



## O papel da matriz extracelular na cicatrização de feridas bucais

### *Extracellular matrix role on the wound healing of oral lesions*

Ricardo Raitz\*

#### Resumo

A matriz extracelular (MEC) é uma estrutura complexa que proporciona o arcabouço que sustenta as células nos tecidos de todos os mamíferos. Uma contínua reconstrução e mudança nos constituintes da MEC ocorrem normalmente durante o processo de reparo de uma ferida. Assim, pode-se afirmar que a cicatrização é uma integração dinâmica que envolve células, MEC e mediadores solúveis. Dessa maneira, a cicatrização depende não só das células e polipeptídeos disponíveis, mas do microambiente da matriz extracelular (MEC). Devido à imensa gama de fatores de origem local ou sistêmica, exógena ou endógena, certamente ocorrem modificações muito mais complexas e profundas nos componentes da MEC e suas inter-relações com as células envolvidas no processo de reparação de feridas bucais, o que influencia a qualidade e quantidade de tecido reparador em cada tipo de ferimento.

Palavras-chave: Matriz extracelular; Cicatrização de feridas; Boca/lesões

#### Abstract

*Extracellular matrix (ECM) is a complex structure which supports and maintains all the cells organized in tissues in mammals. A continuous reconstruction and change of the ECM components normally occur during the repair of injured tissue. Thus, it can be affirmed that wound healing is a dynamic integration among cells, ECM and soluble mediators. So it depends not only on the available polypeptides and cells, but especially on the micro environment of the ECM. Because of the enormous endogenous and exogenous, local and systemic factors related, many complex and profound modifications certainly occur in the components of the ECM and also in their relation with all the cells involved in oral lesion repair. These factors influence the quality and quantity of the repairing tissue in each type of lesion.*

Key words: Extracellular matrix; Wound healing; Mouth/injuries

## Introdução

O processo de reparação é um evento que começa imediatamente depois do ferimento. É um processo extremamente complexo principalmente na primeira fase da inflamação que é caracterizada por eventos vasculares e celulares.

Envolve a formação de coágulo, deposição de fibrina-fibronectina, inflamação, reepitelização, neovascularização, fibroplasia e contração<sup>5,21</sup>. Tanto em feridas bucais quanto em feridas de pele estão envolvidos múltiplos tipos celulares (neutrófilos, macrófagos, fibroblastos, queratinócitos, células endoteliais), mediadores solúveis (fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas), insolúveis (componentes da matriz extracelular) numa seqüência de eventos que compreende 3 fases: inflamação, proliferação (especialmente fibroblastos) e remodelação<sup>5,10,22</sup>. Essas fases não são mutuamente excluintes, e sim sobrepostas no tempo. Dessa maneira, a cicatrização depende não só das células e polipeptídeos disponíveis, mas do microambiente da matriz extracelular (MEC)<sup>23</sup>.

Na cicatrização normal as plaquetas formam um tampão hemostático e a coagulação sanguínea forma uma matriz provisional. Esta densa rede feita de fibrina e fibronectina (FN) age para prevenir a perda de sangue. As plaquetas secretam fatores de crescimento e proteínas adesivas que estimulam a resposta inflamatória e induzem a migração para dentro do ferimento, usando a matriz como substrato. A limpeza é realizada por neutrófilos, que solubilizam *debris* e monócitos que se diferenciam em macrófagos. Estes últimos fagocitam os *debris* e secretam fatores de crescimento e citocinas para ativar eventos subseqüentes<sup>5</sup>.

Nas feridas, os queratinócitos migram pela área para restabelecer a barreira epitelial. A matriz provisória de fibrina-fibronectina age como uma rede para adesão celular e migração. Esta matriz é substituída por tecido de granulação rico em FN, que oferece uma rede vascularizada para subseqüente deposição de colágeno<sup>11</sup>. As células endoteliais revascularizam a área danificada e os fibroblastos diferenciam-se em miofibroblastos que contraem a matriz para tornar as margens aproximadas. As células residen-

\* Especialista em Patologia Bucal e em Estomatologia pelo Conselho Regional de Odontologia de São Paulo. Mestre em Patologia Bucal pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (FOUSP). Doutor em Diagnóstico Bucal pela FOUSP. Professor responsável pela Disciplina de Patologia nos Cursos de Enfermagem e Farmácia da Universidade Municipal de São Caetano do Sul. Professor Titular do Curso de Mestrado em Odontologia/Biodontologia da Universidade Ibirapuera. E-mail: clinicaricardoraitz@ig.com.br

tes fazem apoptose, deixando a ferida rica em colágeno que é lentamente remodelada nos meses seguintes<sup>4</sup>.

