



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MIKAELLA TUANNY BEZERRA CARVALHO

**MEMBRANA BIOATIVA DE COLÁGENO CONTENDO HESPERIDINA EM
LIPOSSOMAS PROMOVE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM MODELO
EXPERIMENTAL DE FERIDA CUTÂNEA ABERTA**

**ARACAJU-SE
2024**

MIKAELLA TUANNY BEZERRA CARVALHO	MEMBRANA BIOATIVA DE COLÁGENO CONTENDO HESPERIDINA EM LIPOSSOMAS PROMOVE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE FERIDA CUTÂNEA ABERTA	2024

MIKAELLA TUANNY BEZERRA CARVALHO

**MEMBRANA BIOATIVA DE COLÁGENO CONTENDO HESPERIDINA EM
LIPOSSOMAS PROMOVE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM MODELO
EXPERIMENTAL DE FERIDA CUTÂNEA ABERTA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito final à obtenção do grau de Doutora em Ciências da Saúde.

Área do Conhecimento: Estudos Clínicos e Laboratoriais Em Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Rosana de Souza Siqueira Barreto

**ARACAJU-SE
2024**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE –
BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

C331m Carvalho, Mikaella Tuanny Bezerra
Membrana bioativa de colágeno contendo hesperidina em lipossomas promove cicatrização de feridas em modelo experimental de ferida cutânea aberta / Mikaella Tuanny Bezerra Carvalho; orientadora Rosana de Souza Siqueira Barreto. – Aracaju, 2024.
118 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2024.

1. Ciências da saúde. 2. Feridas abertas. 3. Cicatrização de ferimentos. 4. Colágeno. 5. Hesperidina. 6. Lipossomas. I. Barreto, Rosana de Souza Siqueira, orient. II. Título.

CDU 616-001.4

MIKAELLA TUANNY BEZERRA CARVALHO

**MEMBRANA BIOATIVA DE COLÁGENO CONTENDO HESPERIDINA EM
LIPOSSOMAS PROMOVE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM MODELO
EXPERIMENTAL DE FERIDA CUTÂNEA ABERTA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito final à obtenção do grau de
Doutora em Ciências da Saúde.

Data da Aprovação: ____/____/____

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosana de Souza Siqueira Barreto
Universidade Federal de Sergipe - UFS

1º Examinador: Dr^a. Fabíolla Rocha dos Santos Passos
Universidade Federal de Sergipe - UFS

2º Examinador: Dr^a. Jullyana de Souza Siqueira Quintans
Universidade Federal de Sergipe - UFS

3º Examinador: Dr^a. Anne Karoline de Souza Oliveira
Faculdade São Luís de França - FSLF/SE

4º Examinador: Dr^o. Alan Bruno Silva Vasconcelos
Centro Universitário Ages - Sergipe

Dedico esse trabalho a minha mãe, Eliana, e ao meu pai, Valmou, propulsores de toda a força e determinação que emanam de mim.

AGRADECIMENTOS

Olho pra trás e vejo os últimos 11 anos da minha vida. 02 estados, nova rotina, novos desafios, novas amizades, medo, insegurança e principalmente a pior parte: ficar longe das pessoas que mais amo na vida. Foi fácil? Não!

Ao longo desses anos tudo valeu a pena. Cada desafio, cada erro, cada escolha, cada passo, cada lágrima (e foram muitas), todos os minutos, horas e dias dedicados à realização desse sonho.

Aqui estou eu, prestes a fechar mais um ciclo da minha vida. Orgulhosa de mim e do tanto que cresci e amadureci ao longo desses anos.

Agradeço primeiramente a Deus, pela presença constante em minha vida. Mesmo com todas as dificuldades encontradas ao longo desses anos, nunca hesitei em duvidar do teu amor por mim. A ti toda a minha gratidão.

Aos meus pais, esse título é NOSSO! Obrigada por suportarem a distância e por não medirem esforços para tornarem meus sonhos realidade. “Sigo no eterno labor de cumprir o que prometi a vocês antes de sair de casa há 11 anos: estou indo para me tornar alguém de quem vocês terão muito orgulho”.

Aos meus irmãos Luisa e Pedro, pelo amor e cuidado. Sem vocês seria difícil chegar até aqui

Aos meus familiares, em especial aos meus avós Josefa e Francisco, pelo amor, incentivo, torcida e oração. Obrigada por mostrar o dom da resiliência, da espera e do agir de Deus em minha vida.

À Ramom, meu noivo, pelo suporte nos momentos difíceis, por vibrar comigo a cada conquista e por nunca ter hesitado em me dizer um não para todas as idas e vindas de Petrolina x Aracaju. Seu amor, carinho, cuidado e compreensão foram primordiais para a conclusão desse sonho.

Ao Prof. Drº. Saulo Mariz, meu orientador de TCC na UFCG, por ter despertado em mim o interesse pela pesquisa.

À Prof. Dr^a Jullyana Quintans por toda dedicação e apoio em todos os momentos que precisei. Obrigada pelo abraço acolhedor nos momentos difíceis.

À Prof. Dr^a Rosana Barreto, minha orientadora, por me proporcionar a execução desse trabalho, o maior desafio da minha vida. “Se eu pudesse te dar algo, te daria a capacidade de ver a si mesmo através dos meus olhos, pra que então você perceba o quanto és especial para mim”. Obrigada pela confiança e incentivo ao longo desses anos.

Aos professores Dr^a. Anne Karoline, Dr^o. Alan Bruno, Dr^o. Marcelo Duarte, Dr^a. Priscila Lima e Dr^a. Fabíolla Rocha, membros da banca examinadora, tenho certeza que escolhi as pessoas certas para esse momento especial.

Ao meu amigo e parceiro de estudos Adenilson, pela companhia diária, amizade e parceria nos momentos de alegria e dificuldades. Certamente aprendemos muito um com o outro e vivemos momentos que serão sempre lembrados com muito carinho.

À Ana Maria, por toda ajuda para o desenvolvimento da parte tecnológica da pesquisa. Você é muito especial.

Aos meus amigos Alan e Kelison por terem sido minha segunda família em Aracaju. Lembrarei com muito carinho dos nossos lanches e cafés da tarde. Ter vocês ao meu lado tornou essa caminhada mais fácil e prazerosa!

À Ana, obrigada pelos inúmeros momentos de orações. Deus já tinha preparado tudo quando cruzou nossos caminhos.

Ao meu amigo Heitor, irmão de coração, por me abrir as portas para um “mundo novo” chamado pós-graduação. Recordar-se do nosso acordo em 2013? “Mika, eu vou para Aracaju e assim que terminar a faculdade você vem”. Heitor, graças ao seu incentivo eu vivi uma das melhores experiências da minha vida! Nunca vou poder te agradecer o suficiente por isso. Nosso acordo se cumpriu e em breve estarei com o título de doutora em mãos. Amo você!

As minhas amigas Lenise e Marília, pela paciência nos meus momentos de ausência, incentivo nos momentos de desânimo e preocupação nos momentos de tristeza.

À Ruthynha, minha amiga, companheira e parceira de todas as horas. Obrigada por todo carinho, incentivo e palavras de fé durante os meus momentos de aflição.

A todos os integrantes do LANEF e LAFAC, pelo incentivo, discussões científicas, trabalhos diários, ajudas nos experimentos e pelos momentos de descontração tão importantes para aliviar o estresse do dia-a-dia.

Aos meus amigos de Petrolina e Campina Grande por todo apoio e carinho.

A todos os funcionários do Departamento de Fisiologia, em especial as meninas da limpeza, que sempre me receberam com um sorriso frouxo todas as manhãs.

Aos animais, que doaram suas vidas pelo bem da ciência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Técnicos e Professores da UFS, por todo suporte.

Ao CNPq, FAPITEC, Universidade Federal de Sergipe e CAPES, pelo apoio financeiro para a realização dessa pesquisa.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.*

(Martin Luther King)

CARVALHO, M.T.B. MEMBRANA BIOATIVA DE COLÁGENO CONTENDO HESPERIDINA EM LIPOSSOMAS PROMOVE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE FERIDA CUTÂNEA ABERTA. 2024. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde - Universidade Federal de Sergipe – UFS, Aracaju, 2024.

RESUMO

Os flavonoides são uma classe de compostos com uma ampla variedade de funções biológicas, sendo uma importante fonte de novos produtos com potencial farmacêutico, inclusive no tratamento de feridas cutâneas. Desta forma, o trabalho objetivou avaliar o potencial cicatrizante dos flavonoides e das plantas medicinais, especialmente flavanonas, sobre a cicatrização de feridas. A fim de reunir evidências na literatura a respeito das propriedades cicatrizantes dos flavonoides em feridas cutâneas utilizando modelos animais, foi realizada uma revisão sistemática através de uma busca especializada em quatro bases de dados: PubMed, Scopus, Web of Science e Embase, resultando em cinquenta e cinco (55) artigos que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão estabelecidos. Nesta revisão, os flavonoides apresentaram efeitos em relação ao processo inflamatório, angiogênese, reepitelização e estresse oxidativo. Eles demonstraram ser capazes de atuar em macrófagos, fibroblastos e células endoteliais mediando a liberação e expressão de TGF- β 1, VEGF, Ang, Tie, Smad 2 e 3 e IL-10. Além disso, foram capazes de reduzir a liberação de citocinas inflamatórias, NF κ B, ROS e o fenótipo M1. Os flavonoides atuaram regulando positivamente as MMPs 2, 8, 9 e 13, e as vias Ras/Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt e NO. Posteriormente foi realizado um ensaio pré-clínico utilizando 72 Ratos (*Wistar*) que foram submetidos a uma excisão cutânea, através de um punch metálico de 8 mm, e randomizados nos grupos conforme tratamento: sem intervenção - (SI); controle - membrana de colágeno contendo lipossomas (COL) e membrana de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) – produto já depositado junto ao INPI BR 10 2023 023131 4. As áreas das feridas foram mensuradas através de um paquímetro digital no 3º, 7º, 14º e 21º dia pós-lesão e avaliadas histologicamente (coloração hematoxilina-eosina) quanto à resposta e tipo de infiltrado inflamatório, tecido de granulação, proliferação de fibroblastos, deposição de fibras colágenas e reepitelização na área de cicatrização. As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio do teste Análise de Variância, uma via, seguido pelo pós- teste de Tukey. Os resultados foram expressos como média $\pm$ E.P.M. e considerados significativos quando $p < 0,05$. Na análise da área de redução das feridas, os animais tratados com COL/HESP aumentaram significativamente o percentual de redução das feridas no 3º dia quando comparado ao grupo SI ($p < 0,01$) e no 7º dia quando comparado aos grupos SI ($p < 0,001$) e COL ($p < 0,001$). Na avaliação da intensidade da reação inflamatória, COL/HESP diminuiu o perfil inflamatório no 3º dia quando comparado aos grupos SI ($p < 0,01$) e no 7º dia quando comparado aos grupos SI ($p < 0,01$) e COL ($p < 0,05$), respectivamente. Na análise histomorfológica, COL/HESP aumentou significativamente as taxas de epitelização das feridas residuais no 3º dia quando comparado aos grupos SI ($p < 0,01$) e COL ($p < 0,05$) e no 7º dia quando comparado aos grupos SI ($p < 0,001$) e COL ($p < 0,01$). Conclui-se, assim, que os flavonoides, como a hesperidina, representam uma alternativa biotecnológica promissora, inovadora e com grande potencial para o tratamento de feridas.

DESCRIPTORIOS: Cicatrização de feridas. Colágeno. Inflamação. Flavanona. Hesperidina. Lipossomas.

CARVALHO, M.T.B. BIOACTIVE COLLAGEN MEMBRANE CONTAINING HESPERIDIN IN LIPOSOMES PROMOTES WOUND HEALING IN AN EXPERIMENTAL OPEN CUTANEOUS WOUND MODEL. 2024. Thesis. Postgraduate Program in Health Sciences - Federal University of Sergipe - UFS, Aracaju, 2024.

ABSTRACT

Flavonoids are a class of compounds with a wide variety of biological functions, being an important source of new products with pharmaceutical potential, including in the treatment of skin wounds. Thus, the work aimed to evaluate the healing potential of flavonoids and medicinal plants, especially flavonoids, on wound healing. In order to gather evidence in the literature regarding the healing properties of flavonoids in skin wounds using animal models, a systematic review was carried out through a specialized search in four databases: PubMed, Scopus, Web of Science and Embase, resulting in fifty and five (55) articles that met the established inclusion and exclusion criteria. In this review, flavonoids showed effects in relation to the inflammatory process, angiogenesis, re-epithelialization and oxidative stress. They have been shown to be capable of acting on macrophages, fibroblasts and endothelial cells by mediating the release and expression of TGF- β 1, VEGF, Ang, Tie, Smad 2 and 3 and IL-10. Furthermore, they were able to reduce the release of inflammatory cytokines, NF κ B, ROS and the M1 phenotype. Flavonoids acted to positively regulate MMPs 2, 8, 9 and 13, and the Ras/Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and NO pathways. Subsequently, a pre-clinical trial was carried out using 72 Rats (Wistar) that were subjected to skin excision using an 8 mm metal punch, and randomized into groups according to treatment: no intervention - (SI); control - collagen membrane containing liposomes (COL) and collagen membrane containing hesperidin in liposomes (COL/HESP) – product already deposited with INPI BR 10 2023 023131 4. The wound areas were measured using a digital caliper on the 3rd, 7th, 14th and 21st day post-injury and evaluated histologically (hematoxylin-eosin staining) for the response and type of inflammatory infiltrate, granulation tissue, fibroblast proliferation, deposition of collagen fibers and re-epithelialization in the healing area. Differences between groups were analyzed using the Analysis of Variance test, one way, followed by Tukey's post-test. The results were expressed as mean $\pm$ S.E.M. and considered significant when $p < 0.05$. In the analysis of the wound reduction area, animals treated with COL/HESP significantly increased the percentage of wound reduction on the 3rd day when compared to the SI group ($p < 0.01$) and on the 7th day when compared to the SI groups ($p < 0.001$) and COL ($p < 0.001$). When evaluating the intensity of the inflammatory reaction, COL/HESP reduced the inflammatory profile on the 3rd day when compared to the SI groups ($p < 0.01$) and on the 7th day when compared to the SI ($p < 0.01$) and COL ($p < 0.05$), respectively. In the histomorphological analysis, COL/HESP significantly increased the epithelialization rates of residual wounds on the 3rd day when compared to the SI ($p < 0.01$) and COL ($p < 0.05$) groups and on the 7th day when compared to the SI groups ($p < 0.001$) and COL ($p < 0.01$). It is concluded, therefore, that flavonoids, such as hesperidin, represent a promising, innovative biotechnological alternative with great potential for the treatment of wounds.

DESCRIPTORS: Wound healing. Collagen. Inflammation. Hesperidin. Flavavone. Liposomes.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1: Tipos de coberturas disponíveis para o tratamento de feridas..... 45

Tabela 2: Tipos de biopolímeros e suas indicações..... 57

CAPÍTULO V

Tabela 1: Teor ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) e EE (%) da Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas..... 89

Tabela 2: Distribuição da Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas..... 90

Tabela 3: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 3 dias após a confecção cirúrgica 98

Tabela 4: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 7 dias após a confecção cirúrgica 99

Tabela 5: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 14 dias após a confecção cirúrgica 100

Tabela 6: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 21 dias após a confecção cirúrgica 101

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura 1: Representação esquemática da pele	28
Figura 2: Representação das camadas da epiderme	29
Figura 3: Representação do grau de profundidade das feridas	32
Figura 4: Fases do processo de cicatrização de feridas	34
Figura 5: Polarização de macrófagos	37
Figura 6: Estrutura geral dos flavonoides	48
Figura 7: Estrutura química da hesperidina	50
Figura 8: Representação da estrutura básica dos lipossomas	54
Figura 9: Representação esquemática da incorporação de fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos nos lipossomas	55

CAPÍTULO IV

Figura 1: Fluxograma dos estudos incluídos	66
Figura 2: Estrutura química dos principais flavonoides com propriedades cicatrizantes	68

Figura 3: Qualidade dos estudos e avaliação do risco de viés utilizando a ferramenta SYRCLE	69
--	----

Figura 4: Mecanismos de cicatrização de feridas dos flavonoides em modelo animal	73
---	----

CAPÍTULO V

Figura 1: Processo de extração do colágeno.....	80
--	----

Figura 2- Punch metálico 8 mm para biópsia	84
---	----

Figura 3: Paquímetro digital para mensuração do índice de retração	85
---	----

Figura 4: Membrana bioativa de colágeno contendo hesperidina em lipossomas, após a secagem, obtida pelo método de <i>casting</i>	88
---	----

Figura 5: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 3 dias após a confecção da ferida	90
---	----

Figura 6: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 7 dias após a confecção da ferida	92
---	----

Figura 7: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 14 dias após a confecção da ferida	93
--	----

Figura 8: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 21 dias após a confecção da ferida	94
Figura 9: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a análise histológica das feridas residuais dos animais no 3º, 7º, 14º e 21º dias após a confecção da ferida excisional Os animais foram tratados e avaliados no 3º, 7º, 14º e 21º dia, respectivamente, após a confecção da ferida. (HE, ampliação de 400x)	96
Figura 10: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a intensidade da reação inflamatória no 3º, 7º, 14º e 21º dia pós-lesão	102
Figura 11: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epitelização em feridas cutâneas abertas no 3º dia pós-lesão	103
Figura 12: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epitelização em feridas cutâneas abertas no 7º dia pós-lesão	104
Figura 13: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epitelização em feridas cutâneas abertas no 14º dia pós-lesão	105
Figura 14: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epitelização em feridas cutâneas abertas no 21º dia pós-lesão	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina Aminotransferase
Ang-1	Angiopietina-1
Ang-2	Angiopietina-2
AST	Aspartato Aminotransferase
bFGF	<i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
CAT	Catalase
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
COL	Membranas bioativas de colágeno sem o fármaco
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COL/HESP	Membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas
COX	Ciclooxigenase
CT	Colesterol Total
DFS/UFS	Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
EE	Eficiência de Encapsulação
ECG	Epicatequina Galato
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EGCG	Epigallocatequina Galato

EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i>
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione
GST	Glutathione S Transferase
HbA1c	Hemoglobina Glicada
ICLAS	<i>International Council for Laboratory Animal Science</i>
IFN-γ	Interferon Gama
Ig-E	Imunoglobulina E
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1
IL - 1	Interleucina 1
IL - 10	Interleucina 10
IL - 12	Interleucina 12
IL - 13	Interleucina 13
IL - 1β	Interleucina 1 β
IL - 2	Interleucina 2
IL - 33	Interleucina 33
IL - 4	Interleucina 4
IL - 5	Interleucina 5
IL - 6	Interleucina 6

IL - 8	Interleucina 8
IL-1R	Antagonista do Receptor de Interleucina-1
iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide</i>
KGF	<i>Keratinocyte Growth Factor</i>
LAFAC	Laboratório de Farmacologia Cardiovascular
LANEF	Laboratório de Neurociências e Ensaios Farmacológicos
LCAT	Lecitina Colesterol Aciltransferase
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i>
LPL	Lipoproteína Lipase
LPP	Lesão por Pressão
LPS	Lipopolissacarídeos
LTB-4	Leucotrienos B4
M1	Macrófagos M1
M2	Macrófagos M2
MDA	Malondialdeído
MEC	Matriz extracelular
MMPs	Metaloproteinases
NFκB	<i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NO	<i>Nitric oxide</i>
NR	Não Relatado
Nrf2	<i>Erythroid-Derived Nuclear Factor 2</i>

OMS	Organização Mundial da Saúde
PDGF	<i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PDGF-BB	<i>BB Platelet Derived Growth Factor</i>
PGE-2	Prostaglandinas B2
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
PROSPERO	<i>International Prospective Register of Systematic Reviews</i>
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório
SI	Sem Intervenção
SOD	Superóxido dismutase
SYRCLE	<i>Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation</i>
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid</i>
TG	Triglicerídeos
TGF-α	<i>Transformative Growth Factor α</i>
TGF-β	<i>Transformative Growth Factor β</i>
TGF-β1	<i>Transformative Growth Factor β1</i>
Tie-2	Receptores Tirosina Quinase
TIMPs	<i>Tissue Metalloproteinase Inhibitors</i>
TNF- α	Tumor Necrosis Factor α
TXNRD-2	Tioredoxina Redutase 2
UVA	Raio Ultravioleta A

UVB

Raio Ultravioleta B

VEGF

Vascular Endothelial Growth Factor

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	24
1 INTRODUÇÃO.....	25
CAPÍTULO II	28
2 REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1 Pele	29
2.2 Feridas	32
2.3 Cicatrização de Feridas	35
2.4 Tratamentos de Feridas	44
2.5 Plantas Medicinais	47
2.6 Hesperidina	51
2.7 Lipossomas.....	54
2.8 Biopolímeros e Colágeno	57
CAPÍTULO III.....	61
3 OBJETIVOS.....	62
3.1 Objetivo Geral.....	62
3.2 Objetivos Específicos.....	62
CAPÍTULO IV.....	63
4 PROPRIEDADES CICATRIZANTES DOS FLAVONOIDES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DESTACANDO OS MECANISMOS DE AÇÃO	64
4.1 Métodos.....	65
4.1.1 Estratégias de busca	65
4.1.2 Seleção dos artigos.....	65
4.1.3 Extração de dados	66
4.1.4 Qualidade metodológica e risco de viés.....	66
4.2 Resultados	66
4.2.1 Estudos incluídos	66

