>
25. Novaes AJ, Barison A, Veber CL, Negrão FJ, Kassuya CAL, de Barros ME. Diuretic and antilithiasic activities of ethanolic extract from Piper amalago (Piperaceae). *Phytomedicine.* 2014;21(4):523–8. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2013.10.014>
26. Silva J, Rocha JE, Cunha Xavier J, Freitas TS, Coutinho HDM, Bandeira PN, Oliveira MR, Rocha MN, Marinho, Kassio Vieira Monteiro N, Ribeiro LR, Menezes RRPPB, Marinho MM, Teixeira AMR, Santos HS, Marinho ES. Antibacterial and antibiotic modifying activity of chalcone (2E)-1-(4j-aminophenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-prop-2-en-1-one in strains of *Staphylococcus aureus* carrying NorA and MepA efflux pumps: In vitro and in silico approaches. *Microb Pathog.* 2022;169:105664. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105664>
27. Cazarolli L, Zanatta L, Alberton E, Figueiredo MSB, Folador P, Damazio R, Pizzolatti M, Silva FRB. Flavonoids: Prospective Drug Candidates. *Mini Rev Med Chem.* 2008;8(13):1429–40. <https://doi.org/10.2174/138955708786369564>
28. Teke Z, Aytengin FO, Kabay B, Yenisey C, Aydin C, Tekin K, Sacar M, Ozden A. Pyrrolidine Dithiocarbamate Prevents Deleterious Effects of Remote Ischemia/Reperfusion Injury on Healing of Colonic Anastomoses in Rats. *World J Surg.* 2007;31(9):1835–42. <https://doi.org/10.1007/s00268-007-9106-3>
29. Teke Z, Kabay B, Aytengin FO, Yenisey C, Demirkan NC, Sacar M, Erdem E, Ozden A. Pyrrolidine dithiocarbamate prevents 60 minutes of warm mesenteric ischemia/reperfusion injury in rats. *Am J Surg.* 2007;194(2):255–62. <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2006.06.054>
30. Mitra S, Anand U, Jha NK, Shekhawat MS, Saha SC, Nongdam P, Rengasamy KRR, Proćków J, Dey A. Anticancer Applications and Pharmacological Properties of Piperidine and Piperine: A Comprehensive Review on Molecular Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Front Pharmacol.* 2021;12:772418. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.772418>
31. Yeung YT, Aziz F, Guerrero-Castilla A, Arguelles S. Signaling Pathways in Inflammation and Anti-inflammatory Therapies. *Curr Pharm Des.* 2018;24(14):1449–84. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180327165604>
32. Thiruvoth FM, Rajasulochana S, Kumar SM, Saravanan E, Sivanantham P, Kar SS. Hyperbaric oxygen therapy as an adjunct to the standard wound care for the treatment of diabetic foot ulcers in Indian patients: a cost utility analysis. *Expert Rev Pharmacoecon.* 2022;22(7):1087–94. <https://doi.org/10.1080/14737167.2022.2085562>
33. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Int J Cell Biology.* 2019;43(6):582–92. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>
34. Branquinho LS, Santos JA, Cardoso, Silva Mota J, Junior UL, Kassuya CAL, Arena AC. Anti-inflammatory and toxicological evaluation of essential oil from Piper glabratum leaves. *J Ethnopharmacol.* 2017;198:372–8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.01.008>
35. Myers MB. The Effect of Edema and External Pressure on Wound Healing. *Arch Surg.* 1967;94(2):218–22. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1967.01330080056016>
36. Brait DRH, Vaz MSM, Silva Arigo J, Carvalho LNB, Araújo FHS, Vani JM, Silva Mota J, Cardoso CAL, Oliveira, RJ, Negrão FJ, Kassuya CAL, Arena AC. Toxicological analysis and anti-inflammatory effects of essential oil from Piper vicosanum leaves. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2015;73(3):699–705. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.10.028>

Effect of ethanolic extracts from *Piperaceae* leaves on the reduction of skin necrosis and wound healing in an animal model of degloving injuries