A natureza anatômica da própria ferida proporciona um estímulo para a migração e proliferação celular por todo espaço ocupado pela ferida. Com a ativação de macrófagos e com a elaboração de fatores de crescimento específicos, o tecido de granulação passa por profundas modificações. As proteoglicanas e a FN começam a ser substituídas por um tecido conjuntivo mais forte e mais elástico, sendo que o principal componente de uma cicatriz de tecido conjuntivo maduro passa a ser o colágeno<sup>18</sup>.

Pelo exposto, a cicatrização não é um processo linear simples onde fatores de crescimento ativam células a proliferarem, mas é uma integração dinâmica que envolve células, MEC e mediadores solúveis. Isso é especialmente verdadeiro na cicatrização por 2<sup>a</sup> intenção<sup>1</sup>.

Neste artigo, será apresentada uma ampla revisão de literatura sobre os mais importantes componentes da MEC, realizando-se concomitantemente uma análise crítica acerca do papel de cada um no processo de reparo. A reação imunohistoquímica da estreptoavidina-biotina para laminina e colágeno IV, realizada segundo o protocolo da Disciplina de Patologia Bucal da FOU SP publicado em diversos trabalhos<sup>13</sup>, será feita com intuito de mostrar a intimidade dessa proteína com suas células produtoras. Casos clínicos serão mostrados exemplificando os tipos de feridas presentes na classificação proposta neste artigo.

O objetivo deste trabalho é pontuar os aspectos mais importantes da MEC no processo de cicatrização das feridas bucais.

## Revisão da literatura e Discussão

### *A matriz extracelular e os componentes do processo cicatricial*

A matriz extracelular (MEC) é uma estrutura complexa que proporciona o arcabouço que sustenta as células nos tecidos de todos os mamíferos. Ela é composta de três grandes classes de moléculas: proteínas estruturais (colágenos e elastina); proteínas especializadas (fibrilina, fibro-



**Figura 1.** Presença de laminina na membrana basal do epitélio queratinizado, bem como delimitando vasos sanguíneos

nectina e laminina) e proteoglicanas (glicosaminoglicanas), sendo secretadas localmente pelas células nativas do tecido, tanto em tecidos normais quanto em tecidos neoplásicos (Figuras 1 e 2). As células crescem, movem-se e diferenciam-se em íntimo contato com a MEC.

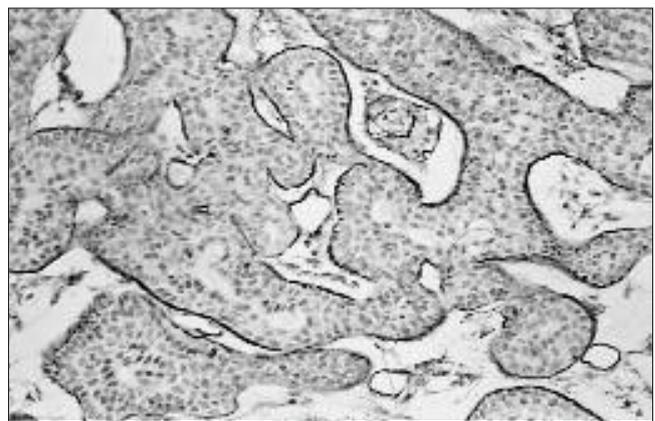
A presença de fatores de crescimento influencia a produção de componentes da MEC pelos fibroblastos, enquanto a composição da MEC pode influenciar a função celular. Uma contínua reconstrução e mudança nos constituintes da MEC ocorrem durante o processo de reparo da ferida. Inicialmente, a matriz é composta de proteínas derivadas em grande parte das plaquetas e do plasma. Com a migração dos macrófagos até a ferida e a subsequente formação de tecido da granulação (Figura 3), os componentes da MEC são manufaturados pelas células *in situ*<sup>21,23</sup>.

A MEC de tecidos cicatriciais passa, na verdade, por mudanças muito rápidas. A fibrina do tampão, por exemplo, é substituída por fibronectina (FN) e ácido hialurônico e depois, por colágeno I e III<sup>21</sup>. Dentre as mudanças citadas está a remodelação, ou seja, um conjunto de processos de síntese e degradação de proteínas que permite a substituição do tecido de granulação por uma cicatriz fibrosa. Dentre as enzimas de degradação estão as metaloproteinases que são produzidas por vários tipos celulares do tecido injuriado.