4.2.2 Características dos estudos incluídos.....	68
4.2.3 Qualidade dos estudos e risco de viés.....	68
4.3 Discussão.....	71
4.4 Considerações finais e Perspectivas.....	75
CAPÍTULO V.....	79
5 EFEITO DA MEMBRANA BIOATIVA DE COLÁGENO CONTENDO HESPERIDINA EM LIPOSSOMAS (COL/HESP) SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM MODELO ANIMAL DE FERIDA CUTÂNEA EXCISIONAL.....	80
5.1 Material e Métodos	80
5.1.1 Material e Substâncias	80
5.1.2 Extração do Colágeno	80
5.1.3 Preparo das Membranas.....	81
5.1.4 Teor e Eficiência de Encapsulação da Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas	82
5.1.5 Uniformidade de conteúdo de Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas	83
5.1.6 Protocolos Experimentais	83
5.1.7 Descarte dos Animais	88
5.1.8 Análise Estatística.....	88
5.2 Resultados	89
5.2.1 Obtenção das Membranas COL/HESP	89
5.2.2 Eficiência de Encapsulação (EE) da Hesperidina nas Membranas de Colágeno Contendo Lipossomas	90
5.2.3 Uniformidade de conteúdo da Hesperidina nas Membranas de Colágeno Contendo Lipossomas	90
5.2.4 Efeito da COL/HESP sobre a Área de Redução das Feridas	91
5.2.5 Efeito da COL/HESP sobre a Composição Histomorfológica das Feridas	96
5.2.6 Efeito da COL/HESP sobre o Índice de Epitelização da Superfície da Ferida.....	104

5.3	DISCUSSÃO.....	108
	CAPÍTULO VI.....	115
6	CONCLUSÃO.....	116
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	117
8	PERSPECTIVAS.....	118
	REFERÊNCIAS.....	119
	ANEXOS.....	151
	ANEXO A: Declaração de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFS.....	151
	ANEXO B: Patente de Invenção (PI): Processo de Obtenção de Formulação Farmacêutica com Atividade Cicatrizante	152
	ANEXO C: Artigo Publicado Phytomedicine (QUALIS A1) FI:6.65	155
	ANEXO D: Cadastro no Prospero Artigo II.....	156
	ANEXO E: Submissão do artigo II - Front page e Comprovante de submissão	161
	ANEXO F: Texto para a comunidade I	163
	ANEXO G: Texto para a comunidade II	164
	ANEXO H: Texto para a comunidade III.....	165
	ANEXO I: Texto para a comunidade IV	166
	ANEXO J: Menção Honrosa no IX Simpósio Plantas Medicinais do Vale do São Francisco e 3rd France-Brazil Meeting on Natural Product.....	167
	ANEXO K: Menção Honrosa no IX Simpósio Plantas Medicinais do Vale do São Francisco e 3rd France-Brazil Meeting on Natural Product.....	168
	ANEXO L: Tabela 1: Visão geral das características dos estudos incluídos.	169

CAPÍTULO I

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas é definida como um processo fisiológico natural que ocorre em resposta aos danos estruturais dos tecidos, incluindo a pele (AFKHAMIZADEH et al., 2018). Esse processo envolve a produção e participação de fatores de crescimento, componentes de matriz extracelular, citocinas, quimiocinas e vários outros tipos de células. Além disso, o processo de cicatrização de feridas é caracterizado por quatro fases que ocorrem de forma precisa e coordenada: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação (ABBAS et al., 2019; AGBAGWA; EKEKE; ISRAEL, 2022). A interrupção de qualquer uma dessas fases - devido a causas sistêmicas ou locais - pode resultar em uma cicatrização prolongada ou em uma recuperação abaixo do ideal, marcada por uma falha em restaurar a arquitetura e a função do tecido em reparação (BERGMEIER et al., 2018).

Embora seja difícil fornecer dados epidemiológicos precisos sobre as feridas cutâneas, nos Estados Unidos as projeções de custos para todas as feridas variaram entre US\$ 28,1 a US\$ 96,8 milhões, incluindo os custos para o gerenciamento de infecções, entre as quais as feridas crônicas foram as mais caras de tratar (NUSSBAUM et al., 2018; ROSENBAUM et al., 2018). No Brasil, um estudo realizado em 2018 evidenciou que os custos médicos diretos anuais com feridas, em especial as feridas crônicas, foram em torno de R\$ 361 milhões, o que denota 0,31% dos gastos públicos com saúde nesse período (TOSCANO et al., 2018). Estima-se que até 2024 as despesas globais com tratamento de feridas atingirão mais de US\$ 24,8 bilhões (ALIZADEH et al., 2019). Desde modo, além dos custos diretos, ocorre um aumento indireto de despesas pela incapacidade dos indivíduos em exercer suas atividades laborais e de vida diária, tornando as feridas uma grande ameaça à saúde pública e à economia mundial (GUPTA; ROY, 2018; STEPHENS; BARTLEY; DUMVILLE, 2022)

A procura de formulações que possam acelerar o processo de cicatrização aumenta a cada dia (MORESKI; LEITE-MELLO; BUENO, 2018). Desafios como os efeitos secundários indesejados, desenvolvimento de resistência por microrganismos, bem como o elevado custo dos medicamentos, voltaram a atenção dos pesquisadores para as fontes naturais para o tratamento de feridas cutâneas (MASSOUD et al., 2022; SHEVELEV A.B. et al., 2020). Nas últimas décadas, devido ao reconhecimento do seu valor na prática clínica, o interesse público pelas terapias naturais aumentou, tornando os estudos químicos e farmacológicos necessários para que a sua utilização se torne segura e eficaz (BAHRAMI et al., 2019; BELAL et al., 2022; SHAN et al., 2017).

Deste ponto de vista, os produtos naturais não só constituem um imenso recurso de drogas bioativas com mecanismos de ação comprovados, mas também como ferramentas moleculares críticas para compreender disfunções celulares endoteliais, desequilíbrios celulares, moleculares e bioquímicos, ou outras condições de doença que podem ter efeitos prejudiciais no processo de cicatrização de feridas, impedindo o sucesso da reparação cutânea (LIN; ZHONG; SANTIAGO, 2017; ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018; SONG et al., 2022). Dentre as fontes naturais com interesse pela indústria para o desenvolvimento de novos produtos biotecnológicos no tratamento de feridas e na prevenção de doenças crônicas, destacam-se os flavonoides, apresentado como um conjunto diversificado de substâncias de origem natural e que compõem o grupo mais comum de polifenóis presente na dieta humana (CHEN et al., 2007, 2014).

Presente em uma variedade de frutas cítricas - em maior concentração nas cascas -, como laranjas e limões, a hesperidina (HESP) um flavonoide que pertence à classe das flavanonas, vem sendo bastante estudada nos últimos anos (GUPTA et al., 2022; TAYMOURI et al., 2021; ZHOU et al., 2019). Algumas das suas atividades farmacológicas já foram descritas, tais como: antioxidante, anti-inflamatória, antialérgica e antibacteriana. (ANANDAKUMAR P. et al., 2009; DA SILVA et al., 2019; HADDADI et al., 2018; LEE et al., 2004). No entanto, devido à sua baixa solubilidade e biodisponibilidade, estudos envolvendo nanotecnologia, como os lipossomas, têm sido desenvolvidos visando principalmente, aumentar a estabilidade, a solubilidade, e a biodisponibilidade, tornando a utilização terapêutica da substância mais segura e eficiente (ŁUKASIEWICZ et al., 2016; MARCONDES SARI et al., 2017; TSAI et al., 2015).

Frente ao exposto, o interesse do presente estudo pela atividade cicatrizante da HESP surgiu em virtude da ausência de um tratamento padrão ouro para o reparo de feridas cutâneas, associada à busca por uma terapia alternativa mais eficaz e com mecanismos anti-inflamatórios no processo de reparo. Portanto, torna-se fundamental explorar os efeitos da HESP na cicatrização de feridas cutâneas investigando os possíveis efeitos farmacológicos desejados ao se considerar o processo de cicatrização de feridas.

Com base em tudo que foi apresentado acima, levanta-se a hipótese que a formulação farmacêutica HESP pode futuramente torna-se uma alternativa promissora no desenvolvimento de novas propostas terapêuticas para o tratamento dessas feridas com menor custo, melhor eficácia e maior acessibilidade à população.

A presente tese está dividida em seis capítulos, o capítulo I o destinado à introdução, através de uma abordagem geral do tema; o capítulo II compreende a revisão de literatura de

todos os assuntos discutidos ao longo do trabalho; o capítulo III apresenta os objetivos; o capítulo IV sintetiza os principais mecanismos de ação dos flavonoides sobre o processo de cicatrização de feridas; o capítulo V investiga os efeitos das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a cicatrização de feridas cutâneas em modelo animal de ferida cutânea excisional; e por fim, o capítulo VI, que apresenta a conclusão do trabalho e as suas possíveis perspectivas para o futuro.

CAPÍTULO II

Revisão de Literatura

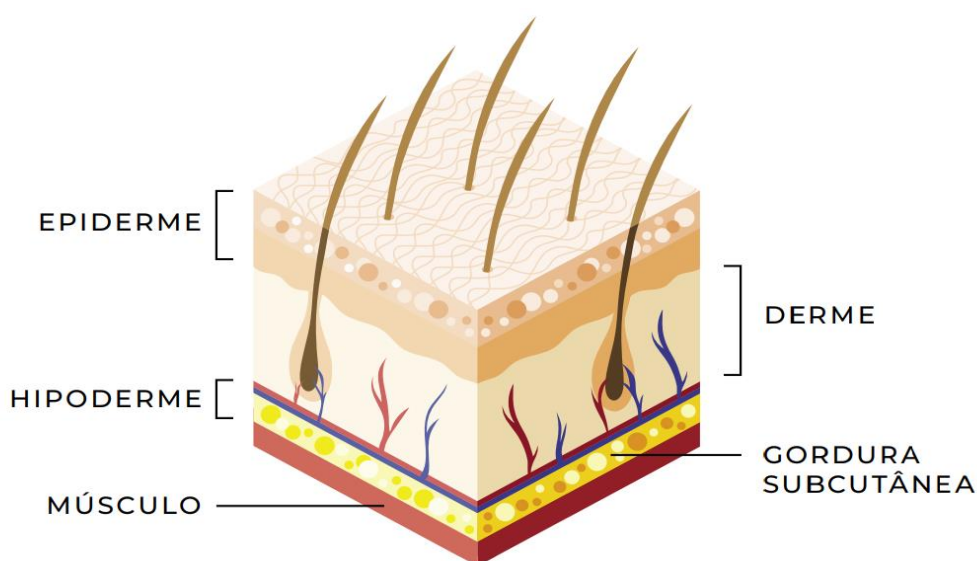
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pele

Conhecida como o maior órgão do corpo humano, a pele é composta por células justapostas que recobrem toda a superfície do corpo e constituem cerca de 20% do peso corporal (REINKE; SORG, 2012). Trata-se de um envoltório relativamente seco e impermeável que atua como uma barreira seletiva entre o meio externo e o interno, impedindo a entrada de micro-organismos e substâncias nocivas, controlando a perda de água, a movimentação de eletrólitos e macromoléculas (LORENCINI et al., 2014; RITTIÉ, 2016).

Além de fazer a comunicação com o meio ambiente, a pele tem a finalidade de proteção química, física, biológica e realiza, entre outras funções, a termorregulação e proteção imunológica (MORESKI; LEITE-MELLO; BUENO, 2018; RODRIGUES et al., 2019). Além disso, é capaz de filtrar uma faixa da radiação ultravioleta que compreende os raios ultravioletas A (UVA) e ultravioletas B (UVB), minimizando danos relacionados à fotossensibilização, queimaduras solares, fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese (GUSHIKEN et al., 2017; HORNG et al., 2017). Histologicamente, a pele é constituída por três camadas principais: a epiderme, derme e a hipoderme (Figura 1) (CARNEIRO; JUNQUEIRA, 2008).

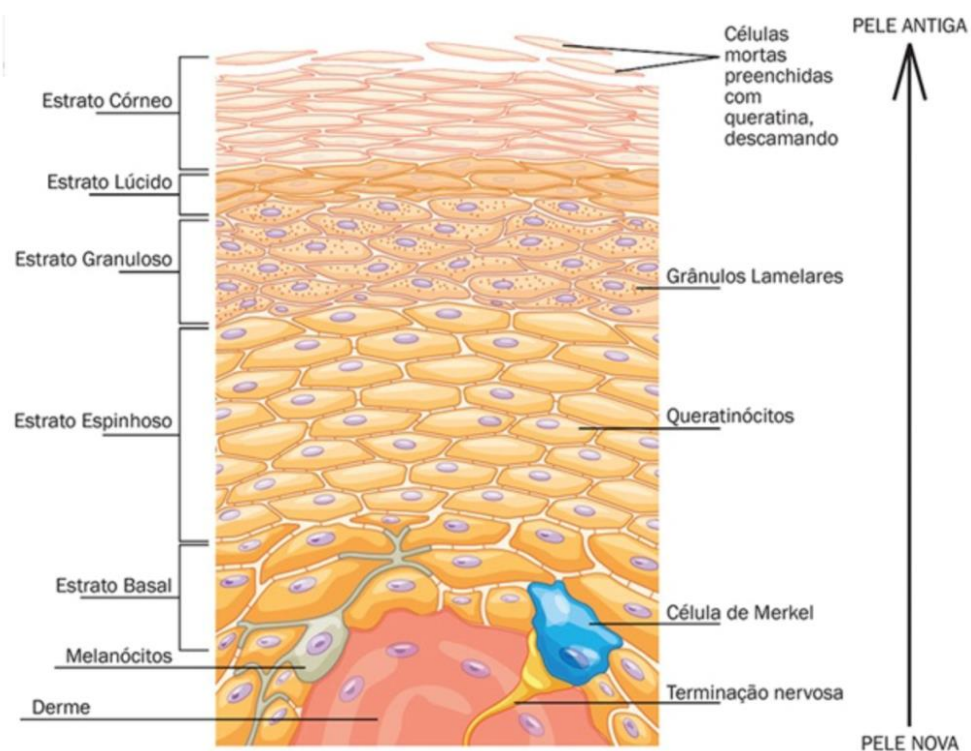
Figura 1: Representação esquemática da pele.



Fonte: Disponível em: <<https://www.sbd.org.br/cuidados/conheca-a-pele/>>. Acesso em: 02 de abril de 2023.

Considerada a camada mais externa da pele, a epiderme é constituída por um tecido epitelial estratificado pavimentoso queratinizado e apresenta células com determinadas funções específicas, tais como barreira mecânica (queratinócitos), produção de melanina (melanócitos), funções imunológicas (células de Langerhans) e percepção sensorial (células de Merkel) (DEVERAJ, 2014; PROKSCH; BRANDNER; JENSEN, 2008). Essa camada não possui vasos e os nutrientes juntamente com o oxigênio, chegam a ela por difusão a partir de vasos sanguíneos da derme. Além disso, a estratificação da epiderme se dá de acordo com o formato de suas células, sendo dividida em cinco subcamadas descritas em: estrato basal, espinhoso, granuloso, lúcido e córneo (Figura 2) (CARNEIRO; JUNQUEIRA, 2008).

Figura 2: Representação das camadas da epiderme.



Fonte: <<https://www.unifal-mg.edu.br/histologiainterativa/pele-e-anexos/>>. Acesso em: 02 de abril de 2023

O estrato basal é a camada mais profunda da epiderme, nessa região há uma intensa atividade mitótica que é responsável pela renovação da epiderme, motivo pelo qual também é chamado de estrato germinativo (GARTNER, 2007). Nessa camada, as células multiplicam-se constantemente e migram para a superfície formando os estratos subsequentes. Durante essa

migração ocorrem diversas alterações morfológicas e bioquímicas que resultam na diferenciação e corneificação dos queratinócitos, com o objetivo de repor as perdas de células córneas mortas a fim de manter a espessura da epiderme constante (LODEN; MAIBACH, 2013; MESCHER, 2009).

Localizado logo acima do estrato basal, o estrato espinhoso é composto por células cubóides, ligeiramente achatadas e com prolongamentos citoplasmáticos denominados de desmossomos, que são responsáveis pela manutenção da integridade da epiderme conferindo coesão e resistência ao atrito (STONE et al., 2016). Nesse estrato surgem os corpos lamelares, grânulos que contêm lipídeos, fosfatases ácidas, lipases, proteases e glicosidases que são reconhecidos como o primeiro sinal de queratinização (COUTURAUD, 2009).

Já o estrato granuloso, é considerado uma zona de transição entre células vivas e mortas repletas de queratina. Nessa camada, há presença de grande quantidade de grânulos de querato-hialina que conferem força e estrutura ao tecido (LODEN; MAIBACH, 2013). Em seguida, tem-se o estrato lúcido que é constituído por uma fina camada de células achatadas preenchidas por queratina que proporciona impermeabilidade de fluídos à membrana plasmática. Por fim, tem-se o estrato córneo, camada mais externa da epiderme constituída por queratinócitos em seu processo de maturação completo (WOLF; ARNOLDO, 2012). Essa camada apresenta descamação contínua e os queratinócitos mortos secretam beta-defensinas, que fazem parte do sistema de defesa do organismo contra patógenos e agentes químicos (JIA et al., 2018).

A derme é a segunda camada da pele, sendo constituída por terminações nervosas, folículos pilosos, músculos eretores do pelo, vasos sanguíneos e linfáticos, glândulas sebáceas e sudoríparas (CARNEIRO; JUNQUEIRA, 2008). A derme é composta por duas camadas, o estratopapilar e o estrato reticular. O estrato papilar encontra-se na porção superficial e está em contato com a epiderme sendo composto por tecido conjuntivo frouxo com fibrilas de colágeno que se inserem na membrana basal e penetram profundamente na derme, mantendo a união entre epiderme e derme (LUCEY; GOLDBERG, 2014). Já o estrato reticular é mais espesso e composto por tecido conjuntivo denso não modelado que possui feixes de colágeno fortemente entrelaçados, de natureza mais grosseira, com menor número de elementos celulares e maior número de fibras elásticas (LANE, 2013).

Abaixo e em continuidade com a derme encontra-se a hipoderme, também chamada de tecido subcutâneo ou panículo adiposo, é constituída por adipócitos, trabéculas colágenas frouxas e fibras elásticas (KAMMEYER; LUITEN, 2015). Como o tecido adiposo é o principal constituinte da hipoderme, o isolamento térmico é uma de suas principais funções

(BARONI et al., 2012). Além disso, atua como reservatório energético, barreira térmica, proteção mecânica contra pressões e traumatismos externos, fixa diversas estruturas e ainda facilita o deslizamento da pele sobre as estruturas na qual se apoia (WOLF; ARNOLDO, 2012).

Por se tratar da primeira barreira de proteção do corpo, a pele se encontra exposta a traumas ou lesões que podem resultar na perda de sua continuidade. Assim, rupturas da pele com ou sem perda tecidual podem causar desequilíbrios fisiológicos nesse órgão e em suas estruturas protetoras, tornando o corpo vulnerável a micróbios patogênicos e oportunistas (ALIASL et al., 2015).

2.2 Feridas

Caracterizadas como toda e qualquer lesão que proporcione perda da continuidade do tecido epitelial, as feridas podem atingir a epiderme, derme, tecido subcutâneo e a fáscia muscular, chegando a expor estruturas profundas do organismo (BOATENG; CATANZANO, 2015). Além disso, são responsáveis por inúmeros fatores fisiopatológicos que podem resultar em complicações como: elevação da taxa de infecção, aumento no tempo de internação hospitalar, tempo prolongado de inatividade das atividades de vida diária e aumento das taxas de morbidade e mortalidade (AN et al., 2018).

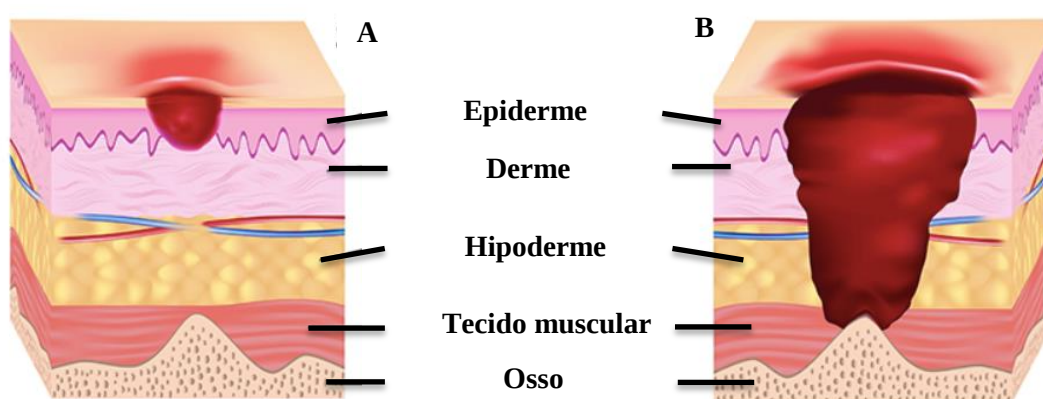
As feridas podem ser classificadas segundo diversos parâmetros, que auxiliam no diagnóstico, evolução e definição do tipo de tratamento, tais como: agente causal, grau de contaminação, profundidade, tempo de reparação e tipos de cicatrização das feridas (FRYKBERG; BANKS, 2015). Em relação ao agente causal podem ser classificadas como cirúrgicas, traumáticas ou ulcerativas. As cirúrgicas são ocasionadas por instrumentos cirúrgicos com finalidade terapêutica mediante incisão ou excisão da pele. As traumáticas são provocadas acidentalmente por agentes mecânicos, físicos, químicos ou biológicos. E por fim as ulcerativas, que ocorrem quando há impedimento do aporte de oxigênio e nutrientes no tecido lesionado (GROEBER et al., 2011).