---

37. Hauet T, Pisani DF. New Strategies Protecting from Ischemia/Reperfusion. *Int J Mol Sci.* 2022;23(24):15867. <https://doi.org/10.3390/ijms232415867>
38. Carsono N, Tumilaar SG, Kurnia D, Latipudin D, Satari MH. A Review of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity Properties of Piper Species. *Molecules.* 2022;27(19):6774. <https://doi.org/10.3390/molecules27196774>
39. Stein J, Jorge BC, Reis ACC, Radai JAS, da Silva Moreira S, Fraga TL, da Silva Mota J, Oliveira RJ, Kassuya CAL, Arena AC. Evaluation of the safety of ethanolic extract from *Piper amalago* L. (Piperaceae) leaves in vivo: Subacute toxicity and genotoxicity studies, *Regul Toxicol Pharmacol.* 2022;129:105118. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105118>

## 6. CONCLUSÕES

Os extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum* revelaram potencial benéfico na redução de necrose cutânea no modelo testado. A comparação dos extratos vegetais com um controle positivo reconhecidamente eficaz, a oxigenação hiperbárica (Menon *et al.*, 2017) na redução de necrose tecidual em situações de comprometimento circulatório demonstrou equivalência nos resultados estatisticamente, porém do ponto de vista econômico a instituição de terapias derivadas das piperáceas pode se mostrar mais vantajosa.

O baixo custo financeiro associado à obtenção destes produtos constitui alternativa promissora para terapias profiláticas ou adjuvantes em procedimentos cirúrgicos, ou tratamento de feridas, especialmente em países de baixa renda. A avaliação histopatológica mostrou discreta diferença em relação ao infiltrado inflamatório mononuclear presente na derme profunda, com aparente vantagem para EEPG em comparação com EEPV e EEPA e embora testes específicos de inflamação não tenham sido realizado, pode haver alguma correlação da redução da inflamação local com as menores taxas de necrose encontradas em animais tratados com EEPG. Outras evidências de melhora na cicatrização de feridas foram observadas na análise histopatológica, principalmente no grupo tratado com EEPG, que apresentou quadro inflamatório menos intenso e predominantemente mononuclear infiltrado, correspondendo a uma fase mais avançada do processo inflamatório secundário à cicatrização.

Além disso, nos grupos tratados, com maior predominância no grupo EEPG, houve maior deposição de fibras colágenas, apoiando a hipótese de um processo de cura mais avançado. A análise histopatológica não demonstrou reepitelização completa em nenhum dos grupos estudados, no entanto, deve-se ressaltar que este estudo avaliou apenas os primeiros sete dias, o que ainda é uma fase muito inicial do processo de cicatrização para analisar esse tipo de efeito. Observar os animais por um período mais longo, como 21 a 30 dias, poderia proporcionar melhor elucidação desta hipótese.

Contudo, o objetivo principal deste estudo foi avaliar o dano tecidual isquêmico causado pelo deslucamento e a extensão do período de observação comprometeriam esta análise. Estudos futuros examinando o efeito de EEPG, EEPV e EEPA na reepitelização usando este ou outros modelos de feridas podem ser altamente informativos. A literatura demonstra segurança do ponto de vista da mutagenicidade e genotoxicidade para todos os extratos estudados, porém pode haver

toxicidade oral subaguda com o uso de *Piper amalago* e o seu uso por longos períodos deve ser cuidadosamente analisado. Dessa forma, os extratos etanólicos das folhas de *P. amalago*, *P. glabratum* e *P. vicosanum* parecem constituir alternativas promissoras para o desenvolvimento futuro de terapias adicionais para condições de comprometimento circulatório, bem como para o tratamento de feridas complexas, sendo que estudos adicionais ainda se fazem necessários.

## 9. ANEXO:

### 9.1. Parecer do comitê de ética no uso de animais – UFGD:



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Dourados-MS, 20 de Abril de 2020.

#### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “*Avaliação de possíveis opções terapêuticas em modelo animal de ferimentos descolantes*”, registrada sob o protocolo de nº 32/2019, sob a responsabilidade de *Marcio Eduardo de Barros e Douglas Neumar Menon* – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata, subfilo Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 08/11/2019.

<i>Finalidade</i>	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
<i>Vigência da autorização</i>	22/04/2020 a 30/11/2020
<i>Espécie/linhagem/raça</i>	<i>Rattus norvegicus – Wistar</i>
<i>Nº de animais</i>	84
<i>Peso/idade</i>	30 dias
<i>Sexo</i>	machos
<i>Origem</i>	Biotério Central da UFGD

Melissa Negrão Sepulveda  
Coordenadora CEUA