### *Fibronectina*

A FN juntamente com o ácido hialurônico são os componentes predominantes da matriz durante as primeiras fases do reparo de uma ferida. As FNs são dímeros de dois peptídeos similares que têm o papel de aderir as células (glicoproteína adesiva) a uma variedade de substâncias na MEC, exceto o colágeno IV que utiliza a laminina (LN) como molécula adesiva. A LN, por sua vez, ancora a superfície celular à lâmina basal<sup>20</sup>.

A FN tem sido identificada também como auxiliando na fixação de agentes vasoativos aos tumores, aumentando a permeabilidade e fluxo sanguíneo ao tumor<sup>17</sup>. Portanto, por suas funções adesivas, a FN desempenha vários papéis no reparo, incluindo promoção da agregação pla-



**Figura 2.** Presença de colágeno IV na membrana basal, ancorando as células neoplásicas que tentam formar estruturas ductiformes no adenoma de células basais. Notar a integridade da membrana basal neste tumor benigno, mantendo as células confinadas

quetária, promoção da reepitelização, deposição de matriz e contração da ferida<sup>19</sup>. Como descrito anteriormente, a FN é a primeira proteína a ser depositada na ferida formando o complexo fibrina-fibronectina, funcionando com malha para ligação, migração e proliferação<sup>19</sup>.

### Colágeno

À medida que a ferida avança em seu processo de maturação, as proteoglicanas e a FN são cada vez mais substituídas pelo colágeno, o principal componente estrutural da cicatriz. Os colágenos são as proteínas em maior número na MEC e são sintetizados pelos fibroblastos e, em menor quantidade, pelas células epiteliais. Há pelo menos 12 tipos de colágenos, sendo que os do tipo I, II e III são os mais abundantes e formam fibras de estrutura similar. O do tipo IV é o mais importante componente da membrana basal (Figura 2), desempenhando um papel de “filtro e adesão”. O colágeno participa na reparação e no tecido adulto como a principal proteína da MEC, provendo força de tensão e suporte e sua presença modula várias funções celulares<sup>17</sup>.

### Laminina

Em ferimentos é muito comum observar-se a destruição das células, mas a preservação da membrana basal. Esta capacidade fornece uma superfície guia para as células que vão reparar o ferimento<sup>19</sup>. A laminina (LN) é o mais abundante componente estrutural biologicamente ativo da membrana basal (Figura 1). Apresenta um importante papel em muitos aspectos da biologia celular. A molécula de LN tem um formato de cruz, cuja extremidade possui ligações com colágeno IV, heparan sulfato, proteoglicanas e superfície de células epiteliais. Assim, está envolvida na mediação da ligação celular ao tecido conjuntivo, possuindo sítio de ligação para as integrinas que medeiam a ligação das células à matriz. Ademais, a LN está relacionada com a modulação da diferenciação celular, morfologia e movimento celular, funcionando como substrato de adesão. A variação de sua expressão vem sendo observada na embriogênese, organogênese, cicatrização pós-traumática e câncer. Um grande interesse em torno da LN está relacionado ao fato de sua possível ligação com a regeneração neural<sup>20</sup>.

### Glicosaminoglicanas (GAGs) – Heparan sulfato

As GAGs da MEC podem ser sulfatadas ou não. A GAG sulfatada predominante é o ácido hialurônico e funciona como um esqueleto central da MEC ao qual se ligam complexos de proteoglicanas. Contudo, um tipo de GAG não sulfatada, o heparan sulfato, parece apresentar um papel fundamental na cicatrização de feridas<sup>19</sup>.

A habilidade do heparan sulfato em interagir com a maior parte dos componentes da MEC (LN, FN e colágeno IV), sugere um papel fundamental na manutenção da integridade estrutural da MEC. Zcharia *et al.*<sup>23</sup> (2005) concluíram que a heparanase é normalmente produzida na pele e em tecido de granulação, estimulando os queratinócitos a migrarem e fecharem a ferida *in vitro*. Em seu

estudo, a aplicação tópica de heparanase aumentou significativamente a cicatrização, efeito esse provavelmente relacionado ao aumento de epitelização e vascularização (maturação vascular).