Em seguida, pelo grau de contaminação são classificadas em limpas, contaminadas e infectadas. As feridas limpas ocorrem em condições assépticas e estão isentas de microrganismo. As contaminadas apresentam reação inflamatória e o risco de infecção da ferida já atinge entre 10% a 17%. E as infectadas possuem a presença de agente infeccioso no local da lesão com evidência de intensa reação inflamatória, como edema, vermelhidão, dor,

alteração de temperatura, presença de pus e destruição de tecidos (ZHAO et al., 2016). Quanto à profundidade podem ser superficiais envolvendo a epiderme e derme e profundas quando envolvem tecidos moles profundos, tais como músculos e fáscia muscular, podendo atingir cartilagens, tendões e ossos (Figura 3) (DEMIDOVA-RICE; HAMBLIN; HERMAN, 2012).

No que diz respeito aos tipos de cicatrização das feridas, elas podem acontecer por primeira, segunda ou terceira intenção que dependem da quantidade de tecido danificado e da presença ou não de um quadro inflamatório. Na cicatrização de primeira intenção as bordas são aproximadas por suturas, cliques ou cola cirúrgica, havendo perda mínima de tecido. Nas de segunda intenção ocorre perda excessiva de tecido sendo impossível a aproximação das bordas, deixando as feridas abertas para cicatrizarem por contração e epitelização (BLANPAIN; FUCHS, 2014; CALEY; MARTINS; O'TOOLE, 2015). Já nas de terceira intenção, as feridas são deixadas abertas, ocorre quando há presença de quadro infeccioso, para evoluir com a cicatrização de segunda intenção e posteriormente é realizada a aproximação das bordas, por sutura, para concluir o processo cicatricial (LINDHOLM; SEARLE, 2016; ZHAO et al., 2016).

Figura 3: Representação do grau de profundidade das feridas. A: Feridas Superficiais. B: Feridas Profundas.



Fonte: < <https://www.angioliifeclinica.com.br/blog/descubra-como-classificar-feridas/>>. Acesso em: 14 de abril de 2023.

Em relação ao tempo de reparação, são classificadas em agudas e crônicas. As agudas são feridas recentes, de curta duração que respondem rapidamente ao tratamento e cicatrizam sem complicações, sendo normalmente causadas por fatores externos, como traumas biológicos, químicos ou físicos (ABDUL KHAYUM; PRAVEENA; ARATHI, 2016). Em

seguida, temos as feridas crônicas que exibem um processo de reparo tecidual interrompido, onde a integridade anatômica e funcional da pele não é alcançada dentro de um período de tempo apropriado, ou seja, essas feridas apresentam um estado inflamatório constante e excessivo levando de quatro semanas até mais de três meses para cicatrizarem (BONIAKOWSKI et al., 2017). A grande maioria das feridas crônicas se enquadra em três categorias principais: úlceras venosas, lesões por pressão (LPP) e úlceras diabéticas (JÄRBRINK et al., 2016; MARTIN; NUNAN, 2015) .

No Brasil, as feridas acometem a população de forma geral, independente da idade, sexo ou etnia, com altos índices de morbidade e mortalidade (TOSCANO et al., 2018). No que diz respeito aos estudos envolvendo dados de incidência e prevalência, as informações são escassas devido à falta de anotações adequadas durante os atendimentos, constituindo-se, portanto, um grave problema de saúde pública (BEZERRA et al., 2015). Uma pesquisa realizada por Vieira e Araújo (2018) apontou que o Brasil apresenta taxas elevadas de prevalência de feridas crônicas, principalmente do tipo de LPP, podendo atingir até 11% da população (VIEIRA; ARAÚJO, 2018).

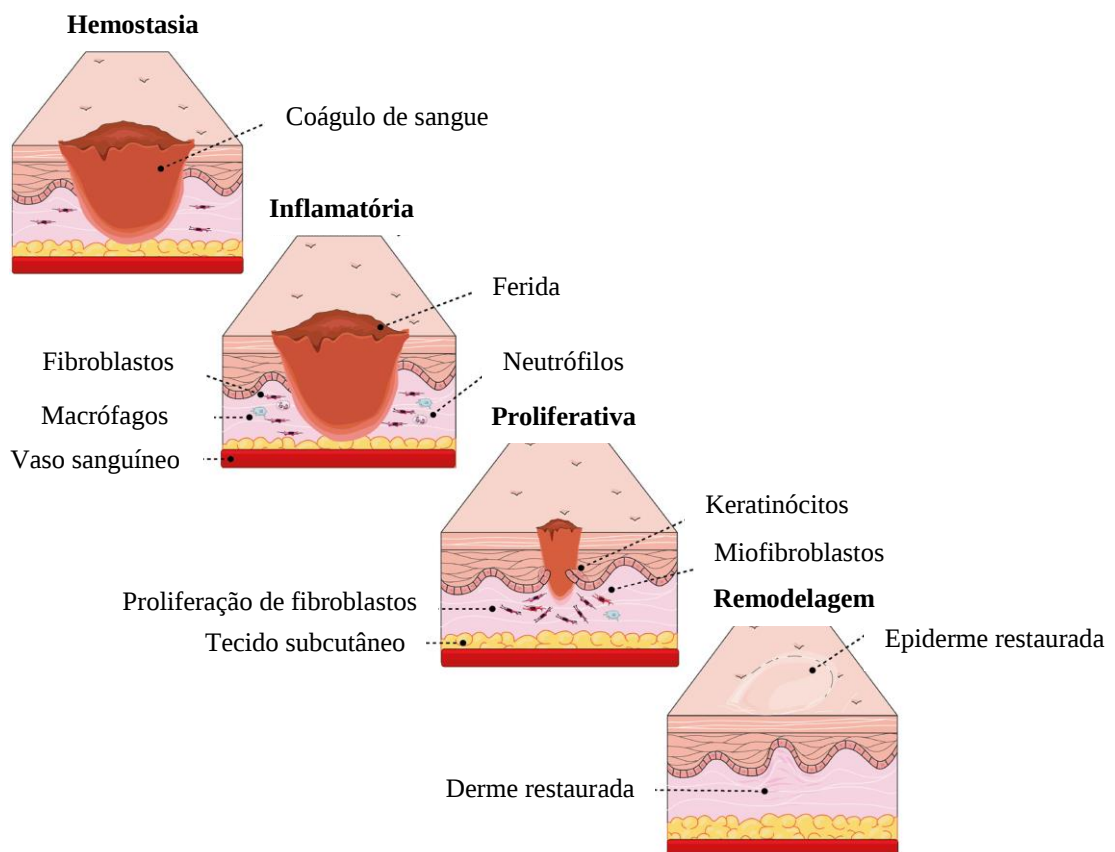
De acordo com um estudo realizado por Tetteh-Quarshie et al. (2021), estima-se que em alguns países da América, as feridas representam quase 3% dos custos totais do sistema de saúde, totalizando aproximadamente mais de US\$ 5 bilhões anualmente (TETTEH-QUARSHIE; BLOUGH; JONES, 2021). Nos Estados Unidos, as feridas crônicas, especialmente as úlceras de perna, afetam mais de 6.000.000 de pessoas, totalizando mais de US\$ 28 bilhões anualmente (ROSENBAUM et al., 2018). Estudos envolvendo a prevalência de feridas no Reino Unido e na Dinamarca indicam que a cada 1000 habitantes, três a quatro pessoas possuem uma ou mais feridas (HEYER et al., 2016; NUSSBAUM et al., 2018; STAN et al., 2021). De acordo com Adib et al. (2022), o aumento na incidência de feridas crônicas está relacionado tanto ao envelhecimento da população (maior expectativa de vida) quanto ao aumento concomitante de comorbidades, como diabetes, obesidade, hipertensão venosa e doença vascular periférica (ADIB; BENSUSSAN; MICHEL, 2022).

Portanto, diante do impacto socioeconômico que as feridas proporcionam aos pacientes e aos sistemas de saúde, é fundamental a compreensão dos mecanismos celulares e moleculares que envolvem o processo de cicatrização de feridas, a fim de permitir o desenvolvimento de novos recursos e tecnologias que possam otimizar a reparação tecidual, reduzir os gastos e o impacto negativo na qualidade de vida das pessoas acometidas por feridas independente da sua etiologia.

2.3 Cicatrização de Feridas

Com o intuito de promover a restauração do tecido lesado, o processo de cicatrização de feridas ocorre em uma sequência de alterações moleculares e celulares, sendo composto por quatro fases contínuas, sobrepostas e precisamente programadas: hemostasia, fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelação (MORRELL et al., 2014). Cada fase depende de fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas que estão envolvidos em uma complexa integração de sinais com o propósito de coordenar os processos celulares e garantir um reparo tecidual eficaz (STONE et al., 2016).

Figura 4: Fases do processo de cicatrização de feridas.



Fonte: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jdv.18854> >. Acesso em: 14 de abril de 2023.

2.3.1 Fase de Hemostasia

Primeira fase do processo de cicatrização de feridas, a fase de hemostasia tem início imediatamente após o trauma, com duração de até 24 horas, sendo constituída por eventos de vasoconstrição dos vasos sanguíneos, ativação plaquetária (adesão e degranulação) e formação dos coágulos de fibrina (ANOWER et al., 2014; ARKHIPOV et al., 2013).

A vasoconstrição é a primeira resposta à lesão vascular e atua como mecanismo de defesa contra a perda sanguínea (MANTOVANI et al., 2013). A vasoconstrição reflexa ocorre antes da ativação das plaquetas e da cascata de coagulação, onde o endotélio dos vasos danificados produz seu próprio vasoconstritor, a endotelina (BARRIENTOS et al., 2008). Além disso, outros mediadores de vasoconstrição como adrenalina, noradrenalina e prostaglandinas também são liberadas pelo endotélio e reduzem o sangramento após a lesão (BONIAKOWSKI et al., 2017).

As plaquetas, as principais células desta fase, circulam próximas as paredes do endotélio vascular e após o trauma aderem-se à parede dos vasos sanguíneos lesionados e ao colágeno exposto na matriz extracelular (MEC) bloqueando o extravasamento sanguíneo (WALLACE; BASEHORE; ZITO, 2023). Em seguida, a agregação plaquetária forma um coágulo de fibrina que impede o sangramento contínuo, estabelecendo uma barreira protetora e fornecendo um reservatório de substâncias liberadas pela degranulação das plaquetas.

Posteriormente, após a degranulação plaquetária ocorre a liberação de diversas citocinas, fatores de crescimento, como fator de crescimento transformador (TGF- β), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e fator de crescimento epidérmico (EGF), e de proteínas da matriz que estão armazenadas dentro dos grânulos alfa das plaquetas que são relevantes na constituição da nova MEC e na manutenção das outras fases do processo de cicatrização de feridas (COGER et al., 2019; OZGOK KANGAL; REGAN, 2023; RAZZAGHI et al., 2018).

Uma vez controlado o sangramento, os mediadores químicos envolvidos nessa fase promovem a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, favorecendo a quimiotaxia leucocitária para o leito da ferida dando início a fase inflamatória.

2.3.2. Fase Inflamatória

A fase inflamatória tem início entre 24 – 48 horas após a lesão sendo representada por vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e recrutamento de leucócitos para o local da lesão (EMING; MARTIN; TOMIC-CANIC, 2014). Com duração de três a quatro dias, a resposta inflamatória é essencial para fornecer fatores de crescimento e citocinas responsáveis pelos movimentos celulares e teciduais que são cruciais para os mecanismos subsequentes do reparo tecidual (ABBAS et al., 2019). Ademais, nessa fase temos a presença de células granulocíticas, como basófilos, mastócitos, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos, que são ativadas e, por sua vez, produzem e liberam vários mediadores solúveis que estimulam e regulam a resposta inflamatória (REINKE; SORG, 2012).

Os neutrófilos são as primeiras células inflamatórias atraídas pelos fatores quimiotáticos liberados no local da ferida, tendo como função primordial proteger a pele lesada de infecções (FORTINGO et al., 2022). Eles apresentam pico de infiltração nas primeiras 24 horas e estão envolvidos no controle da infecção por meio da fagocitose, da produção de substâncias bactericidas e no auxílio de desbridamento dos tecidos desvitalizados através da produção de elastases e collagenases (BOLLAG et al., 2020).

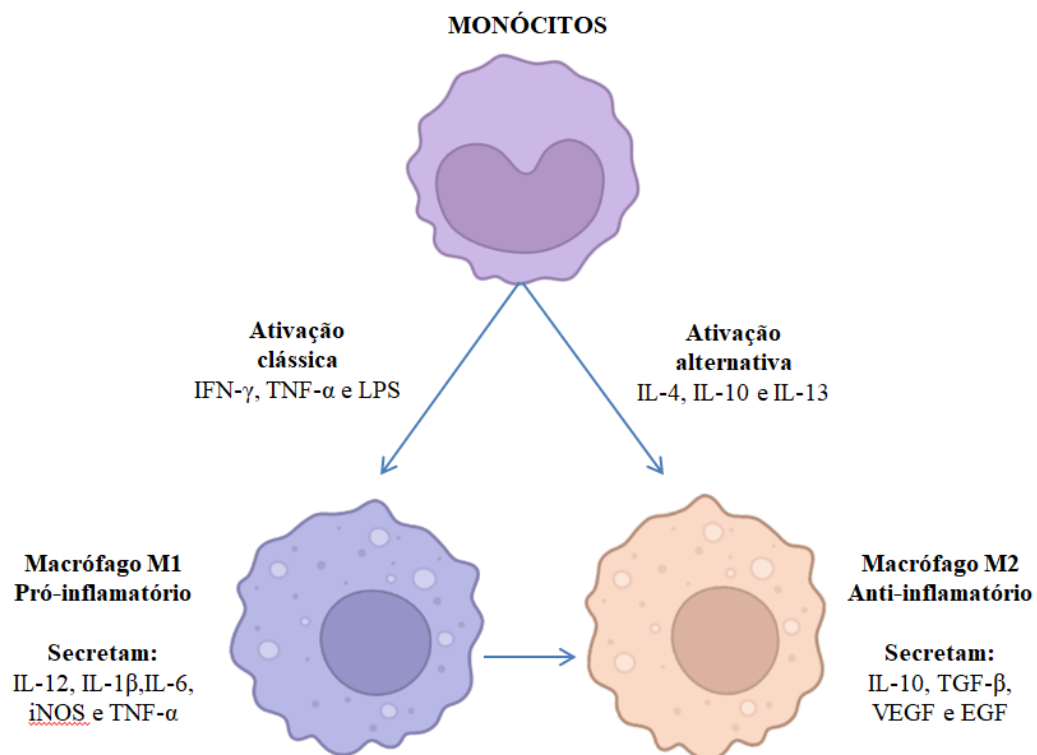
Além disso, os neutrófilos têm a capacidade de gerar múltiplas citocinas e fatores de crescimento que contribuem para o recrutamento de monócitos circulantes do sangue periférico, que posteriormente se diferenciam em macrófagos garantindo uma amplificação da resposta inflamatória no local da lesão (CHAZAUD, 2020). Com uma meia-vida curta de aproximadamente 72 horas, e após a eliminação de todos os contaminantes no local da lesão, a atividade dos neutrófilos diminui e posteriormente são eliminados pelo processo de apoptose, dando lugar aos macrófagos que passam a ser o tipo celular predominante originado da migração e diapedese dos monócitos circulantes (COSTA et al., 2013).

Os macrófagos são uma fonte importante de metaloproteinases de matriz (MMPs), citocinas pró-inflamatórias, como interleucina IL-12 (IL-12), interleucina IL-1 β (IL-1 β), interleucina IL-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e óxido nítrico induzível (iNOS), fatores de crescimento, tais como PDGF, fator de crescimento transformador β 1 (TGF- β 1) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), e citocinas anti-inflamatórias, como interleucina IL-4 (IL-4), interleucina IL-10 (IL-10) e interleucina IL-13 (IL-13), que desempenham um papel predominante na regulação e resolução da resposta inflamatória (ANOWER et al., 2014; GANESH; RAMKUMAR, 2020).

Conhecidos por sua capacidade de polarização, os macrófagos adquirem diferentes tipos de fenótipos de acordo com o seu local de ativação que determinam respostas fisiológicas distintas (MELTON et al., 2015). Duas classes de macrófagos com diferentes funções incluem os macrófagos M1 (M1), indutores da inflamação, e macrófagos M2 (M2), anti-inflamatórios, que são ativados pela via clássica e pela via alternativa, respectivamente (Figura 5) (WEIDENBUSCH; ANDERS, 2012).

Os M1 são tipicamente induzidos por citocinas Th1, tais como interferon gama ($\text{IFN-}\gamma$) e $\text{TNF-}\alpha$, e lipopolissacarídeos (LPS), além disso, secretam citocinas pró-inflamatórias, como IL-12, IL-1 β e IL-6 (ROCK et al., 2010). Estudos demonstraram que os M1 também são atuantes na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), contribuindo para o quadro de estresse oxidativo e redução dos níveis de óxido nítrico (NO) (RÓSZER, 2015). À medida que a resposta celular dos M1 vai reduzindo, os macrófagos convertem-se para o fenótipo M2, suprimindo a inflamação a fim de garantir o reparo tecidual (BRANCATO; ALBINA, 2011; MOORE; SHEEDY; FISHER, 2013).

Figura 5: Polarização de macrófagos.



Fonte: Próprio autor.

Na sequência, temos os M2, que são anti-inflamatórios e imunorreguladores. Esses macrófagos são induzidos por citocinas Th2, como IL-4, IL-10 e IL-13, e produzem citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF- β (MARTINEZ; GORDON, 2014). Além da defesa contra patógenos, os M2 limpam as células apoptóticas, atenuam a resposta inflamatória e promovem a cicatrização de feridas por meio da produção de mediadores da angiogênese, como o VEGF e o EGF (SICA; MANTOVANI, 2012). Vale ressaltar, que o equilíbrio entre os dois estados polarizados é responsável por mediar uma cicatrização adequada da ferida (GANESH; RAMKUMAR, 2020).

Também presentes na fase inflamatória, as quimiocinas desempenham um papel fundamental por meio da regulação da angiogênese e do recrutamento de células inflamatórias que secretam citocinas e fatores de crescimento para promover a cicatrização de feridas (ZUBAIR; AHMAD, 2019). Entre esses mediadores, as citocinas podem ser classificadas em citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-8, INF- γ e TNF- α , e anti- inflamatórias, como IL-4 e IL-10 (BEN DJEMAA et al., 2016).

A IL-1 β é uma das principais citocinas que regulam o processo inflamatório ao participarem da resposta imune do hospedeiro contra os microorganismos (KIM; NAIR, 2019). Essa citocina atua no aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos, produção de prostaglandinas por indução da enzima ciclooxygenase (COX) e indução de moléculas de adesão na parede dos vasos com o intuito de promover o processo migratório de leucócitos para o local da lesão (LEGRAND; MARTINO, 2022).

Já a IL-8 e TNF- α , também conhecidos como mediadores pró-inflamatórios, são importantes na adesão de leucócitos à parede dos vasos, promovendo a quimiotaxia, e na ativação de células endoteliais que contribui para o recrutamento e acúmulo de fagócitos na área inflamada (BERRY-KILGOUR; CABRAL; WISE, 2021). Por sua vez, o INF- γ está envolvido na indução da resposta imune nos locais de lesão e sua atividade pode desempenhar um papel importante na terapia de feridas infectadas removendo os restos celulares a fim de promover a cicatrização e reorganização das áreas com inflamação (KRIZANOVA et al., 2022).

Com o intuito de promover uma regulação na inflamação local, a IL-10, citocina anti-inflamatória, é liberada e exerce uma importante função na modulação dessa etapa garantir a infiltração de neutrófilos e monócitos para o local do dano tecidual (XU et al., 2021). Além disso, é capaz de inibir a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF- α , evitando a cronificação do processo inflamatório (SÜNTAR et al., 2021). Adicionalmente, há IL-4, outra citocina anti-inflamatória que auxilia na síntese de anticorpos por plasmócitos,

ativação de eosinófilos e participação na resposta cicatricial e nos processos fibróticos (SERRA et al., 2017).

A produção dos mediadores inflamatórios é regulada, em parte, pelo fator nuclear kappa B (NF κ B) (MESSADI et al., 2004). O mesmo ainda desempenha um papel fundamental na regulação da resposta imune à infecção e protege as células do processo de apoptose em resposta ao estresse celular (FRANZ et al., 2022). No citoplasma ele é inativo porque está ligado ao seu inibidor (I κ B) (ISHISE et al., 2015). Após um estímulo adequado, o I κ B é fosforilado, liberando o NF- κ B. O NF- κ B, liberado da inibição do I κ B, é translocado para o núcleo onde promove a transcrição de genes (GAMBLE et al., 2012). Nas feridas, o estímulo através de mediadores inflamatórios fosforila o I κ B e promove a translocação do NF- κ B para o núcleo, estimulará a produção de citocinas pró-inflamatórias (MOTTA et al., 2014).

Presentes na fase inflamatória, a síntese de radicais livres e EROs pelas células inflamatórias contribui para a defesa contra patógenos e medeia vias intracelulares importantes para a resolução dessa fase (RINNERTHALER et al., 2015). No entanto, quantidades excessivas de radicais livres e EROs promovem estresse oxidativo tecidual, causando efeitos deletérios nas membranas celulares, proteínas e ácidos nucléicos (SPOONER; YILMAZ, 2011). Esse estresse tecidual causado por vias bioquímicas ativadas, como a via AGE/RAGE, resulta na produção de mediadores inflamatórios, degeneração de pericitos, espessamento da membrana basal, hiperplasia endotelial, redução de NO, vasodilatação prejudicada e aumento de biomarcadores pró-coagulantes, como TNF- α e IL-6 (AMINZADEH et al., 2013; BANERJEE; MUKHOPADHYAY, 2018). Logo, inibir a produção excessiva de ROS é uma característica importante no processo cicatricial de feridas (REZUCHOVA et al., 2019).

O desequilíbrio redox entre as atividades oxidantes e antioxidantes é um fator que aprisiona as lesões na fase inflamatória, pois causa citotoxicidade que resulta em atraso na cicatrização de feridas (ASONG et al., 2019). Dentre as enzimas antioxidantes, temos o superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) que atuam como mecanismos de defesa mantendo quantidades aceitáveis das EROs para um bom reparo tecidual (SOUZA et al., 2015). No entanto, quantidades excessivas de EROs atenuam as atividades dos antioxidantes levando à peroxidação de proteínas e lipídios, danos ao DNA e até morte celular (PUSHPAVALLI et al., 2010). Em feridas crônicas, assim como em feridas agudas, a atividade dos antioxidantes enzimáticos, como CAT, SOD e GPx plasmáticas e teciduais, aumentam na tentativa de combater o dano oxidativo (SAREILA et al., 2011).

Ao final dessa fase, à medida que a inflamação diminui, a reconstituição dérmica começa e as células endoteliais juntamente com os fibroblastos começam a se acumular no local da ferida para sintetizar o tecido de granulação e iniciar a fase proliferativa.

2.3.3 Fase Proliferativa

Sobrepondo a fase inflamatória, a fase proliferativa ocorre do 4º ao 10º dia após a lesão, podendo estender até o 14º dia, e tem como foco principal a reepitelização, restauração da rede vascular (angiogênese), fibroplasia, deposição de fibras colágenas e formação do tecido de granulação (MAZINI et al., 2020; VELNAR; BAILEY; SMRKOLJ, 2009). Nessa fase temos a presença de uma intensa atividade celular com o objetivo de diminuir a área da lesão e formar tecido de granulação e epitélio (MORRELL et al., 2014).

A reepitelização tem a finalidade de reestruturar as funções da epiderme que foram perdidas em decorrência da lesão (DINIZ et al., 2023). Este processo é ativado por vias de sinalização de células epiteliais e não epiteliais nas bordas da ferida que liberam diferentes citocinas e fatores de crescimento, como EGF, TGF- α e fator de crescimento dos queratinócitos (KGF), a fim de permitir uma intensa migração e proliferação de queratinócitos sobre uma MEC provisória rica em fibrina e fibronectina (BROUGHTON; JANIS; ATTINGER, 2006; PAZYAR et al., 2014). Presentes na camada basal da pele, os queratinócitos apresentam um grau de especificidade que permite o reconhecimento de células semelhantes no mesmo ambiente. Essas células se reconhecem, aderem-se umas às outras e o contato de células semelhantes inibem as divisões mitóticas e regulam a proliferação celular (GRANDI et al., 2022).

Em tecidos não lesionados, as células encontram-se em inibição por contato com o propósito de impedir um crescimento desordenado através dos processos mitóticos inadequados (MONAVARIAN et al., 2019). Uma vez instalada a lesão, essa propriedade é perdida e os sinais químicos, como citocinas e fatores de crescimento, permitem a migração e proliferação de células da camada basal para preencher toda a região lesada e estratificar um novo epitélio (MARTIN; NUNAN, 2015). À medida que o leito da ferida for preenchido por células epidermais, e ocorra o encontro entre as células da borda oposta da ferida, o mecanismo de inibição por contato é ativado, o processo mitótico é bloqueado e as células voltam a apresentar o fenótipo original finalizando o processo de reepitelização com a membrana basal refeita (TOTTOLI et al., 2020).

Concomitantemente a reepitelização, a angiogênese é essencial para uma cicatrização normal devido à demanda de oxigênio para as atividades de alto consumo de energia no reparo de feridas (GOPALAKRISHNAN et al., 2016). Em resposta ao quadro de hipóxia, fatores de crescimento, como FGF, VEGF e o TGF- β , são liberados para reparar os vasos lesionados (AN et al., 2018). Nesse processo, ocorre a liberação de proteases para degradar a lâmina basal da MEC provisória a fim de facilitar a migração e proliferação das células endoteliais em direção à origem do estímulo angiogênico, permitindo o fornecimento de oxigênio e nutrientes para o novo epitélio (HONNEGOWDA et al., 2015).

Além do VEGF, as angiopoetinas, outro tipo de fator de crescimento vascular, também atuam na formação de novos capilares (XUE; JACKSON, 2015). Ao contrário do VEGF, as angiopoetinas, especialmente as angiopoietina-1 (Ang-1) e a angiopoietina-2 (Ang-2), não atuam na proliferação das células endoteliais, mas sim na diferenciação e amadurecimento dos vasos neoformados (WILLENBORG et al., 2012).

Presente na fase proliferativa, a fibroplasia é caracterizada pelo recrutamento de fibroblastos das margens da ferida e consequente produção de colágeno por essas células, sendo as fibras do tipo III (fibras curtas, finas e sem resistência) as primeiras a serem depositadas (TRACY; MINASIAN; CATERSON, 2016). Esse recrutamento é estimulado através de sinais químicos que são liberados por várias citocinas e fatores de crescimento, tais como: PDGF, FGF, VEGF, TGF- α , TGF- β , TNF- α , IL-2 e IL-8 (FENG et al., 2016; SUGA et al., 2014; WILKINS; UNVERDORBEN, 2013). Uma vez recrutados, os fibroblastos aderem-se à rede de fibrina, se multiplicam e secretam os componentes protéicos do tecido cicatricial, como fibronectina, glicosaminoglicanos, proteoglicanos e ácido hialurônico (FENG et al., 2016; GANESHKUMAR et al., 2012; LEVINSON, 2013). Vale ressaltar, que após a migração dos fibroblastos ocorre uma alteração fenotípica nessas células transformando-as em miofibroblastos, principal componente celular que garante a contração da ferida através das proteínas de actina e miosina que são responsáveis pela contração muscular (ARWERT; HOSTE; WATT, 2012; MANTOVANI et al., 2013).

Caracterizado por uma gama de compostos celulares, o tecido de granulação é composto por fibroblastos, granulócitos, macrófagos, capilares sanguíneos e feixes de colágeno frouxamente organizados (MARCONI et al., 2021). A formação desse tecido é considerada a parte final da fase proliferativa e a sua produção é mantida até que a reepitelização esteja completada, além disso, o tecido de granulação apresenta como funções preencher e proteger a ferida, servir de superfície para a reepitelização e conter

miofibroblastos responsáveis pela contração da lesão (JOHNSON; WILGUS, 2014; STONE et al., 2016).

Ao final dessa fase, quando a deposição de colágeno na MEC atinge um nível ideal, a produção de colágeno tipo 3 é reduzida e, assim como as células endoteliais dos vasos neoformados, os fibroblastos sofrem apoptose e o tecido de granulação vai sendo substituído por uma cicatriz dando início à fase de remodelação.

2.3.4 Fase de Remodelação

Última etapa do processo de cicatrização de feridas, a fase de remodelação começa em torno do 21º dia e pode durar anos após a lesão. Nessa fase, ocorre a regressão dos capilares recém-formados, ausência de células inflamatórias e a substituição das fibras de colágeno tipo III por fibras de colágeno tipo I (KUFFLER, 2016; PENN; GROBBELAAR; ROLFE, 2012).

O colágeno é uma das proteínas mais abundantes da MEC, sendo fundamental na organização do tecido e na sua resistência (JIANG et al., 2015). Na fase proliferativa, o colágeno produzido inicialmente (tipo III) é mais fino do que o colágeno presente na pele normal e apresenta uma orientação desordenada à pele (ZHAO; ROLANDI; ISSEROFF, 2022). Na fase de remodelação, o colágeno tipo III é reabsorvido e um colágeno mais espesso é sintetizado (tipo I) e depositado de maneira mais organizada, com pequenos feixes paralelos ao longo das linhas de tensão da pele, aumentando a resistência à tração e a integridade estrutural para proporcionar um aumento da força tênsil da ferida (KALLIS; FRIEDMAN, 2018; ROSS, 2021).

A reorganização da MEC e das fibras colágenas é regulada, em parte, pela ação de enzimas proteolíticas como as MMPs, que atuam na degradação do colágeno tipo III enquanto a síntese do colágeno tipo I acontece (SÜNTAR et al., 2021). Para que o remodelamento ocorra de maneira dinâmica, os inibidores teciduais das metaloproteinases da matriz (TIMPs) atuam em conjunto com as MMPs para proporcionar eficácia no processo de manutenção do equilíbrio metabólico e estrutural da nova MEC (KASUYA; TOKURA, 2014). Portanto, é imprescindível o equilíbrio entre MMPs e TIMPs, lise e síntese de colágeno e outros componentes da MEC, para que não haja destruição e perda das propriedades normais da pele e levem à cronicidade da ferida ou surgimento de cicatrizes patológicas (CALEY; MARTINS; O'TOOLE, 2015; SCHMIDT et al., 2019).

Ao final desta etapa, os anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas sebáceas, já estão presentes e o tecido de granulação rico em células é convertido em uma cicatriz hipocelular preenchida por fibras de colágeno organizadas, resistentes e paralelas à pele (DE ALENCAR FONSECA SANTOS et al., 2018).

Por fim, ressalta-se a importância de reconhecer todas as fases do processo de cicatrização de feridas e os mecanismos de ação envolvidos, pois, a compreensão desses eventos contribui positivamente nos avanços para desenvolvimento de novas tecnologias e opções terapêuticas para o tratamento adequado das feridas.

2.4 Tratamentos de Feridas

Os protocolos para tratamento de feridas são variados e devem levar em consideração vários aspectos que indicam a sua gravidade, como: localização, profundidade, extensão, presença ou não de infecção, agente causador, estado nutricional dos pacientes e presença de doenças crônicas (HAN et al., 2012). Salienta-se ainda, que todos esses aspectos afetam o processo de cicatrização e influenciam na escolha do tratamento adequado (NUSSBAUM et al., 2018).

Durante o tratamento de pacientes acometidos por feridas, os aspectos socioeconômicos são relevantes e devem ser levados em consideração, pois os procedimentos terapêuticos demandam tratamento imediato para auxiliar na reparação, proteção contra infecções e restauração das funções normais da pele gerando em muitos casos custos elevados (SORG et al., 2017). Um estudo epidemiológico realizado por Galvão (2017) relatou que no Brasil, precisamente no estado de Manaus, a prevalência de feridas foi maior em homens com idade média entre 60,4 anos com baixa escolaridade (GALVÃO, 2017). Outro estudo de Vieira e Araújo (2018) apontou que a prevalência das feridas são maiores em pessoas idosas, sem escolaridade e de baixa renda familiar (VIEIRA; ARAÚJO, 2018).

Atualmente, várias opções terapêuticas podem ser utilizadas nas diferentes etapas de tratamento das feridas, como: higienização, controle do exsudato, desbridamento, diminuição da população bacteriana, estímulo à granulação e proteção da reepitelização (MURPHY; EVANS, 2012). Embora muitos estudos já tenham sido propostos, ainda não há um consenso sobre o tipo de tratamento mais eficaz para todos os tipos de feridas e o segredo do sucesso terapêutico está principalmente no conhecimento e compreensão dos fenômenos envolvidos

nas diversas fases do processo de cicatrização para que seja possível desenvolver um protocolo assistencial adequado (BOERMAN et al., 2023; LOGAN, 2015).

No mercado mundial, vários tratamentos estão disponíveis para as feridas, como: os curativos, coberturas, terapia por pressão negativa, estimulação por corrente, ultrassom, laserterapia ou LED terapia, oxigenoterapia hiperbárica e ozonioterapia (HOWE, 2015; MICKELSON; MANS; COLOPY, 2016; STANLEY, 2017; YIP, 2015; ZHAO; ROLANDI; ISSEROFF, 2022). Entretanto, muitos apresentam baixa efetividade farmacológica, de acordo com o tipo de lesão, e custos elevados para os pacientes (DHIVYA; PADMA; SANTHINI, 2015; HAN; CEILLEY, 2017).

Nos últimos anos, os curativos tradicionais (a base de lã e algodão), que oferecem passivamente a segurança da ferida e não apresentam função ativa no processo cicatricial, vêm sendo substituídos por curativos inovadores, conhecidos também por coberturas, que são proficientes em fornecer um ambiente favorável e distribuir substâncias ativas para a ferida com o propósito de facilitar o reparo tecidual (STAN et al., 2021).

Nesse sentido, uma infinidade de materiais e combinações, tanto sintéticos quanto naturais, têm sido utilizados através de inúmeras formulações para tratar diversos tipos de feridas, tais como: esponjas, hidrogéis, filmes transparentes, hidrocolóides e hidrofibras (BHARDWAJ; CHOUHAN; MANDAL, 2017) (Tabela 1). De maneira geral, espera-se que esses curativos sejam capazes de fornecer/manter um ambiente úmido, permitir troca gasosa, proteger contra invasão bacteriana, proporcionar isolamento térmico e que sejam de fácil armazenamento, aplicação e remoção a fim de evitar danos ao tecido circundante (TORRES; COMMEAUX; TRONCOSO, 2013). Além disso, devem ser atóxico e hipoalergênicos para não causar nenhuma resposta imune no local da ferida (NEGUT; DORCIOMAN; GRUMEZESCU, 2020).

Também disponíveis como alternativa aos curativos de gaze tradicionais, podemos citar os substitutos biológicos da pele, substitutos da pele produzidos por bioengenharia, incluindo produtos autólogos cultivados e não cultivados (xenoenxertos e aloenxertos), e os curativos biossintéticos da pele que estão disponíveis para produzir o fechamento fisiológico da ferida até que a camada epidérmica seja reparada (DĄBROWSKA et al., 2016; KIM et al., 2019). Apesar da diversidade com diferentes aplicações, vantagens e desvantagens a escolha de qual substituto cutâneo empregar é determinada por vários fatores como: tipo, tamanho e profundidade da ferida, comorbidades presentes, acessibilidade do paciente, custo benefício e que seja capaz de minimizar o desgaste físico e emocional para os pacientes (BOATENG; CATANZANO, 2015).

Tabela 1: Tipos de coberturas disponíveis para o tratamento de feridas.

Tipo de cobertura	Composição	Mecanismo de ação	Indicações	Desvantagens
Curativo não-aderente	Tela de acetato de celulose e/ou tela de raio com emulsão de petrolato	Promover meio úmido	Queimaduras parciais, áreas doadoras e receptoras de enxertos e lacerações	Não deve ser usado na presença de infecção e exsudato; necessita de trocas frequentes
Curativo não-aderente com silicone	Tela de poliamida com silicone	Livre fluxo de exsudato e remoção atraumática; proporciona meio úmido; possibilita menor número de trocas de curativo	Queimaduras parciais, áreas doadoras e receptoras de enxertos e lacerações	Não deve ser usado na presença de infecção e de grande quantidade de exsudato
Filme transparente	Polímero de poliuretano, com uma das faces de adesivo de acrílico	Cobertura impermeável à água e micro-organismos; manutenção do leito úmido; possibilita menor número de trocas de curativo	Visibilização do leito, feridas superficiais sem exsudato; áreas doadoras de enxertos	Não deve ser usado na presença de infecção e de grande quantidade de exsudato
Espuma polimérica com ou sem prata	Matriz de poliuretano e silicone com ou sem prata	Absorção com isolamento térmico; ação bacteriostática da prata; possibilita trocas menos frequentes	Feridas exsudativas, profundas, úlceras residuais com colonização bacteriana crônica pós-enxertia de pele	Não deve ser usada em feridas simples e secas
Hidrocolóide	Polímero de poliuretano semipermeável (face externa) e carboximetilcelulose, gelatina e pectina (face interna)	Absorve pequeno volume de exsudato; mantém o meio úmido	Proteção de proeminência óssea e feridas com lesão parcial de pele	Não deve ser usado na presença de infecção e de grande quantidade de exsudato; necessita de trocas frequentes
Hidrogel	Polímero de álcool de polivinil, poliácridamidas e polivinil	Mantém ambiente úmido, possibilitando, liquidação de materiais necróticos (desbridamento autolítico)	Queimaduras e feridas com tecidos desvitalizados (esfacelos e necrose úmida)	Não deve ser usado na presença de infecção e de exsudato
Alginato de cálcio	Fibras de algas marinhas impregnadas com cálcio	O cálcio induz hemostasia; capacidade de absorver exsudatos; desbridamento autolítico	Feridas abertas exsudativas, cavitárias e sangrantes	Não deve ser usado em feridas simples e secas
Carvão ativado com prata	Fibras de carvão ativado impregnado com prata 0,15%	O carvão ativado adsorve o exsudato e diminui o odor; a prata exerce função bacteriostática	Feridas fétidas, exsudativas e infectadas	Não deve ser usado em feridas simples e secas
Malha com prata	Malha com sais de prata	Prata iônica causa precipitação de proteínas, agindo na membrana citoplasmática da bactéria (bacteriostática)	Feridas com infecção; queimaduras profundas e extensas	Não deve ser usada em pacientes com hipersensibilidade à prata

Fonte: Adaptado de KOLIMI et al., 2022.

Devido à complexidade patológica e fisiológica do processo de cicatrização, a perfeita regeneração dos tecidos é difícil de ser alcançada (SINGH; SHITIZ; SINGH, 2017; YU; ZHANG; GUO, 2021). Atualmente, várias pesquisas estão sendo realizadas no intuito de desenvolver novos recursos e tecnologias que permitam o monitoramento das feridas e entrega de substâncias biologicamente ativas, que orientem a adesão, proliferação, diferenciação celular e formação de um tecido cutâneo intacto, com maior efetividade farmacológica, baixo custo e acessibilidade à população (DÍAZ-GARCÍA et al., 2021; HOSSEINI; SHAFIEE, 2021; NETHI et al., 2019; POWERS et al., 2016).

Nesse contexto, torna-se necessário o desenvolvimento de novos tratamentos, bem como, o uso de novas estratégias relacionadas com a incorporação de fármacos sintéticos ou produtos naturais em sistemas versáteis, que promovam a aceleração do processo de reparo cicatricial de maneira eficaz e segura e que sejam produzidos a partir de matérias-primas de baixo custo e fácil obtenção (PILEHVAR-SOLTANAHMADI et al., 2018; SHEIR; NASRA; ABDALLAH, 2022).

2.5 Plantas Medicinais

Durante séculos, as plantas medicinais e seus metabólitos secundários, têm sido utilizados para o tratamento de diversas doenças em todo o mundo (SALAZAR-GÓMEZ; ALONSO-CASTRO, 2022). Considerados como fontes de compostos com importantes atividades biológicas, as plantas medicinais exercem um papel importante na medicina popular e também na medicina moderna (AYAZ et al., 2017).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de um terço dos medicamentos mais vendidos no mundo são produtos naturais ou seus derivados (CALIXTO, 2019). Além disso, estudos estimam que mais de 35% dos medicamentos utilizados no mundo foram originados direta ou indiretamente de produtos naturais, tornando-os um importante recurso para as indústrias farmacêuticas que trabalham no desenvolvimento de novos medicamentos (MA; YAO, 2020).

Embora existam diversas estratégias e metodologias disponíveis para que se possa sintetizar e desenvolver novos produtos através das plantas medicinais, estudos envolvendo a eficácia, segurança e qualidade devem ser realizados com a finalidade de comprovar e garantir o uso seguro na prática clínica (LEAL; TELLIS, 2015; ROCHA et al., 2021). A eficácia garante a ação terapêutica prevista; a segurança avalia a posologia adequada para

minimizar efeitos adversos e a qualidade é a garantia da uniformidade, eficácia e segurança da formulação, independente da quantidade produzida (RAMALHO et al., 2018).

Para a confirmação da qualidade, eficácia e segurança das plantas medicinais são necessários estudos químicos e farmacológicos, visto que, embora sejam produtos de origem natural, o uso indiscriminado pode promover efeitos adversos, estes compostos podem apresentar algumas substâncias nocivas, ou interação medicamentosa, nas situações de politerapia farmacológica (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010; STASI, 2016).

Considerado o país que detém a maior biodiversidade de espécies naturais do planeta, o Brasil é fonte de substâncias biologicamente ativas e a sua preservação é fundamental tanto pelo valor intrínseco dessa imensa riqueza biológica como pelo seu enorme potencial como fonte de novos fármacos (ALVARENGA et al., 2017; DUTRA et al., 2016). Pesquisas realizadas no Brasil mostram que 91,9% da população já fez uso de alguma planta medicinal, seja para prevenção ou para o tratamento de doenças (ARAÚJO-FILHO et al., 2016; BARRETO et al., 2014; CORDEIRO; CHUNG; SACRAMENTO, 2005; SOARES et al., 2022).

O aumento do interesse público pelas terapias envolvendo as plantas medicinais pode estar relacionado com o custo elevado dos medicamentos alopáticos e dificuldades no acesso aos serviços de assistência médica e dispensação de fármacos (PEDROSO; ANDRADE; PIRES, 2021; ZAGO; MOURA, 2018). Além disso, um dos grandes benefícios do uso das plantas medicinais está relacionado ao seu baixo custo, efeitos colaterais reduzidos e a sua fácil aquisição, o que os torna mais acessível à população e viáveis na escolha do tratamento de doenças (DANTAS-MEDEIROS et al., 2020; ROCHA et al., 2015).

No Brasil, em 2006, o Ministério da Saúde lançou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, em 2008, ambos com o objetivo de garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2006). Além disso, essas medidas estabelecidas pelo governo visam promover o uso sustentável da biodiversidade, o crescimento da prática terapêutica fitoterápica no país, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (FEITOSA et al., 2016; OLIVEIRA; ROPKE, 2016; ROCHA et al., 2021).