### Tenascina-C

A formação e contração de nova matriz cicatricial são vitais para a reconstrução do tecido e a família das tenascinas (TN) age como uma das maiores reguladoras desse processo. A TN-C é normalmente expressa durante o processo de cicatrização, tendo um pico de expressão nas primeiras 48 horas<sup>5</sup>. No início do processo, a TN-C participa na regulação do recrutamento celular no local da injúria. Sua presença estimula a formação e migração de fibroblastos que se aderem a uma matriz provisória de fibrina-fibronectina<sup>11</sup>. A TN-C também afeta a deposição de FN, assim o aumento de TN-C relaciona-se à diminuição de FN nos sítios da injúria tanto *in vitro* quanto *in vivo*<sup>8</sup>. Pode afetar também o *turnover* de matriz já que os níveis de FN ficam anormalmente baixos na pele e córnea de ratos sem TN-C<sup>9</sup>. A TN-C também inibe a contração da matriz de fibrina-fibronectina<sup>11</sup>, possivelmente para prevenir a contração prematura da matriz antes da deposição apropriada de colágeno. A TN-C está presente na matriz do tecido de granulação, mas não é detectável na ferida depois da contração<sup>5</sup>.

### Citocinas que influenciam o trânsito das células no leito cicatricial

Em horas, após ter ocorrido uma lesão cutânea, a reepitelização é iniciada pela migração de células epiteliais, desde as margens da ferida (Figura 3). Os estímulos responsáveis por essa migração (o fator de crescimento epidérmico, ou EGF) são os mesmos que atuam nos fibroblastos<sup>3</sup>. O fator básico de crescimento de fibroblasto (b-FGF), o fator beta transformador de crescimento de fibroblasto (TGF-beta) e muitos outros têm um importante papel na reparação tecidual, melhorando o processo de cicatrização em animais e humanos<sup>2,7</sup>. Estes fatores afetam o recrutamento, ativação, mitogênese, migração e diferenciação de vários tipos celulares no leito cicatricial<sup>12,15</sup>. Por esse motivo, o TGF beta tem sido considerado o “hormônio da cicatrização”. Ele estimula os fibroblastos a se dividirem quando em baixas concentrações, mas em altas concentrações estimula a diferenciação. Os fibroblastos residentes primeiramente proliferam para depois migrarem para o interior do ferimento. O TGF beta então, induz a expressão de alfa actina músculo liso por fibroblastos e miofibroblastos<sup>6</sup>. Estes miofibroblastos aderem na MEC e realizam a contração da cicatriz, logo na primeira semana do ferimento. O miofibroblasto alfa actina músculo liso positivo aparece tardiamente em feridas diabéticas, sugerindo que a contração é mais tardia. Surpreendentemente, a aplicação tópica de TGF beta aumentou o reparo de úlceras varicosas em um estudo de Robson *et al.*<sup>14</sup> (1995).

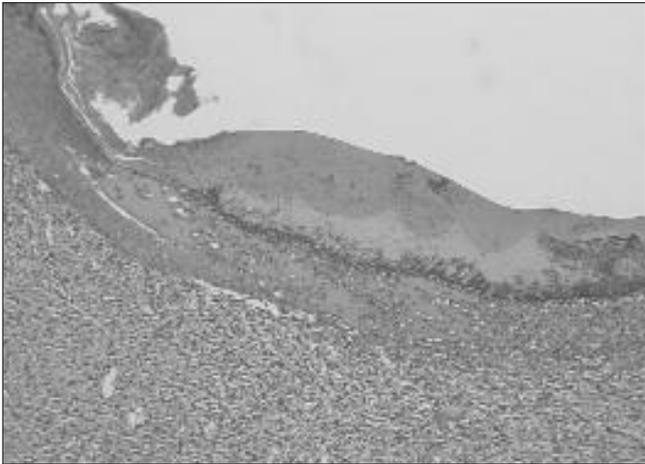
Os macrófagos situados na ferida são responsáveis pela elaboração de uma substância angiogênica, o fator vascular de crescimento endotelial (VEGF) e, mais notavelmente, pelos fatores de crescimento do fibroblasto. O VEGF é responsável pelo aumento da permeabilidade vas-

cular, angiogênese, vasculogênese, crescimento endotelial, migração celular e inibição da apoptose. Segundo Rudolph e Ballantyne<sup>16</sup> (1990), a angiogênese aumenta o necessário para que, em dois ou três dias após a lesão, alguns brotos comecem a aparecer de ponta a ponta.