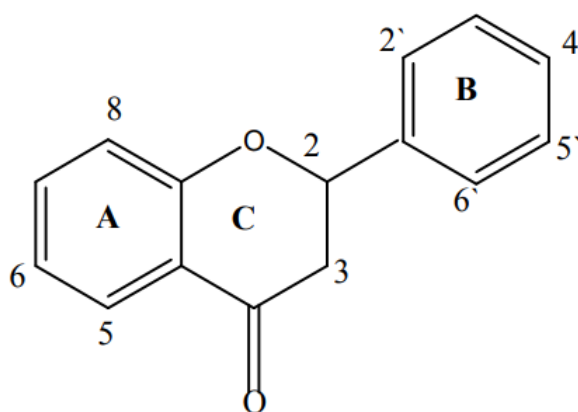
As plantas medicinais desempenham um grande papel no processo de cicatrização de feridas com atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianas, angiogênicas e aumento na síntese de pró-colágeno (KOGA et al., 2018; PIRIZ et al., 2014; VITALE et al., 2022; YAZARLU et al., 2021). Na literatura, existem vários estudos sobre compostos naturais

com potencial para promover a reparação tecidual e que podem ser usados como um tratamento eficaz ao longo das várias fases do processo de cicatrização de feridas (MEHTA; BRANFORD; ROLFE, 2016; MELGUIZO-RODRÍGUEZ et al., 2021; SHAH; AMINI-NIK, 2017; SÜNTAR et al., 2012).

Um estudo realizado por Polerà et al. (2019), analisaram o efeito da quercetina e da rutina em queimaduras dérmicas no dorso de ratos, os resultados evidenciaram um aumento da neovascularização, regulação positiva sobre IL-5, IL-4, GPX-7, tioredoxina redutase 2 (TXNRD-2) e regulação negativa das citocinas inflamatórias IL-1 β e IL-6, sugerindo um efeito antioxidante e anti-inflamatório no processo cicatricial (POLERÀ N. et al., 2019). Chen et al. (2019), avaliou o efeito da atividade anti-inflamatória da crisina em modelo experimental de lesão cutânea crônica, os resultados demonstraram uma supressão nos níveis de NF- κ B o que possivelmente pode ter contribuído para o aumento da proliferação de fibroblastos, migração de queratinócitos e deposição das fibras colágenas (CHEN et al., 2019).

Representando um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural, os flavonoides pertencem a um grupo de fitoquímicos derivados do metabolismo secundário das plantas, além disso, constituem a classe mais representativa e estruturalmente diversificada dos compostos fenólicos (CHEN et al., 2018, 2014; SAK, 2017). Quimicamente, os flavonoides apresentam dois anéis benzênicos, A e B, ligados a um anel central de pirano, C, formando uma estrutura química com 15 átomos de carbono (C6 – C3 – C6) (Figura 6) (BASSINO; GASPARRI; MUNARON, 2019; DI CARLO et al., 1999).

Figura 6: Estrutura geral dos flavonoides.



Fonte: Adaptada por DI CARLO et al., 1999.

Os flavonoides são encontrados naturalmente nas frutas, vegetais, grãos, ervas, chás, chocolate, flores, café, vinho, além de estarem presentes na dieta humana com um consumo entre 1-2g por dia (BIGONIYA P. et al., 2013; KIM; LIM, 2020; SHARMA et al., 2017). A complexidade estrutural desses compostos acarretou a sua divisão em subclasses descritas em: flavonas, glicoflavonas, flavanonas, flavonóis, isoflavonas, chalconas, auronas, antocianidinas, leucoantocianinas e antocianinas (BRAVO, 1998; KIYAMA, 2023; MULVIHILL; BURKE; HUFF, 2016).

Nos últimos anos, os flavonoides têm atraído a atenção de pesquisadores devido as suas atividades biológicas, tais como anti-inflamatória, antimicrobiana, anticâncer, antioxidante, antialérgica e efeito neuroprotetor em doenças cardiovasculares, o que torna essa classe uma fonte importante para novos produtos com potencial farmacêutico e aplicabilidade na prática clínica (AHMED et al., 2018; AROUI et al., 2016; CHANG H.-L. et al., 2017; CHUNG; VADGAMA, 2015; DA SILVA et al., 2019; PUSHPAVALLI et al., 2010). Um dos principais fatores que contribuem para essas propriedades dos flavonoides é a sua relação estrutura-atividade, ou seja, a presença de grupos hidroxila em sua estrutura química, principalmente quando apresentados nas posições 5, 7, 3 e 4, são essenciais para suas atividades antibacterianas, antifibróticas, antioxidantes e anti-inflamatórias, principalmente devido à alta hidroxilação (BAGHER et al., 2020; CHEN et al., 2019).

No mercado farmacêutico, a HESP, um flavonoide que pertence à subclasse flavanona, vem sendo comercializada em grande escala para o tratamento de doenças, a exemplo da insuficiência venosa e hemorroida, demonstrando a grande importância dos produtos naturais diante da indústria farmacêutica mundial (BARBOSA; OLIVEIRA; TESSER, 2014; STREFEZZA, 2010). No Brasil, esses medicamentos são conhecidos comercialmente como: Daflon[®], Diosmin[®], Flavenos[®], Flavonoid[®], Venaflon[®] e Venovaz[®].

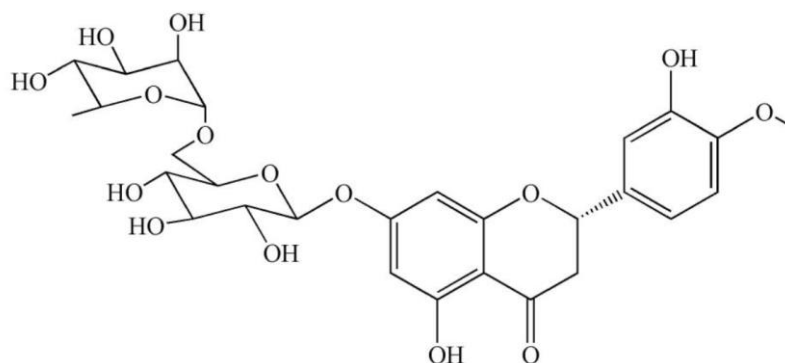
Por fim, vale ressaltar que algumas atividades farmacológicas já foram descritas para a HESP, tais como antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriana, tornando-a uma fonte natural promissora para a cicatrização de feridas.

2.6 Hesperidina

Dentre os flavonoides promissores para indústria farmacêutica destaca-se a HESP (3,5,7-tri-hidroxi-7-flavanona ramnoglicosídeo), de forma molecular $C_{28}H_{34}O_{15}$, que pertence à classe das flavanonas (Figura 7) (HAJIALYANI et al., 2019). É encontrada naturalmente em várias espécies de plantas cítricas, principalmente nas espécies do gênero *Citrus* da família Rutaceae, como laranja, limão, toranja e tangerina (M'HIRI et al., 2016; ZHAO et al., 2020). A HESP foi isolada pela primeira vez em 1828 da casca da laranja, e desde então o potencial terapêutico das suas propriedades farmacológicas vem sendo estudado (LI; SCHLUESNER, 2017; MANTHEY; GROHMANN, 1998).

Inúmeras propriedades farmacológicas já foram descritas para a HESP, tais como: anti-inflamatória (GUAZELLI et al., 2021), antibacteriana (KAWAGUCHI et al., 2004), antioxidante (ÇETIN; ÇİFTÇİ; OTLU, 2016), antiviral (WACKER; EILMES, 1975), neuroprotetora (ANTUNES et al., 2014), cicatrizante (LI et al., 2018), angiogênica (HADDADI et al., 2018), antialérgica (KILIC et al., 2019), anti-hiperlipidêmica (AKIYAMA et al., 2010) e cardioprotetora (KAKADIYA; MULANI; SHAH, 2010).

Figura 7: Estrutura química da hesperidina



Fonte: Adaptado de HAJIALYANI et al., 2019.

Muitos esforços têm sido realizados no sentido de elucidar os mecanismos de ação da HESP. Para investigar o efeito protetor da HESP no dano hepático oxidativo, Çetin, Çiftçi e Otlı (2016) utilizaram um modelo animal de hepatotoxicidade induzida por tetracloreto de carbono, os resultados demonstraram que a HESP aumentou os níveis das enzimas antioxidantes glutatona (GSH), CAT e SOD e atenuou os de ácido tiobarbitúrico (TBARS),

sugerindo uma eficácia da atividade antioxidante desse flavonoide (ÇETIN; ÇİFTÇİ; OTLU, 2016). Kandhare et al. (2017) através de um modelo experimental de fibrose pulmonar idiopática, induzida por bleomicina, provou a eficácia da HESP em sua ação antioxidante ao modular a expressão de SOD, GSH, malondialdeído (MDA), NO e fator nuclear derivado de eritróide 2 (Nrf2) (KANDHARE; MUKHERJEE; BODHANKAR, 2017).

A atividade antibacteriana da HESP frente à *Salmonella typhimurium* foi investigada por Kawaguchi et al. (2004) em um modelo experimental de sepse. Os resultados apresentados nesse estudo demonstraram que o tratamento com a HESP foi capaz de reduzir os níveis de LPS, TNF- α e o choque séptico (KAWAGUCHI et al., 2004). Com relação à atividade antiviral, em estudo *in vitro*, a HESP possui ação, em diferentes concentrações, contra o vírus da estomatite vesicular (WACKER; EILMES, 1975).

O efeito cardioprotetor da HESP foi investigado por Kakadiya, Mulani e Shah (2010) em modelo experimental de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol. Nesse estudo, os resultados evidenciaram que o tratamento com esse flavonoide, 100 mg/kg por via oral, atenuou os níveis de hemoglobina glicada (HbA1c), glicose, lipoproteína de baixa densidade (LDL), colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), pressão arterial sistólica e diastólica e aumentou significativamente os níveis de lecitina colesterol aciltransferase (LCAT) e lipoproteína lipase (LPL), sugerindo um efeito protetor sobre o sistema cardiovascular reduzindo o índice de complicações cardíacas no infarto do miocárdio. Vale ressaltar, que o metabolismo lipídico alterado predispõe o surgimento da aterosclerose, um importante fator de risco no infarto do miocárdio (KAKADIYA; MULANI; SHAH, 2010).

Antunes et al. (2014), ao administrarem HESP em camundongos, 50 mg/kg por via oral em modelo animal de doença de Parkinson induzida por hidroxidopamina, conseguiram comprovar que o tratamento com HESP atenuou as alterações comportamentais, protegeu contra o estresse oxidativo, modulando os níveis de CAT e GPx, e contra as reduções dos níveis de dopamina. Este estudo demonstrou um efeito protetor da HESP na neurotoxicidade induzida por hidroxidopamina em camundongos, indicando que pode ser útil como terapia para o tratamento da doença de Parkison (ANTUNES et al., 2014).

Akiyama et al. (2010) por meio de estudos utilizando ratos diabéticos tipo 1, induzidos por estreptozotocina, investigaram a eficácia da HESP, 10g/kg por via oral, como atividade anti-hiperlipidêmica. Nesse estudo, a indução do diabetes tipo 1 por estreptozotocina elevou os níveis de glicemia, adiponectina e insulina. Os resultados comprovaram que o tratamento com HESP normalizou os níveis da glicemia alterando a atividade das enzimas reguladoras da

glicose e diminuindo os níveis de lipídeos séricos e hepáticos, sugerindo efeitos hipoglicêmicos e hipolipidêmicos (AKIYAMA et al., 2010).

O potencial cicatrizante da HESP foi investigado por Li et al. (2018) através de um modelo experimental de excisão de úlcera do pé diabético utilizando ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. Nesse estudo, os resultados demonstraram que os animais tratados com hesperidina apresentaram aumento significativo nos níveis de VEGF, Ang-1, receptores tirosina quinase 2 (Tie-2), TGF- β e Smad-2/3, contribuindo no avanço do processo cicatricial de úlceras de pé diabético (LI et al., 2018).

A atividade da HESP na expressão gênica do VEGF foi investigada por Haddadi et al. (2018) em um modelo de queimadura induzida por radiação UVB. Os resultados evidenciaram que o tratamento com esse flavonoide aumentou os níveis de VEGF garantindo um aumento da permeabilidade vascular e um maior aporte de nutrientes e oxigênio para o tecido em reparação, sugerindo uma potente ação angiogênica. Concomitantemente a esse resultado, o tratamento com a HESP aumentou as taxas de epitelização, deposição de colágeno e proliferação celular, atividades que podem ser moduladas pela ação do VEGF (HADDADI et al., 2018).

No que diz respeito à atividade anti-inflamatória da HESP, um estudo experimental em modelo de colite ulcerativa, induzida com 200 μ L de ácido acético 7,5%, realizado por Guazelli et al. (2021), comprovou que o tratamento com HESP reduziu significativamente a infiltração de neutrófilos, edema, encurtamento do cólon e os danos macro e microscópicos induzidos pela administração intracolônica de ácido acético. Os autores atribuíram que o efeito anti-inflamatório da HESP pode estar relacionado à diminuição das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-6, IL-1 β e IL-33 e a inibição do NF- κ B no cólon (GUAZELLI et al., 2021).

Kilic et al. (2019) investigou a atividade antialérgica da HESP através de um modelo experimental de rinite alérgica induzida por ovalbumina. A rinite alérgica é uma resposta inflamatória mediada pela imunoglobulina E (Ig-E) na mucosa nasal através da inalação de alérgenos. As citocinas desempenham um papel regulador em vários eventos incluindo diferenciação celular, ativação de células imunes, migração celular e morte celular, e também estão envolvidas na patogênese da rinite alérgica, em especial as IL-5 e IL-13. Nesse estudo, o tratamento com HESP atenuou os níveis de Ig-E, IL-5, IL-13 e TNF- α , sendo eficaz na supressão da inflamação e dos sintomas alérgicos (KILIC et al., 2019).

No âmbito das feridas, a HESP apresenta propriedades promissoras devido ao seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano e antialérgico. Entretanto, apesar das

inúmeras atividades já descritas na literatura, seus efeitos terapêuticos tornam-se limitados devido a sua baixa solubilidade em água e estabilidade físico-químico desfavoráveis (WANG et al., 2021; WOLFRAM et al., 2016).

Nesse contexto, uma das alternativas para melhorar a eficácia terapêutica da HESP é a veiculação em sistemas envolvendo nanotecnologia para que seja possível o desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas.

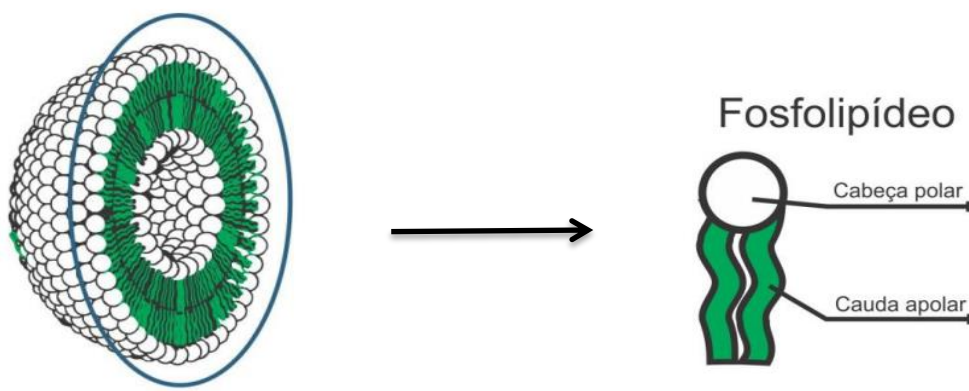
2.7 Lipossomas

Atualmente, novas tecnologias farmacêuticas vêm sendo desenvolvidas no intuito de aumentar a estabilidade, a solubilidade e reduzir os efeitos colaterais dos fármacos, a fim de permitir uma utilização terapêutica mais segura e eficaz (BAYDA et al., 2019; BLANCO-FERNANDEZ et al., 2021; BOAFO et al., 2022; LÓPEZ-CANO et al., 2021).

Nesse contexto, a nanotecnologia, como os lipossomas, nanoemulsões e nanopartículas lipídicas ou poliméricas, tem atraído o interesse dos pesquisadores devido ao seu potencial na veiculação de novos produtos (FARJADIAN et al., 2019; RAGELLE et al., 2017). Essas estruturas em nanoescala permitem uma dosagem de fármacos mais adequada, melhor penetração nas células e liberação direta nos tecidos alvo (GIRIJA; BALASUBRAMANIAN; COWIN, 2022; WANG et al., 2019).

Os lipossomas são vesículas esféricas constituídas por uma ou mais bicamadas concêntricas de fosfolipídios, de natureza sintética ou natural, uma cabeça hidrofílica e duas caudas hidrofóbicas que isolam um ou mais compartimentos internos aquosos do ambiente externo (Figura 8) (BOZZUTO; MOLINARI, 2015; NINOMIYA et al., 2016). Os lipídeos mais utilizados estão os que apresentam uma forma cilíndrica, a exemplo das fosfatidilcolinas, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol e esfingomielina, que naturalmente formam uma bicamada estável em solução aquosa (COSTA et al., 2015). Dentre esses, as fosfatidilcolinas são as mais utilizadas por apresentarem grande estabilidade frente às variações de pH ou da concentração de sal no meio (SHAH et al., 2020).

Figura 8: Representação da estrutura básica dos lipossomas.

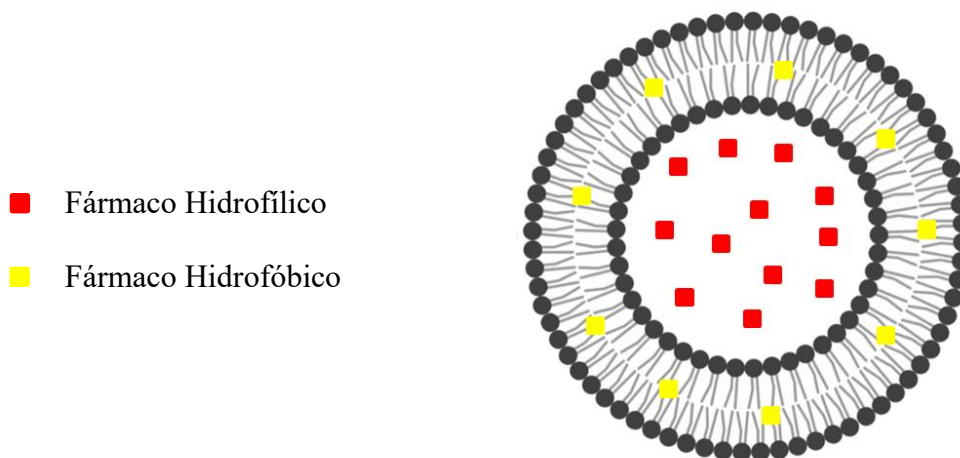


Fonte: Adaptado de NINOMIYA et al., 2016.

Além de apresentarem características de biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa imunogenicidade, os lipossomas apresentam uma estrutura que lhes confere a capacidade de conter drogas hidrofílicas e hidrofóbicas, que permite o encapsulamento da forma ativa de um fármaco na bicamada lipídica garantindo proteção contra fenômenos naturais, como degradação enzimática e inativação imunológica e química (Figura 9) (ELSANA et al., 2019; FANG et al., 2018; LU et al., 2019). Logo, os lipossomas impedem que um fármaco seja metabolizado antes de atingir os tecidos alvo e minimizam a exposição do tecido saudável ao fármaco encapsulado durante sua circulação no sangue, contribuindo para um índice terapêutico maior (GHEYBI et al., 2021; THAPA MAGAR et al., 2022).

Um estudo realizado por Almeida et al. (2013), utilizando modelo animal de queimadura dérmica analisou o efeito das membranas de colágeno contendo própolis vermelha incorporada em lipossomas, os resultados evidenciaram uma modulação do infiltrado leucocitário, induzindo uma maior diferenciação plasmocitária, aumento das taxas de epitelização e deposição de fibras colágenas tipo III, sugerindo um avanço do processo de cicatrização de feridas (DE ALMEIDA et al., 2013).

Figura 9: Representação esquemática da incorporação de fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos nos lipossomas.



Fonte: Adaptado de LU et al., 2019.

Concomitantemente ao que foi exposto, o desenvolvimento de novas opções farmacológicas envolvendo lipossomas, como nanocarreadores, tem o intuito de aumentar a estabilidade, solubilidade, eficácia e o índice terapêutico das drogas, fornecer liberação direcionada, melhorar os efeitos farmacocinéticos, como diminuir a eliminação e aumentar o tempo de circulação, e reduzir a toxicidade das substâncias encapsuladas (DING et al., 2015; GHARIB et al., 2017; SEBAALY et al., 2015).

Nos últimos anos, várias pesquisas envolvendo nanotecnologia e produtos naturais para o tratamento de feridas têm sido realizadas na tentativa de obter melhorias no processo de reparação tecidual, como aumento da epitelização, proliferação de fibroblastos, neovascularização, deposição de fibras colágenas e diminuição da resposta inflamatória (ALI et al., 2018; ALLAW et al., 2021; MANCA et al., 2019; MIRANDA et al., 2021; NGUYEN et al., 2019; NUNES et al., 2016; SKLENAROVA et al., 2023). Sendo assim, a veiculação de substâncias hidrofóbicas, como a hesperidina, em sistemas de liberação contendo lipossomas pode ser uma estratégia eficaz para superar a baixa solubilidade e permitir o desenvolvimento de novas formulações com grande potencial de aplicação clínica no tratamento de feridas.

Atualmente, uma das alternativas que vêm sendo bastante investigada é a combinação e agregação de biopolímeros, nanotecnologia e produtos naturais aos diversos tipos de coberturas que estão disponíveis no mercado (ALVEN; ADERIBIGBE, 2020; SAHANA; REKHA, 2018; SALEHI et al., 2018; SOUZA; ALVES; SANTANA, 2018; XIA et al., 2022). O progresso significativo na ciência dos biomateriais e no desenvolvimento de novas tecnologias vem sendo evidenciado pelo crescente mercado global de produtos para tratamento de feridas que foi de cerca de US\$ 12 bilhões em 2020 e deve chegar a US\$ 18,7 bilhões até 2027 (SEN, 2021). Dessa forma, os estudos envolvendo as características dos biopolímeros no reparo cicatricial tornam-se essenciais na medida em que oferecem a possibilidade de melhorar o processo de cicatrização e garantir modalidades terapêuticas mais eficientes (SINGH; SHITIZ; SINGH, 2017).

2.8 Biopolímeros e Colágeno

A necessidade de buscar novos recursos e estratégias com o propósito de acelerar o processo de cicatrização de feridas tem tornado crescente os estudos em torno de melhores condições para a reparação tecidual (MOUSAVI et al., 2021).

Nesse contexto, os polímeros de origem natural, ou biopolímeros, têm atraído o interesse dos pesquisadores como uma das alternativas mais promissoras para o tratamento de feridas, devido às suas características de biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioatividade e bioreabsorção, versatilidade, não toxicidade e baixo custo (ELANGWE et al., 2022; IACOB et al., 2020; YUSUF ALIYU; ADELEKE, 2023). Com propriedades biológicas que visam promover o reparo tecidual, estão disponíveis no mercado uma variedade de biopolímeros, a exemplo do colágeno, quitosana, alginato e celulose (Tabela 2) (GARDIKIOTIS et al., 2022).

Presente na pele, ossos, tendões, dentes e cartilagens, o colágeno corresponde a 30% das proteínas totais e 6% do peso de todo o corpo humano (DE ALMEIDA et al., 2013). Nos últimos anos, esse biopolímero vem sendo bastante investigado devido as suas características de biodegradabilidade, baixa antigenicidade e toxicidade, e boa flexibilidade composicional e estrutural (GE et al., 2020). Além disso, apresenta excelente biocompatibilidade, pois, sua estrutura molecular possui pouca diferença quando comparada entre as espécies o que torna o seu uso um recurso inovador destinado a aplicações clínicas, como dispositivos de liberação de fármacos, scaffolds para engenharia de tecidos, estruturas que agem como suporte para o crescimento celular, e curativos bioativos (ABEROUMAND, 2012; GE et al., 2018).

Tabela 2: Tipos de biopolímeros e suas indicações

Tipo de Biopolímeros	Indicações
Colágeno	• Feridas agudas • Úlceras do pé diabético • Enxertos de pele de espessura parcial • Recessões gengivais localizadas
Celulose	• Úlceras Venosas • Úlceras do pé diabético • Queimaduras • Pênfigo • Penfigóide
Alginato	• Feridas crônicas (> seis semanas) • Feridas profundas infeccionadas
Quitosana	• Feridas agudas e crônicas

Fonte: Adaptado de GARDIKIOTIS et al., 2022.

No campo biomédico, o colágeno tem sido utilizado para diversas aplicações e podem ser encontrados em inúmeras formas, tais como: membranas, esponjas, géis, dispersões e pó (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014; MANO et al., 2007; PAIVA et al., 2022; WISE et al., 2016). Na reparação tecidual, tem sido utilizado devido a sua capacidade de recobrir o leito da ferida, proteger contra processos infecciosos e a perda de água e fluidos, além de colaborar com a epitelização, angiogênese, fibroplasia e a formação de tecido de granulação (HAYCOCKS; CHADWICK; CUTTING, 2013; KAASI et al., 2018). Vale ressaltar, que a presença de uma arquitetura celular que atua como suporte mecânico, para a construção de novos tecidos *in vitro* ou *in vivo*, possibilita a incorporação de substâncias ativas em sua estrutura proteica (ALAM et al., 2022; GAJBHIYE; WAIRKAR, 2022).

Os biomateriais à base de colágeno podem se originar de duas técnicas fundamentais: quando uma matriz colágena é descelularizada e preserva a forma do tecido original ou quando ocorre uma extração colágena a partir de tecidos biológicos, utilizando a solubilização por ácidos, por enzimas ou por sais neutros (SARGEANT et al., 2012). Entre as principais fontes de colágeno exógeno, para fins comerciais e industriais, está a fonte animal, principalmente bovinos e suínos, podendo ser isolado da pele, músculo esquelético, válvulas cardíacas, vasos sanguíneos, nervos, tendões e ligamentos (ABOU NEEL et al., 2013).

De acordo com Zelechowska e Sadowska (2007), a extração do colágeno por meio ácido é a mais eficaz, sendo o ácido acético um dos melhores solventes para extrair as moléculas de colágeno reticuladas que estão presentes na pele animal. Vale ressaltar, que para garantir sua segurança em aplicações biomédicas o isolamento do colágeno, a partir de animais deve ser purificado por precipitação, centrifugação e diálise (ZELECHOWSKA; SADOWSKA, 2007).

Vários estudos envolvendo a aplicação de diferentes formulações de colágeno já foram realizados, tais como: hidrogel à base de colágeno contendo pululano para o tratamento de feridas cutâneas (WONG et al., 2011); membranas de colágeno para tratamento de feridas diabéticas em modelo animal (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014); esponjas de colágeno carregadas com ácido flufenâmico para curativos de queimaduras (GHICA et al., 2017); complexo de colágeno com neurotensina como curativo para feridas diabéticas (MOURA et al., 2014); hidrogel à base de colágeno para o tratamento de queimaduras cutâneas (RANA et al., 2020) e esponjas à base de colágeno com curcumina como curativo para feridas cutâneas (KARRI et al., 2016).

Com ampla aplicabilidade no campo da cicatrização de feridas, a formulação de membranas bioativas de colágeno tem sido empregada para melhorar o reparo cicatricial de danos mecânicos e químicos da derme, uma vez que promove a maturação da ferida ao fornecer um suporte para uma transição mais rápida à produção do colágeno maduro e seu realinhamento (INDRANI; LUKITOWATI; YULIZAR, 2017; MIGUEL et al., 2019). Além disso, apresentam características renováveis, biodegradáveis e sustentáveis que possibilitam a nutrição das células que preenchem o tecido afetado e a migração das células de defesa ao local, permitindo adesão, migração e proliferação celular, satisfazendo algumas das exigências para uma cobertura ideal (AYCAN et al., 2019; LIU et al., 2017).

Sun et al. (2007) por meio de estudos utilizando modelo de úlcera dérmica isquêmica na orelha de coelhos avaliaram a eficácia das membranas de colágeno carregadas com fator de crescimento derivado de plaquetas exógeno BB (PDGF – BB). Os resultados evidenciaram que o tratamento com membranas de colágeno carregadas com PDGF-BB acelerou a reepitelização de feridas de úlcera dérmica, a deposição de colágeno, e a formação de lúmens capilares dentro da área de tecido recém-formado, sugerindo um efeito promissor no tratamento de úlceras dérmicas (SUN et al., 2007).

Um estudo realizado por Kassi et al. (2018) utilizando um modelo de ferida cutânea aberta no dorso de ratos avaliou o efeito de membranas bioativas de colágeno no reparo cicatricial. Nesse estudo, o tratamento com as membranas foi capaz de induzir a neoformação

tecidual, levando a um fechamento completo da ferida, em média três vezes mais rápido do que ocorre normalmente (KAASI et al., 2018).

Liu et al. (2017) desenvolveu uma membrana bioativa contendo colágeno-quitosana carregada com fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF) para investigar a liberação controlada de fatores de crescimento durante o processo cicatricial em modelo de ferida cutânea excisional no dorso de ratos. Os resultados comprovaram que o grupo tratado com as membranas atenuou a infiltração de células inflamatórias e acelerou a reepitelização e a formação do tecido de granulação, sugerindo que esse recurso terapêutico pode ser eficaz na reparação tecidual (LIU et al., 2017).

Por fim, diante de todas as propriedades mencionadas, pesquisas científicas envolvendo biopolímeros carregados com substâncias bioativas, crescem a cada dia com o propósito de orientar futuros pesquisadores no desenvolvimento de modalidades terapêuticas mais eficazes para cicatrização de feridas e regeneração da pele (HOMAEIGO HAR; BOCCACCINI, 2020; IACOB et al., 2020). Sendo assim, as membranas de colágeno se mostram como um produto com grande potencial de aplicabilidade, visto que, apresentam muitas características para um tratamento promissor na reparação tecidual (MEYER, 2019).

CAPÍTULO III

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Avaliar o potencial cicatrizante dos flavonoides, especialmente flavanonas, sobre a cicatrização de feridas.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar um levantamento bibliográfico (revisão sistemática) acerca dos flavonoides com atividade cicatrizante em modelo animal de cicatrização de feridas;
- Obter membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP);
- Determinar o teor e a eficiência de encapsulação da hesperidina nas membranas bioativas de colágeno contendo lipossomas;
- Determinar a uniformidade de distribuição da hesperidina nas membranas bioativas de colágeno contendo lipossomas;
- Determinar alterações morfológicas, área de redução das feridas, reação e perfil inflamatório e reepitelização do processo de cicatrização de feridas cutâneas induzidas pelas membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas.

CAPÍTULO IV

**Propriedades cicatrizantes dos flavonoides: uma
revisão sistemática destacando os mecanismos de
ação**

4 PROPRIEDADES CICATRIZANTES DOS FLAVONOIDES: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DESTACANDO OS MECANISMOS DE AÇÃO

Para iniciar o processo da busca pelo conhecimento de flavonoides com propriedades cicatrizantes, esse artigo foi publicado para evidenciar e servir de subsídio para as demais etapas deste trabalho.

Artigo publicado na *Phytomedicine*

FI: 6.65 (2023)

Phytomedicine 90 (2021) 153636



Original Article

Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action

Mikaella T.B. Carvalho^{a,b}, Heitor G. Araújo-Filho^a, André S. Barreto^{b,c},
Lucindo J. Quintans-Júnior^{a,b}, Jullyana S.S. Quintans^{a,b}, Rosana S.S. Barreto^{a,b,*}

^a Laboratory of Neuroscience and Pharmacological Assays (LANEF), Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Marechal Rondon Avenue, S/N, Rosa Elza, CEP: 49.000-100, São Cristóvão, SE, Brazil

^b Health Sciences Graduate Program (PPGCS), Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil

^c Laboratory Pharmacology Cardiovascular (LAFAC), Department of Physiology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Flavonoids
Natural products
Wound healing
Skin lesions
Chronic wounds

ABSTRACT

Background: Flavonoids are a class of compounds with a wide variety of biological functions, being an important source of new products with pharmaceutical potential, including treatment of skin wounds.
Purpose: This review aimed to summarize and evaluate the evidence in the literature in respect of the healing properties of flavonoids on skin wounds in animal models.
Study design: This is a systematic review following the guidelines of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement.
Methods: This was carried out through a specialized search of four databases: PubMed, Scopus, Web of Science and Embase. The following keyword combinations were used: "flavonoid" OR "flavonoid" OR "flavonoidic" OR "flavonoids" AND "wound healing" as well as MeSH terms, Emtree terms and free-text words.
Results: Fifty-five (55) articles met the established inclusion and exclusion criteria. Flavonoids presented effects in respect of the inflammatory process, angiogenesis, re-epithelialization and oxidative stress. They were shown to be able to act on macrophages, fibroblasts and endothelial cells by mediating the release and expression of TGF- β 1, VEGF, Ang, Tie, Smad 2 and 3, and IL-10. Moreover, they were able to reduce the release of inflammatory cytokines, NF- κ B, ROS and the M1 phenotype. Flavonoids acted by positively regulating MMPs 2, 8, 9 and 13, and the Ras/Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and NO pathways.
Conclusion: Flavonoids are useful tools in the development of therapies to treat skin lesions, and our review provides a scientific basis for future basic and translational research.

Introduction

In general, wounds are defined as the rupture of the continuity of the

skin and subcutaneous tissue, reaching deeper layers such as muscles, tendons and bones (Davane and Nagoba, 2016). The wound healing process that restores injured tissues is complex and dynamic, being

Abbreviations: ALT, Alanina aminotransferase; Ang-1, Angiopoietin-1; AST, Aspartato aminotransferase; CAT, Catalase; CHL, Ciprofloxacin hydrochloride; COX, Cyclooxygenase; ECG, Epicatechin-3-gallate; EGCG, Epigallocatechin gallate; ERK, Extracellular-signal-regulated kinase; GPs, Glutathione peroxidase; GSH, Reduced glutathione; GST, Glutathione S-transferase; IFN- γ , Interferon-gamma; IGF-1, Insulin-like growth factor-1; IL-12, Interleukin-12; IL-1, Interleukin-1; IL-10, Interleukin-10; IL-1 β , Interleukin-1 β ; IL-6, Interleukin-6; iNOS, Inducible nitric oxide synthase; LPO, Lipid peroxidation; LPS, Lipopolysaccharide; LTB-4, Leukotriene B4; MAPK, Mitogen-activated protein kinase; MDA, Malondialdehyde; MMP-13, Matrix metalloproteinase 13; MMP-2, Matrix metalloproteinase 2; MMP-8, Matrix metalloproteinase 8; MMP-9, Matrix metalloproteinase 9; MPO, Myeloperoxidase; NF- κ B, Nuclear factor kappa B; NR, Not reported; OPC, Oligomeric proanthocyanidins; PCL, Poly(ϵ -caprolactone); PI3K, Phosphoinositide 3-kinase; PRISMA, Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses; PROSPERO, International Prospective Register of Systematic Reviews; ROS, Reactive oxygen species; SAR, structure-activity relationship; SD, SpragueDawley; SOD, Superoxide dismutase; TG2, Transglutaminase 2; TGF- β 1, Transforming growth factor β 1; TIE, Tyrosine kinase; TIMP-1, Metalloproteinase inhibitor 1; TIMP-2, Metalloproteinase inhibitor 2; TNF- α , Tumor necrosis factor α ; TPA, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate; VEGF, Vascular endothelial growth factor; γ -PGA, Poly (γ -glutamic acid).

* Corresponding author at: Laboratory of Neuroscience and Pharmacological Assays (LANEF), Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Marechal Rondon Avenue, S/N, Rosa Elza, CEP: 49.000-100, São Cristóvão, SE, Brazil.
E-mail address: rosanasbarreto@pq.cnpq.br (R.S.S. Barreto).

<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153636>

Received 22 February 2021; Received in revised form 22 May 2021; Accepted 15 June 2021

Available online 19 June 2021

0944-7113/© 2021 Elsevier GmbH. All rights reserved.

4.1 Métodos

O estudo foi realizado de acordo com as diretrizes da declaração *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (MOHER et al., 2009). O protocolo foi registrado no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO), registro nº. CRD 42020189592, e está disponível em: https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42020189592.

4.1.1 Estratégias de busca

Foi realizada no período de Maio/2020 e Junho/2020 através de uma busca especializada em quatro bases de dados: PubMed, Scopus, Web of Science e Embase. Foram utilizadas as seguintes combinações de palavras-chave: "flavonoidal" OR "flavonoid" OR "flavonoidic" OR "flavonoids" AND "wound healing", bem como termos MeSH, termos Emtree e palavras de texto livre. Os operadores booleanos variaram de acordo com as regras de cada base de dados específica. As listas de referências dos estudos incluídos foram analisadas para identificar estudos elegíveis adicionais não recuperados pela nossa pesquisa.

4.1.2 Seleção dos artigos

Todos os títulos, resumos e artigos de texto completo foram revisados por dois revisores independentes (MTBC e HGAF). Nos casos em que não houve consenso, um terceiro revisor independente tomou a decisão. Os artigos foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de inclusão: (1) qualquer tipo de tratamento utilizando flavonoides em sua forma pura; (2) estudos em animais; e (3) modelos de cicatrização de feridas. Foram excluídos estudos em seres humanos, culturas de células, artigos de revisão, meta-análises, resumos, anais de conferências, editoriais/cartas e relatos de casos.

4.1.3 Extração de dados

Os dados foram extraídos por um dos revisores utilizando critérios de seleção predefinidos e verificados quanto à precisão pelo segundo revisor. Os artigos foram avaliados detalhadamente e posteriormente foram extraídos os seguintes dados: país/ano, flavonoide (forma pura), subclasses, dose/concentração, via de administração, modelo/método de cicatrização de feridas, espécie animal, resultados e mecanismo de ação proposto.

4.1.4 Qualidade metodológica e risco de viés

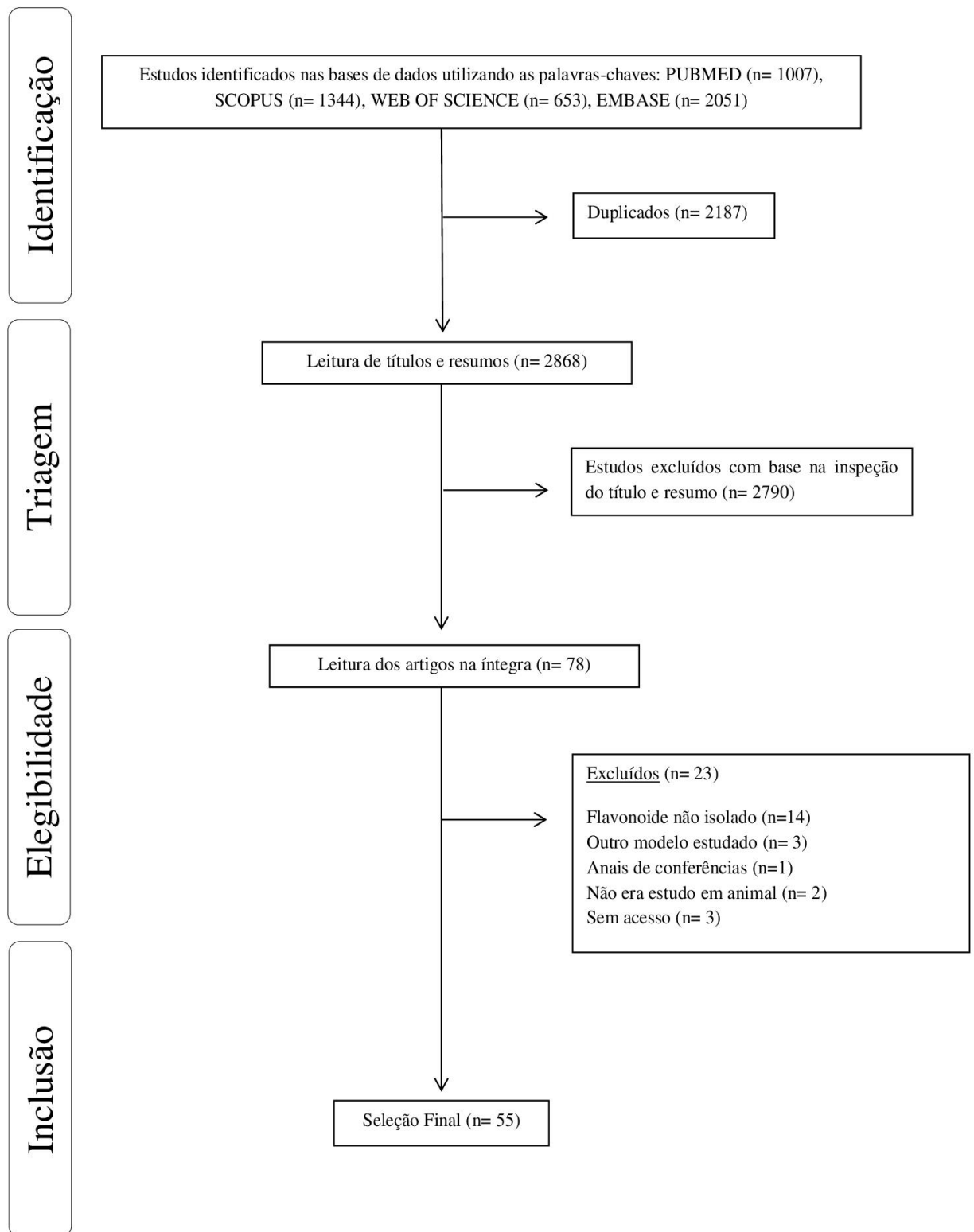
A qualidade dos estudos selecionados foi avaliada para randomização, cegamento, cálculo do tamanho da amostra, declaração de conflito de interesses e aprovação ética. Em relação a esses itens, um 'sim' indica relatado e um 'não' indica não relatado. O risco de viés dos estudos incluídos foi avaliado utilizando a ferramenta de risco de viés da *Systematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation* (SYRCLE) (HOOIJMANS et al., 2014). Dez domínios foram avaliados em relação a seis tipos de viés (seleção, desempenho, detecção, atrito, relatórios e outros vieses). A presença dos itens foi avaliada como 'sim' (indicando um baixo risco de viés), 'não' (indicando um alto risco de viés) e '?' (indicando um risco pouco claro, ou incerto, de viés). A avaliação do risco de viés foi realizada por dois revisores de forma independente (MTBC e HGAF).

4.2 Resultados

4.2.1 Estudos incluídos

A busca no banco de dados identificou 5.055 registros para revisão preliminar, sendo 1.007 do PubMed, 1.344 do Scopus, 2.051 do Embase, 653 do Web of Science. Depois que as duplicatas foram removidas, 2.868 artigos foram selecionados com base em seu título e resumo, e um total de 78 artigos foram submetidos para uma revisão de texto completo. Dos estudos selecionados por texto completo, 23 estudos foram excluídos e 55 foram incluídos nesta revisão sistemática (Figura 1).

Figura 1: Fluxograma dos estudos incluídos.



Fonte: Própria do autor.