#### *Particularidades na reparação de feridas bucais*

Do ponto de vista clínico, as feridas bucais podem ser genericamente classificadas em:

– Feridas cirúrgicas – por exodontia de um elemento dentário; cirurgia periodontal; plastias ósseas; exérese de lesões maxilo-mandibulares (Figura 4); exérese de lesões de tecido mole da cavidade bucal.



**Figura 3.** Presença superficial da crosta hemorrágica onde se infiltram inúmeros leucócitos polimorfonucleares. No canto esquerdo, notar a solução de continuidade do epitélio de revestimento e a migração do mesmo por debaixo da crosta, em direção ao centro. Logo abaixo, observar formação intensa de tecido de granulação rico em fibroplasia e angiogênese



**Figura 4.** Cavidade cirúrgica realizada na exérese de mixoma odontogênico. Os dentes envolvidos pela lesão foram extraídos conjuntamente. Apesar da grande ferida formada foi possível suturar unindo os bordos gengivais

– Úlceras por agentes químicos – ácidos (AAS, por exemplo); quimioterápicos (bisfosfonatos, por exemplo); elementos cáusticos (utilizados em tratamento endodôntico e de dentística); peróxidos (utilizados em clareamento de dente); anestésicos com vasoconstritor.

– Úlceras traumáticas por agentes físicos – queimadura térmica por alimentos ou bebidas (Figura 5); radioterapia; queimadura elétrica; trauma dentário ou por prótese; trauma por alimento cortante; trauma por objeto (escova, *piercing*); trauma por felação.

– Úlceras por agentes biológicos – doenças infecciosas causadas por vírus, bactérias (Figura 6), fungos e protozoários.

– Úlceras por doenças imunológicas e alérgicas



**Figura 5.** Cicatriz por 2ª intenção após queimadura por colher quente. Notar a superfície lingual hiperqueratótica. À palpação, o tecido é mais rígido pela fibrose



**Figura 6.** Pápulas eritematosas resultante da sífilis tardia. Tais lesões representam a disseminação sistêmica da bactéria, com formação local de infiltrados plasmocitários

- Úlceras neoplásicas (Figura 7)
- Úlceras idiopáticas



**Figura 7. Lesão neoplásica maligna (carcinoma basocelular), ulcerativa, com formação de pseudomembrana necrótica superficial. Tais lesões não cicatrizam, pois as células neoplásicas continuam a infiltrar o tecido de granulação formado na tentativa de reparar o dano causado**

O objetivo deste trabalho foi mostrar o papel geral da MEC no reparo de feridas. Em termos histopatológicos pode-se considerar que tanto o reparo de feridas bucais quanto o de feridas em pele, se dão da mesma maneira.

Como observado na classificação de feridas bucais aqui proposta, há uma grande gama de fatores etiopatológicos envolvidos no desenvolvimento dessas feridas. Assim, apesar de os mecanismos gerais do processo de reparo serem similares em todos os tipos de feridas bucais, cada um desses ferimentos pode apresentar o que se convencionou chamar de *fatores modificadores do reparo*.

A presença de infecção, por exemplo, causa a morosidade do processo de reparo, ou até mesmo a perpetua-

ção da inflamação, como se vê, por exemplo, nas úlceras por tuberculose. Igualmente, a presença de corpos estranhos como fragmentos de restaurações dentárias, ou de injúrias físicas contínuas, como próteses mal adaptadas, levam ao desenvolvimento de processos cicatriciais complexos e demorados. A hipovascularização presente, por exemplo, no trauma por anestésico com vasoconstritor e em algumas feridas por rádio e quimioterapia (osteoradionecrose e osteonecrose, respectivamente) leva a um grave distúrbio na chegada de células e nutrientes, bem como na remoção de metabólitos, na síntese de colágeno pelos fibroblastos e na produção de vários substratos pró-teicos para a formação da MEC. No caso das neoplasias malignas, a produção de enzimas líticas gera a perpetuação do processo inflamatório em torno do tecido neoplásico. Já as feridas imunologicamente mediadas apresentam tanto aparecimento quanto reparação repentinos, estando tais mecanismos complexamente ligados aos tipos celulares imunológicos afetados e suas ações junto ao tecido ao redor.

## Conclusão

Em termos histopatológicos pode-se considerar que tanto o reparo de feridas bucais quanto o de feridas em pele, se dão da mesma maneira. Os *fatores modificadores do reparo* nas feridas bucais, de origem local ou sistêmica, exógena ou endógena, certamente modificam os componentes da MEC e suas inter-relações com as células envolvidas no processo de reparação. Isso influencia a qualidade e quantidade de tecido reparador em cada um dos tipos de feridas bucais.