4.2.2 Características dos estudos incluídos

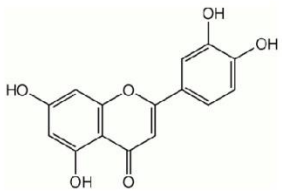
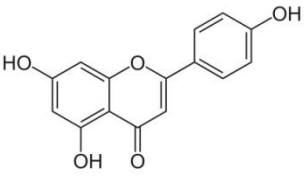
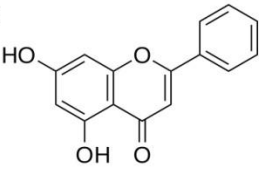
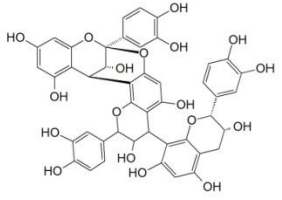
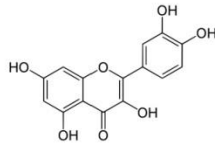
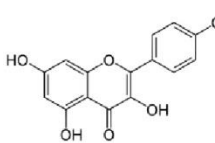
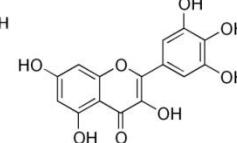
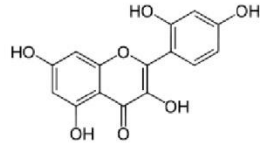
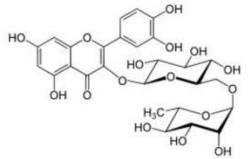
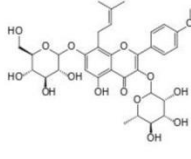
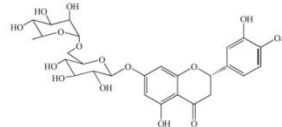
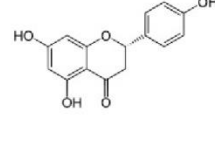
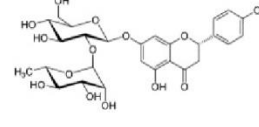
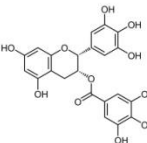
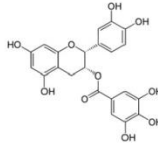
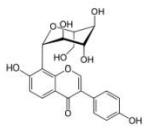
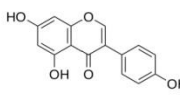
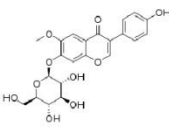
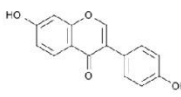
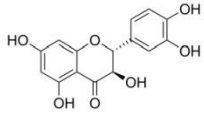
Os países que mais publicaram sobre cicatrização de feridas foram Índia (27,2%), China (14,5%) e Irã (12,7%). Nesta revisão, mais de 70% dos artigos selecionados foram publicados nos últimos cinco anos, o que aponta para a atual importância e relevância do assunto. Foram estudados 24 compostos diferentes, sendo os mais comuns a quercetina (21,8%), galato de epigallocatequina (EGCG) (10,9%) e naringenina (9%). As estruturas químicas dos principais flavonoides utilizados estão apresentadas na Figura 2. As vias de administração mais utilizadas foram tópica (61,8%) e oral (21,8%). O modelo de ferida cutânea de espessura total (76,3%) foi o mais utilizado, sendo o rato Wistar (60%) a principal espécie animal utilizada. Os principais mecanismos de ação foram baseados em moléculas que atuaram na angiogênese, estresse oxidativo, inflamação e progresso no processo de cicatrização de feridas. O principal resultado dos estudos foi acelerar o processo de cicatrização. As características dos estudos incluídos estão resumidas na Tabela 1 (Anexo L)

4.2.3 Qualidade dos estudos e risco de viés

Quanto à qualidade dos estudos incluídos (total de 55) apenas 23 relataram ter feito alguma randomização (41,8%). 17 dos artigos (30,9%) relataram cegamento, 12 apenas na avaliação histológica e 5 na alocação dos grupos. Nenhum dos estudos relatou cálculo de tamanho de amostra para análise de poder estatístico. No entanto, mais de 80% dos artigos relataram aprovação ética dos estudos em animais e incluíram uma declaração de conflito de interesses (Figura 3A).

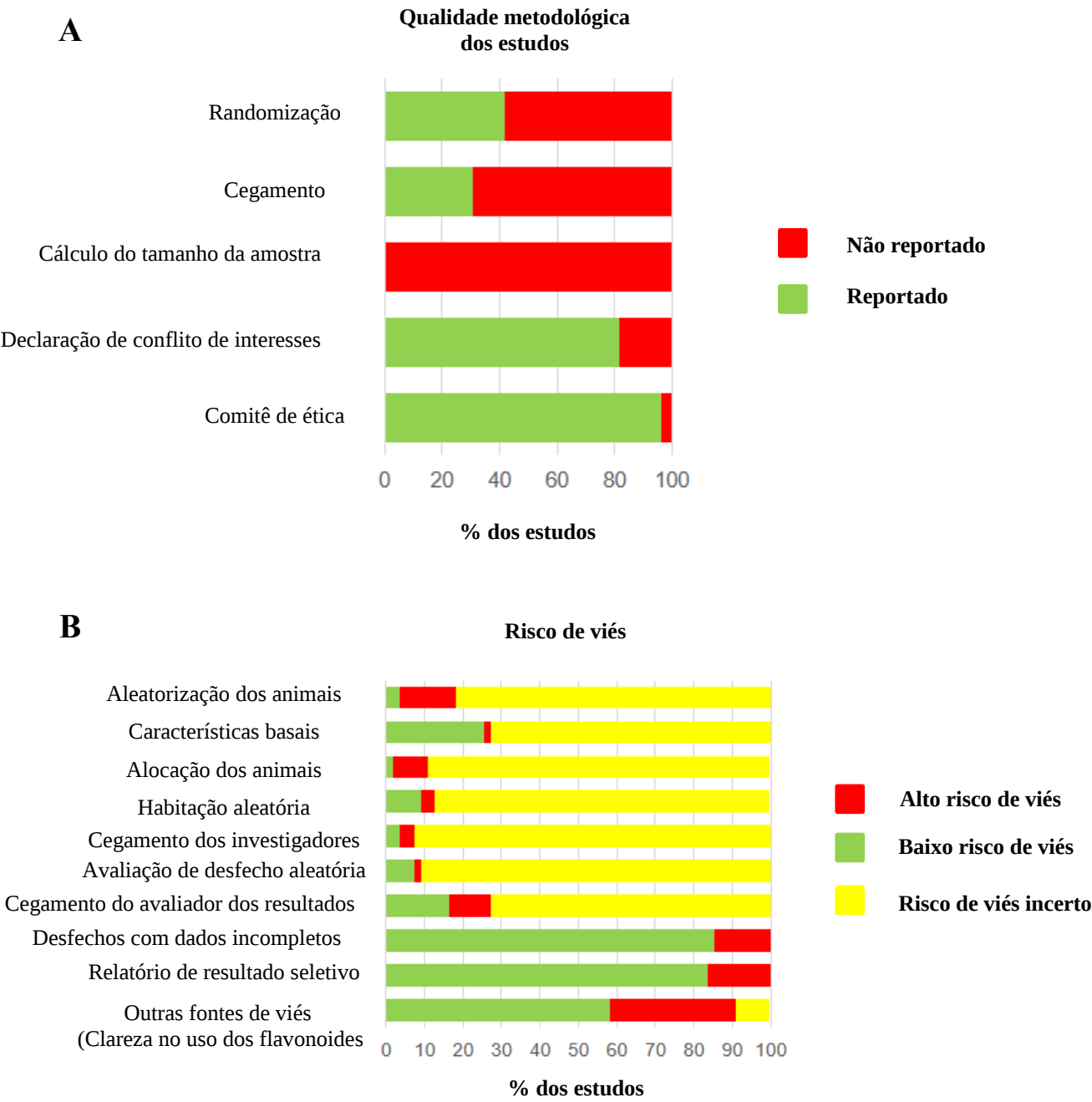
Em relação ao risco de viés mais de 70% dos artigos avaliados não descreveram claramente como a randomização foi aplicada em relação à alocação dos grupos, cegamento na alocação dos grupos, características da linha de base, alojamento aleatório, randomização nas intervenções e avaliação dos resultados e cegamento na avaliação dos desfechos. Mais de 80% dos estudos foram capazes de descrever dados de desfecho para cada desfecho principal. Dentre os artigos, 51,8% não apresentaram outros tipos de viés que comprometessem a validade do estudo. Além disso, 32,7% deixaram a desejar nos desenhos farmacológicos, não utilizaram dose/concentração do flavonoide e descrição precisa dos procedimentos (Figura 3B).

Figura 2: Estrutura química dos principais flavonoides com propriedades cicatrizantes.

FLAVONAS  LUTEOLINA  APIGENINA  CRISINA	PROANTOCIANIDINAS  CINAMTANINA B1
FLAVONÓIS  QUERCETINA  KAEMPFEROL  MIRICETINA  MORINA  RUTINA  ICARIINA	
FLAVANONAS  HESPERIDINA  NARINGENINA  NARINGINA	FLAVANÓIS  EGCG  ECG
ISOFLAVONAS  PUERARINA  GENISTEÍNA  GLICITINA  DAIDZEÍNA	FLAVANOLONOL  TAXIFOLINA

Fonte: Própria do autor.

Figura 3: Qualidade dos estudos e avaliação do risco de viés utilizando a ferramenta SYRCLE. A: Qualidade metodológica dos estudos. B: Risco de viés



Fonte: Própria do autor.

4.3 Discussão

4.3.1 Evidências das propriedades cicatrizantes dos flavonoides

Uma vez controlado o sangramento, as células inflamatórias migram para a superfície da lesão por quimiotaxia e promovem a fase inflamatória, caracterizada pela infiltração de neutrófilos, macrófagos e linfócitos (MORRELL et al., 2014). Nas primeiras 24-48 horas após a lesão, os neutrófilos migram para a lesão como primeira linha de defesa contra patógenos (MAYADAS; CULLERE; LOWELL, 2014). Após esta fase, os macrófagos têm uma importante ação no processo inflamatório (MOSSER, 2003). Após serem expostos a pequenas quantidades de mediadores inflamatórios como citocinas, interferons e LPS, os macrófagos adquirem um fenótipo ativado para a inflamação. Após esse evento, inicia-se uma grande produção de mediadores e citocinas como IL-1, IL-6, IL-12 e iNOS (BARRIENTOS et al., 2008; BRANCATO; ALBINA, 2011). Estudos sugerem que células do tipo M1 são responsáveis por essas propriedades inflamatórias (BRANCATO; ALBINA, 2011; MARTINEZ; GORDON, 2014; SICA; MANTOVANI, 2012).

Por outro lado, os macrófagos também são capazes de ativar um fenótipo alternativo, caracterizado pela expressão de mediadores anti-inflamatórios como o antagonista de IL-1Ra, receptor decoy IL-1 tipo II e IL-10, TGF- β 1, VEGF e fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF -1) (DIPIETRO, 2013). O fenótipo tipo M2 é mais adequado para apresentar esse tipo de característica (EMING; MARTIN; TOMIC-CANIC, 2014). Nesta revisão, os flavonoides tiveram propriedades anti-inflamatórias importantes, pois diminuíram os níveis de mediadores inflamatórios como prostaglandina E2 (PGE2), leucotrieno B4 (LTB-4), IL-1 β , TNF- α , IL-6, IFN- γ e COX (AHMED et al., 2018; CHENG et al., 2018; HUANG Y.-W. et al., 2019) e aumento de mediadores anti-inflamatórios, particularmente a IL-10 (SINGH et al., 2019).

Células inflamatórias, como macrófagos, bem como outros tipos de células (queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais) são capazes de expressar MMPs (Caley et al., 2015). Estas moléculas desempenham um papel crucial em todas as fases da cicatrização de feridas, modificando a matriz da ferida, permitindo a migração celular e a remodelação do tecido (YAN; BOYD, 2007). Na fase inflamatória, a expressão de MMP-2 é aumentada (LEVI et al., 1996). Após a migração dos fibroblastos para a área da ferida, ocorre aumento da expressão das MMP 1, 8, 9 e 13, remodelando o coágulo de fibrina e formando uma nova matriz extracelular (CALEY; MARTINS; O'TOOLE, 2015). Em seguida, ocorre a reepitelização e a expressão das MMPs promigratórias (1 e 2) é diminuída e a expressão da

MMP remodelada (3) é aumentada (STEFFENSEN; HÄKKINEN; LARJAVA, 2001). Nas feridas crônicas, a falha na remodelação devido ao aumento de MMP e da inflamação é vista como uma das principais causas de cicatrização inadequada (CALEY; MARTINS; O'TOOLE, 2015).

As MMP-2 e MMP-9 são conhecidas como gelatinase A e gelatinase B, respectivamente. A MMP-2 desempenha um papel importante na remodelação da matriz de angiogênese, enquanto a MMP-9 é uma indicação de reepitelização na fase inicial de cicatrização (BAKER; LEAPER, 2003; MANUEL; GAWRONSKA-KOZAK, 2006). A MMP-8 (colagenase-2) cliva os colágenos, predominantemente a colagenase, na cicatrização de feridas e a MMP-13 (colagenase-3) promove a reepitelização indiretamente, afetando a contração da ferida (CALEY; MARTINS; O'TOOLE, 2015). Nesta revisão foi possível evidenciar a ação dos flavonoides sobre as MMPs. As flavonas (MOHAMMADI et al., 2017) e os flavanóis (JAISWAL M. et al., 2013) foram capazes de aumentar a expressão das MMPs 2, 8, 9 e 13, mostrando a capacidade dos flavonoides em potencializar o processo de regeneração tecidual.

Uma ampla variedade de citocinas e fatores de crescimento ativam transcricionalmente as MMPs, incluindo o TGF- β . Este fator desempenha um papel crucial no sucesso da reepitelização promovida pela migração dos queratinócitos (KOH; DIPIETRO, 2011). Recentemente, foi demonstrado que a sinalização celular de TGF é dependente de Smads. Essas moléculas, especialmente Smad 2 e 3, atuam como ativadores da transcrição nuclear e regulam as funções celulares responsáveis pela cicatrização de feridas (ASHCROFT; ROBERTS, 2000). Além disso, o Smad 7 também é induzido pelo TGF, porém, o feedback negativo atua impedindo a fosforilação e a translocação nuclear do SMAD 2 e 3 (SHI; MASSAGUÉ, 2003). Moléculas das classes flavonóis, isoflavonas e flavanonas mostraram ser capazes de aumentar a expressão e regulação de TGF- β , aumentando assim a expressão de Smad 2 e 3 e diminuindo a regulação de Smad 7. Além disso, TGF- β 1 está envolvido na angiogênese por regulação positiva do VEGF (PENN; GROBBELAAR; ROLFE, 2012).

A angiogênese é considerada uma etapa importante na fase proliferativa do processo de cicatrização de feridas e envolve a formação de novos vasos sanguíneos a partir dos pré-existentes (CHEN et al., 2019). É iniciado por fatores de crescimento, como VEGF, além de angiopoietinas (Ang 1 e 2) e receptores como tirosina quinase (Tie) (CHO H.-D. et al., 2019). Nesta revisão, vários flavonoides apresentaram atividades angiogênicas, aumentando os níveis de VEGF e a migração de Tie 1, Tie 2 e Ang-1, promovendo vascularização sustentada e suprimento de oxigênio aos tecidos em crescimento, garantindo efeitos terapêuticos na

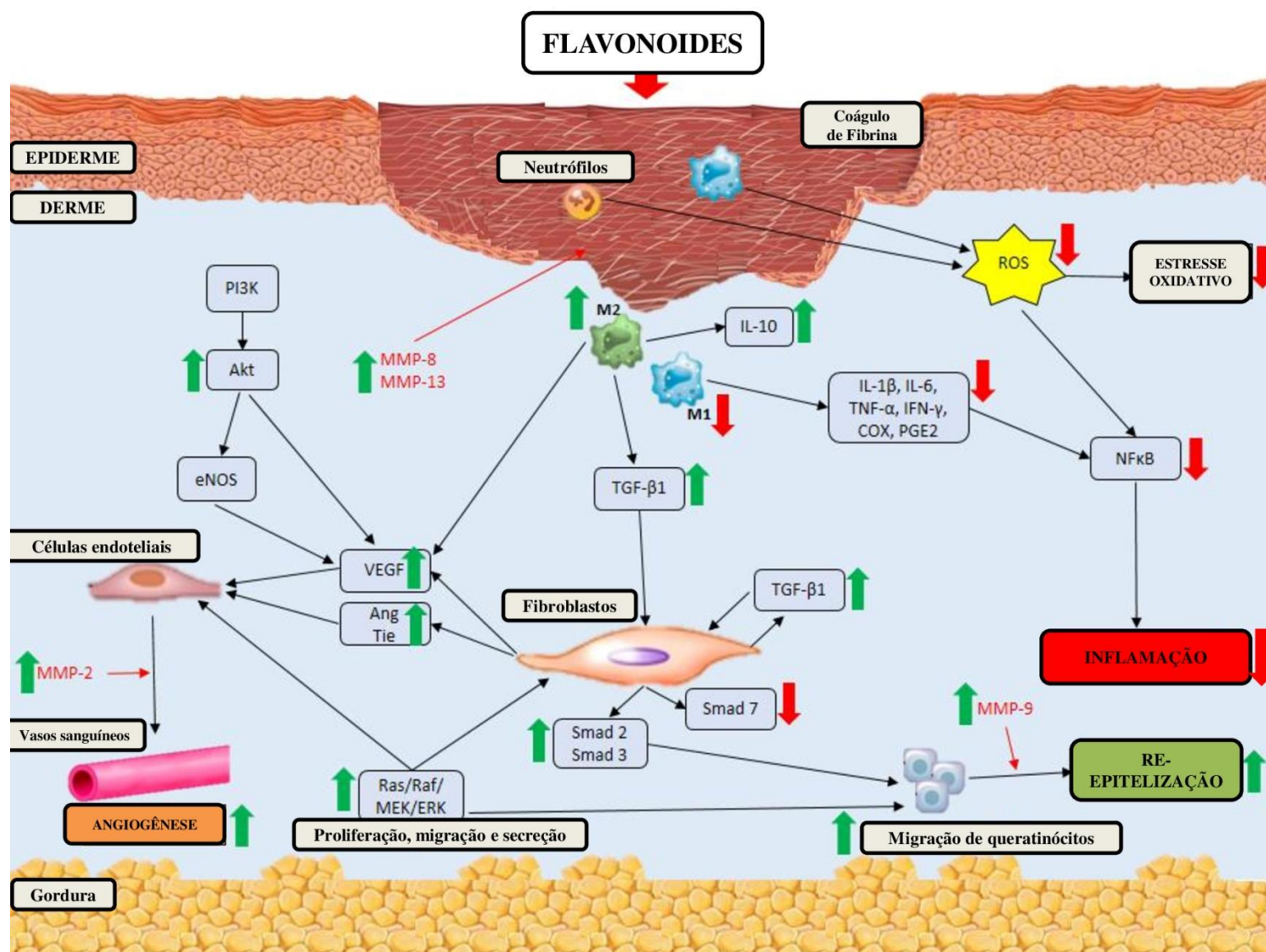
cicatrização de feridas. O VEGF é considerado a principal molécula reguladora do crescimento vascular, tanto no desenvolvimento embrionário quanto na reparação tecidual (MELINCOVICI et al., 2018). Expressos predominantemente em células da parede endotelial, os receptores Tie (1 e 2) estão relacionados com a maturação e plasticidade de novos vasos sanguíneos (MA et al., 2016). Interagindo com o Tie 2, o Ang-1 cobre toda a parede do vaso sanguíneo, garantindo sua integridade durante a formação.

Já está bem estabelecido na literatura científica que as vias de sinalização MAPK e PI3K/AKT estão envolvidas na angiogênese durante a cicatrização de feridas (YUAN et al., 2018). A via de sinalização Raf/MEK/Erk atua principalmente na proliferação de novas células (KIM et al., 2010). A ativação da via PI3K/AKT/mTOR está envolvida na ativação da eNOS, que leva à produção de NO, que pode simular vasodilatação, remodelamento vascular e angiogênese (DIMMELER et al., 1999). Nesta revisão, a icariina mostrou evidências de ativação de Akt e ERK em um modelo de ferida de espessura total, promovendo a migração e proliferação de queratinócitos e acelerando a cicatrização de feridas cutâneas (MI B. et al., 2018).

Considerada uma das primeiras respostas da imunidade inata, a produção de EROs é desencadeada logo após o dano tecidual, sendo crucial em todas as fases do processo de cicatrização de feridas (BILGEN et al., 2019). Embora sua produção seja necessária para iniciar o reparo tecidual, uma quantidade excessiva de formação de EROs é prejudicial à cicatrização de feridas, causando um atraso no processo de contração da ferida, migração de queratinócitos e reepitelização (ZHANG et al., 2019). Dentre as enzimas antioxidantes, SOD, CAT e GPx atuam como mecanismos de defesa, mantendo quantidades aceitáveis de EROs para o bom funcionamento do organismo, sendo crucial o equilíbrio homeostático entre enzimas antioxidantes e EROs no processo de cicatrização de feridas (ABDULAZIZ et al., 2019; AL-DABBAGH B. et al., 2018). Alguns dos flavonoides descritos nesta revisão foram capazes de aumentar os níveis de SOD, CAT, GSH, GST e GPx e reduzir o MDA, sugerindo um efeito antioxidante e promovendo o processo de cicatrização.

Assim, com base nas informações coletadas dos artigos selecionados, os flavonoides são ferramentas fundamentais na cicatrização de feridas. A Figura 4 mostra as principais vias de sinalização celular influenciadas pelos flavonoides.

Figura 4: Mecanismos de cicatrização de feridas dos flavonoides em modelo animal.



Fonte: Própria do autor.