## Agradecimentos

Agradecimentos ao Dr. Marcos Martins Curi e ao Dr. José Narciso Rosa Assunção Júnior, pelas fotos clínicas.

## Referências

1. Arora R, Basu N, Kapoor V, Jain AP. Anti-inflammatory studies on Curcuma longa (turmeric). *Ind J Med Res.* 1971; 59(8):1289-95.
2. Brown RL, Breenden MP, Greenhalgh DG. PDGF and TGF- $\alpha$  act. Synergistically to improve wound healing in genetically diabetic mouse. *J Surg Res.* 1994; 56:562-7.
3. Carvalho PTCC. Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria: estudo experimental em ratos diabéticos [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Unidade de Bioengenharia da Universidade de São Paulo; 2002.
4. Clark RAF. Cutaneous tissue repair; basic biologic considerations. *J Am Acad Dermatol.* 1985;13:701-25.
5. Clark RAF. Wound repair: overview and general considerations. In: Clark RAF, editor. *The molecular and cellular biology of wound repair.* 2<sup>nd</sup> ed. New York: Plenum Press; 1996. p. 3-50.
6. Desmouliere A, Geinoz A, Gabbiani F, Gabbiani G. Transforming growth factors induces  $\alpha$ -smooth muscle actin expression in granulation tissue myofibroblasts and in quiescent and growing cultured fibroblasts. *J Cell Biol.* 1993;122:103-11.
7. Falanga V. Growth factors and wound healing. *Dermatol Clin.* 1993; 11:667-75.
8. Kanno S, Fukuda Y. Fibronectin and tenascin in rat tracheal wound healing and their relation to cell proliferation. *Pathol Int.* 1994;44(2):96-106.
9. Mackie EJ, Tucker RP. The tenascin-C knockout revisited. *J Cell Sci.* 1999;112 (Pt 22):3847-53.
10. Martin P. Wound healing aiming for perfect skin regeneration. *Science.* 1997;276:75-81.
11. Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004; 36(6):1031-7.
12. Mustoe TA, Pierce GF, Morishima C, Deuel TF. Growth factor induced acceleration of tissue repair through direct and inductive activities in rabbit dermal ulcer model. *J Clin Invest.* 1991;87:694-703.
13. Raitz R, Martins MD, Araújo VC. A study of the extracellular matrix in salivary gland tumors. *J Oral Pathol Med.* 2003;32(5):290-6.

14. Robson MC, Phillip LG, Cooper DM, Lyle WG, Robson LE, Odom L *et al.* Safety and effect of transforming growth factor-2 for treatment of venous stasis ulcers. *Wound Repair Regen.* 1995;3(2):157-67.
15. Rothe M, Falanga V. Growth factors: their biology and promise in dermatologic diseases and tissue repair. *Arch Dermatol.* 1989;125:1390-8.
16. Rudolph R, Ballantyne JR. D.L. Skin grafts. *In: McCarthy JG, May Jr JW, Littler JW. Plastic surgery.* Philadelphia: Saunders; 1990. v.1.
17. Sethi KK, Yannas IV, Mudera V, Eastwood M, McFarland C, Brown RA. Evidence for sequential utilization of fibronectin, vitronectin, and collagen during fibroblast-mediated collagen contraction. *Wound Repair Regen.* 2002;10(6):397-408.
18. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999; 341:738-46.
19. Siqueira Júnior JF, Dantas CJS. Mecanismos celulares e moleculares da inflamação. Rio de Janeiro: Medsi; 2000.
20. Suzuki N, Yokoyama F, Nomizu M. Functional sites in the laminin alpha chains. *Connect Tissue Res.* 2005;46(3):142-52.
21. Tonnessen MG, Feng X, Clark RAF. Angiogenesis and wound healing. *J. Investig Dermatol Symp Proc.* 2000;5(1)40-6.
22. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokine. *Physiol Rev.* 2003;83(3):835-70.
23. Zcharia E, Zilka R, Yaar A, Yacoby-Zeevi O, Zetser A, Metzger S *et al.* Heparanase accelerates wound angiogenesis and wound healing in mouse and rat models. *FASEB J.* 2005;19(2): 211-21.

Recebido em 4/9/2007

Aceito em 29/10/2007