4.4 Considerações finais e Perspectivas

Feridas que duram mais de 8 semanas e não mostram sinais de cicatrização são consideradas feridas crônicas. Essas feridas podem surgir devido à má circulação sanguínea, diabetes ou um sistema imunológico comprometido (ZIELINS et al., 2015). Apesar dos avanços da ciência e tecnologia e do surgimento de inúmeras terapias farmacológicas para o tratamento dessas feridas, o tratamento ainda é considerado, muitas vezes, um desafio altamente complexo (ENOCH; GREY; HARDING, 2006). Além disso, também é importante ter em mente o tratamento de condições que acompanham a ferida crônica, como a dor (BLANPAIN; FUCHS, 2014; ENOCH; GREY; HARDING, 2006).

Entre as drogas utilizadas para tratar essas feridas estão a pentoxifilina, uma metilxantina que melhora a perfusão vascular periférica; iloprostá, um análogo da prostaciclina; antimicrobianos, incluindo preparações à base de iodo e agentes de liberação de prata; gliceril trinitrato, um doador de gliceril óxido nítrico; e antagonistas do cálcio, como diltiazem e nifedipina (BEITZ, 2017). Na classe dos produtos naturais, o mel pode ser utilizado como curativo ou gel devido às suas propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e de desbridamento autolítico (AMAYA, 2015). Outros produtos como óleo de *tea tree* (melaleuca), aloe vera e cascas de batata são usados mundialmente para tratar lesões (AMAYA, 2015; MOHR; REYNA; AMAYA, 2014; SHEDOEVA et al., 2019). No entanto, a falta de pesquisas sobre as substâncias ativas desses produtos naturais e seus mecanismos de ação tem dificultado o avanço farmacológico dessa importante fonte de possíveis tratamentos.

Esta revisão destacou uma classe importante e promissora de produtos naturais que podem ser utilizados no tratamento de feridas, os flavonoides. Eles são um grupo diversificado de fitonutrientes e são encontrados em todas as partes das plantas, desde a raiz até as folhas. Sua complexidade estrutural levou à sua subclassificação em 10 compostos de acordo com seu processo de formação: antocianinas, leucoantocianidinas, flavonóis, flavonas, glicoflavonas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavanonas e isoflavonas (CASSIDY; MINIHANE, 2017; MUKAI, 2018). Devido à sua estrutura química básica (três anéis fenólicos) e sua alta distribuição na natureza, os flavonoides se destacam por possuírem importantes propriedades farmacológicas no combate à inflamação, hipertensão, estresse oxidativo e demência (MALEKI; CRESPO; CABANILLAS, 2019). As diferentes propriedades apresentadas por essa classe estão intimamente ligadas à sua estrutura química,

que pode sofrer variações como hidrogenação, hidroxilação, metilação, malonilação, sulfatação e glicosilação (KUMAR et al., 2013).

Estudos sobre a atividade antioxidante de flavonoides sugerem que a presença de hidroxilas na bioatividade desses compostos está relacionada principalmente à hidroxilação do anel B, como puerarina, naringenina, genisteína e apigenina que foram citados nesta revisão (AHMED et al., 2018; AL-ROUJAYEE, 2017; EO; LEE; LIM, 2016; ZHANG et al., 2019). O efeito anti-inflamatório está relacionado à inibição das vias da ciclooxigenase e lipoxigenase, como é o caso da isoliquiritina, quercetina, EGCG, crisina e naringina, que bloqueiam a liberação de eicosanóides, modulando assim a produção e expressão gênica de moléculas pró-inflamatória e da enzima formadora de NO (KANDHARE A.D. et al., 2016; KAR et al., 2019a; LIU Y.-Y. et al., 2020; MOHAMMADI et al., 2017). Um estudo relacionando estrutura com atividade demonstrou que a insaturação no anel C (posições 2-3), o número e posicionamento das hidroxilas, carbonila em C-4 (anel B) e a não glicosilação da molécula, são fatores estruturais importantes para o efeito anti - inflamatório dos flavonoides (JUCÁ et al., 2020; KUMAR et al., 2013).

Como mencionado anteriormente, foi possível observar a ação de diversas moléculas nas respostas inflamatórias, estresse oxidativo, reepitelização e angiogênese. Além disso, as moléculas atuaram nas vias de sinalização celular, como as vias Ras/Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt e NO, contribuindo ainda mais para um ambiente favorável à cicatrização.

O papel central da inflamação durante o reparo tecidual foi comprovado por vários estudos clínicos e experimentais (KANDHARE A.D. et al., 2016; SWIFT et al., 2001; ZHAO et al., 2016). Sabe-se que é necessário um equilíbrio entre a rede leucocitária e os mediadores pró e anti-inflamatórios para que esta fase transcorra sem complicações (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007). Trata-se, portanto, de uma fase complexa, sendo necessário compreender os fatores que podem levar a falha na saída da fase inflamatória da cicatrização, bem como identificar como o ambiente pode ser melhorado para favorecer a formação do tecido de granulação (MARTIN; LEIBOVICH, 2005). Assim, fármacos com propriedades inflamatórias como os flavonoides são alvos de extrema importância que podem contribuir para o equilíbrio necessário dessa rede de moléculas e, assim, favorecer uma cicatrização rápida e eficaz.

Desencadeado por danos teciduais, o estresse oxidativo surge logo após a presença de um quadro inflamatório, levando a um desequilíbrio na oxidação celular com a atividade antioxidante das células, o que resulta no aparecimento de EROs que causam quebra do DNA, peroxidação lipídica e inativação enzimática (AUF DEM KELLER et al., 2006; ZHANG et al., 2019). Entre os vários efeitos negativos desse desequilíbrio, uma condição oxidativa

exacerbada é responsável por prolongar o processo inflamatório, levando a um atraso no processo de cicatrização e lesões crônicas (DUNNILL et al., 2017). Sabe-se que a escolha de um medicamento para tratamento de lesões agudas e crônicas, deve-se levar em consideração a complexidade das fases do processo cicatricial e a heterogeneidade das feridas. Assim, drogas contendo flavonoides com propriedades antioxidantes são vitais na promoção do reparo de feridas, pois atuam nos níveis de SOD, CAT e GPx, enzimas antioxidantes envolvidas na sinalização do sistema redox que capturam o excesso de radicais livres (BILGEN et al., 2019; ESCOBAR et al., 2019).

Caracterizada por uma intensa atividade celular, a fase proliferativa desempenha um papel crucial na reorganização do tecido conjuntivo lesado (ADDIS R. et al., 2020). Dentre as várias atividades presentes nessa fase, a reepitelização é responsável pela migração dos fibroblastos para a matriz temporária. Essa etapa é essencial para a produção e proliferação das MMPs para realizarem a degradação dessa matriz a fim de auxiliar no aumento da contração da ferida e avançar no reparo do tecido (ABBAS et al., 2019). Assim, os flavonoides que promovem a formação do novo epitélio são capazes de aumentar a migração dos queratinócitos e suas respectivas fixações epiteliais à ferida. Isso resulta na liberação de fatores de crescimento para aumentar a mitose e a hiperplasia epitelial, garantindo o avanço da fase proliferativa durante o processo de cicatrização (ABINAYA M.; GAYATHRI M., 2019; KAPADNIS P.D.; SHROTRIYA S.N., 2019). Nesta revisão, os flavonoides em estudo foram capazes de ativar a via Ras/Raf/MEK/ERK promovendo proliferação, diferenciação e secreção de queratinócitos e aumento da expressão de MMP-9 que é uma molécula importante na reepitelização e migração promovida através das vias internas de sinalização de fibroblastos (Smads).

O foco para o tratamento de feridas crônicas que apresentam hipóxia e vascularização prejudicada estão relacionados à melhora da angiogênese (BAO et al., 2009). Um dos principais candidatos a mediar esse processo é o VEGF, pois está relacionado a múltiplos mecanismos, como permeabilidade vascular, deposição de colágeno e epitelização (JOHNSON; WILGUS, 2014). O curso de tempo da expressão de VEGF também é um fator importante na progressão da cicatrização de feridas e foi demonstrado que o mRNA máximo de VEGF é encontrado entre três e sete dias após o ferimento de espessura total (FRANK et al., 2015). Além disso, o uso clínico de VEGF em humanos já é uma realidade para pacientes com problemas isquêmicos (ISNER et al., 1996). No entanto, é necessário entender o motivo da cicatrização lenta e estabelecer se o problema está relacionado à angiogênese ou à função vascular, se há alguma desregulação no receptor VEGF ou na transdução de sinal, se

proporciona um efeito positivo e qual o grau de epitelização e deposição de colágeno envolvidos (BAO et al., 2009). Esta revisão mostrou que os flavonoides foram capazes de aumentar a expressão de VEGF, Ang-2 e Tie-1, promovendo um processo de cicatrização mais rápido quando comparado aos animais controle.

Vale ressaltar que uma das limitações dos flavonoides como tratamento promissor na cicatrização de feridas reside em sua baixa solubilidade em água (ADDOTEY et al., 2018; ALEXANDRU et al., 2007; ANITHA et al., 2011). Nesse contexto, a fim de superar essa baixa biodisponibilidade, estudos envolvendo flavonoides e estruturas em nanoescala têm sido desenvolvidos com o objetivo de aumentar a estabilidade e solubilidade e reduzir os efeitos colaterais, tornando o uso terapêutico dessas substâncias mais seguro e eficiente (BOZZUTO; MOLINARI, 2015; ZUBER et al., 2015). Entre as estruturas em nanoescala estão: a nanoemulsão (CHEN; STEPHEN INBARAJ, 2019), nanopartículas (CHOUDHARY A. et al., 2020; KAR et al., 2019b), lipossomas (JANGDE; SINGH, 2016), nanocápsulas (MARCONDES SARI et al., 2017), nanofibras (MOHAMMADI et al., 2017), hidrogel (ALMEIDA et al., 2012), membrana (ABBAS et al., 2019), gelatina (SALEHI et al., 2018) e emulsão (ASFOUR et al., 2017).

Portanto, esta revisão foi capaz de mostrar as propriedades dos flavonoides no processo de cicatrização de feridas. Essas moléculas atuaram em todas as fases da cicatrização de feridas e ativaram as vias de sinalização intracelular essenciais para que ocorra a cicatrização. Estes são eventos importantes no manejo clínico de feridas diabéticas, pois podem combater a inflamação e estimular a regeneração tecidual. Durante esta revisão, algumas limitações foram encontradas, como estudos moleculares superficiais que deixam lacunas no conhecimento sobre o mecanismo de ação da droga em estudo. Outra deficiência encontrada foi a falta de estudos envolvendo a micro e nanoencapsulação de flavonoides para melhorar suas propriedades farmacológicas, estabilidade e entrega e liberação direcionadas. No entanto, apesar dessas limitações, concluímos que os flavonóides são ferramentas potenciais extremamente promissoras para uso no desenvolvimento de terapias para feridas, e esperamos que nossa revisão forneça uma base científica para futuras pesquisas básicas e translacionais.

CAPÍTULO V

**Efeitos da membrana bioativa de colágeno contendo
hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a
cicatrização de feridas cutâneas em modelo animal
de ferida cutânea excisional**

5 EFEITO DA MEMBRANA BIOATIVA DE COLÁGENO CONTENDO HESPERIDINA EM LIPOSSOMAS (COL/HESP) SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS EM MODELO ANIMAL DE FERIDA CUTÂNEA EXCISIONAL

5.1 Material e Métodos

5.1.1 Material e Substâncias

Para o desenvolvimento do trabalho foram utilizados tampão fosfato (PB; UFS, Brasil); Tris-acetato (UFS, Brasil); Tris/HCl (UFS, Brasil); Dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich®) e (±)-Hesperidina (C₂₈H₃₄O₁₅, ≥80%, Sigma-Aldrich®). Para o preparo das membranas de colágeno foi empregado colágeno liofilizado extraído do tendão bovino (UFS, Brasil); Propilenoglicol (Proquimios®) e Ácido acético (Neon®). Para o preparo dos lipossomas, utilizou-se o lipídio Fosfatidilcolina (Lipoid GMBH®); (±)- Hesperidina (C₂₈H₃₄O₁₅, ≥80%, Sigma-Aldrich®) e Clorofórmio (Dinâmica®). Dimetilsulfóxido (Sytnh®) e Tampão Fosfato pH 7,4 (Neon®) foram utilizados como meios de dissolução para as membranas. Metanol (*HPLC gradient grade*, Sigma-Aldrich®) e Água ultrapura (*milli-q system*, millipore®) foram utilizados como fase móvel para os procedimentos analíticos.

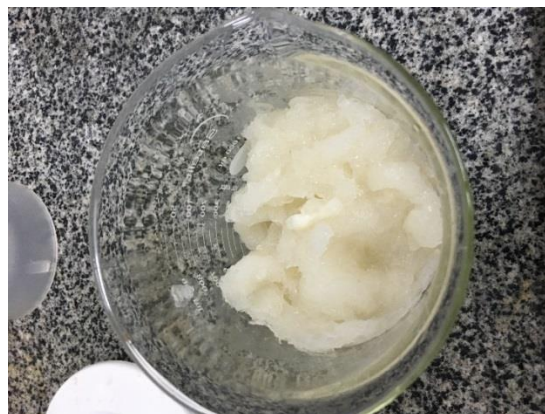
5.1.2 Extração do Colágeno

O colágeno foi extraído a partir de tendão bovino (ALBUQUERQUE-JÚNIOR et al., 2009). Posteriormente, esse tendão foi cortado em pequenos pedaços (Figura 1) e tratado com acetona para remoção de material gorduroso. Posteriormente, 5 g do material foram lavados com água destilada e colocados em solução de NaCl 10% (m/V) durante 24h à temperatura de 4°C. Após esse período, o material foi novamente lavado com água destilada e colocado em solução de tampão citrato 0,02mol/L pH 4,3 durante 48h em temperatura ambiente, para o intumescimento do tecido.

O tecido intumescido foi homogeneizado em 500 mL de uma solução de ácido acético 0,5 mol.L⁻¹, na presença de pepsina na proporção de 1:50 (m:m) em relação a massa inicial do material. O gel formado (Figura 6) foi mantido por 24h a 4°C. Após esse período, a proteína foi precipitada por *salting out* adicionando ao gel 5% de NaCl (m/V).

O colágeno precipitado foi dialisado durante 72 horas contra água destilada e posteriormente foi realizada a liofilização. O colágeno liofilizado foi guardado em tubos falcon, protegidos contra temperatura e umidade.

Figura 1: Processo de extração do colágeno. A: Tendão cortado em pedaços. B: Formação do gel de colágeno



Fonte: Própria do autor

5.1.3 Preparo das Membranas

As membranas de colágeno contendo hesperidina incorporada em lipossomas (COL/HESP) foram preparadas de acordo com o método descrito por Nunes et al. (2016). Inicialmente, preparou-se a solução de colágeno, contendo 1 g de colágeno liofilizado, 60 mL de ácido acético (0,5 mol/L) e 0,2 g de propilenoglicol (agente plastificante). Essa solução foi submetida à agitação magnética durante 24 horas.

Os lipossomas foram preparados dissolvendo 250 mg de fosfatidilcolina e 10 mg de HESP em 20 mL de clorofórmio (NUNES et al., 2011). Essa solução foi sonicada em banho de ultrassom por 10 minutos e após esse procedimento, o solvente orgânico foi evaporado pela técnica de rotaevaporação sob temperatura de 40°C. Após a evaporação do solvente, formou-se um filme fosfolipídico no fundo do balão, o qual foi ressuspensão com 40 mL de água ultrapura e em seguida foi submetido a banho de ultrassom por 30 minutos, formando uma dispersão de lipossomas em meio aquoso. Após 24 horas de agitação da solução de colágeno, verteu-se a solução dos lipossomas, mantendo-se sob agitação magnética por mais 24 horas.

As membranas COL/HESP foram obtidas utilizando o método de *casting* (NUNES et al., 2016). Nesse método as dispersões aquosas dos polímeros foram vertidas em suportes adequados, tais como: superfícies de polietileno ou placas de petri. Dessa forma, após as 24 horas de agitação, verteu-se a solução das membranas em placas de petri de 14 cm de diâmetro, as quais foram depositadas em capela para secagem à temperatura ambiente.

Membranas de colágeno contendo lipossomas sem HESP (COL) foram preparadas utilizando a mesma metodologia, com exceção do uso da HESP. Nessa formulação, a fosfatidilcolina foi dissolvida no clorofórmio e adicionada diretamente na solução de colágeno. Essas membranas sem HESP, ou seja, contendo o colágeno puro, foram utilizadas como formulação controle em um grupo experimental para fins de comparação de resultados.

5.1.4 Teor e Eficiência de Encapsulação da Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas

O teor e a eficiência de encapsulação (EE) da HESP foram determinados através da dissolução de segmentos das membranas de colágeno contendo HESP em lipossomas com área de 7 cm² em 10 mL de metanol, mantidos sob agitação magnética constante (250 rpm) por 12 horas, para permitir que toda HESP encapsulada na membrana estivesse em contato com a solução. Em seguida, a solução obtida foi filtrada em filtros de membrana (PTFE) de 0,45 µm e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os segmentos foram obtidos a partir de uma membrana de colágeno contendo HESP em lipossomas (A) e as análises foram realizadas em triplicata (n= 3). A EE foi calculada de acordo com equação 5, descrita abaixo:

$$Eq.(5): EE = C1/C2 * 100$$

onde, C1 é o teor de HESP presente nas membranas e C2 é a quantidade inicial de HESP utilizada para preparar as membranas de colágeno contendo HESP em lipossomas.

5.1.5 Uniformidade de conteúdo de Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas

Para determinar se a HESP está distribuída de maneira uniforme ao longo das membranas COL/HESP, foram obtidas 8 frações com área de 7 cm², sendo que cada fração foi dissolvida em 10 mL de metanol e mantida sob agitação durante 12 horas. As soluções obtidas foram filtradas em filtros de membrana (PTFE) de 0,45 µm e o teor de hesperidina em cada fração foi determinado por CLAE. Esse experimento foi realizado utilizando 3 membranas COL/HESP diferentes. Dessa forma, foram analisadas 24 frações por CLAE.

5.1.6 Protocolos Experimentais

5.1.6.1 Animais

Foram utilizados 72 ratos (*Rattus norvegicus*), albinos da linhagem Wistar, machos, com peso compreendido entre 250 – 300 gramas todos oriundos do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe (DFS/UFS). Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (41x34x16cm) sob as mesmas condições de temperatura ambiente (20 ± 2°C), umidade, ruído, ciclo claro-escuro de 12:00 horas, com a fase clara iniciando às 6:00 e terminando às 18:00 horas, recebendo ração comercial (Purina; Labina) e água *ad libitum*, durante todo o período de experimentação científica, no Biotério do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular (LAFAC) e no Laboratório de Neurociências e Ensaios Farmacológicos (LANEF), no Departamento de Fisiologia, da Universidade Federal de Sergipe. Todos os protocolos experimentais propostos respeitaram os critérios éticos de experimentação animal preconizados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e *Internacional Council for Laboratory Animal Science* (ICLAS). O projeto foi submetido ao comitê de ética e pesquisa na UFS e obteve a aprovação com o CEUA nº 7086120523.

5.1.6.2 Grupos de Estudo

Os ratos foram divididos aleatoriamente em três grupos distintos e subdivididos em quatro subgrupos, (n=06 animais por cada subgrupo), que foram tratados, respectivamente, por 3, 7, 14 e 21 dias consecutivos:

- **SI:** Grupo sem intervenção (foi confeccionada apenas uma ferida e os animais permaneceram sem tratamento até a eutanásia);
- **COL:** Grupo controle tratado com membrana de colágeno, sem o fármaco, contendo lipossomas;
- **COL/HESP:** Grupo tratado com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas.

5.1.6.3 Modelo da Ferida Cutânea Aberta

Para a realização do procedimento cirúrgico, todos os animais foram pesados e anestesiados (quetamina na dose de 80 mg/kg e xilazina na dose de 10 mg/kg), por via intraperitoneal e após atingir o plano anestésico, os animais foram submetidos à tricotomia e a antissepsia com álcool a 70% e iodo-povidona tópico a 10% (POVIDONE®). Posteriormente, os animais foram colocados sobre a mesa cirúrgica e posicionados em decúbito ventral para a realização do modelo de ferida excisional.

O modelo de ferida cutânea excisional, que mimetiza uma ferida cutânea aberta, foi padronizada para todos os animais de ambos os grupos e consiste na excisão total da pele e hipoderme (região dorsal) realizada com um *punch* metálico para biópsia com 8 mm de diâmetro (RICHTER®) (Figura 2) no centro da área tricotomizada. Não foi realizada sutura das feridas. A hemostasia foi feita por compressão digital com compressa de gaze.

Cada animal foi submetido à confecção de apenas uma ferida e ao final do procedimento cirúrgico, os animais foram realocados (2 a 2) nas suas respectivas gaiolas com ração e água *ad libitum* e foram examinados diariamente quanto à mobilidade e às condições da ferida e suas complicações. Os animais presentes na mesma gaiola foram separados por divisória de acrílico transparente, de modo a evitar que nenhum animal ficasse isolado, alterando o hábito de viver em grupo, e de permitir contaminação da ferida pelo outro animal. O ambiente de alocação dos animais contou ainda com um adequado sistema de exaustão de ar diretamente com o ambiente externo.

O tratamento dos animais de acordo com o seu grupo, consistiu na aplicação da membrana (mesma dimensão do *punch* metálico – 8mm de diâmetro) diretamente sobre a ferida uma única vez, no momento de realização da ferida, especificamente após a hemostasia.

Figura 2: Punch metálico 8 mm para biópsia.



Fonte: Própria do autor.

5.1.6.4 Determinação do Índice de Retração das Feridas

A avaliação macroscópica ocorreu no 3º, 7º, 14º e 21º dias após a confecção da ferida. Os animais foram novamente pesados e então sacrificados com dose letal de anestésico pela via intraperitoneal. Após a eutanásia, os animais foram colocados em mesa cirúrgica e tiveram suas feridas fotografadas com câmera de celular iphone 7 12.0 megapixels, com resolução 4608 x 2592 pixels, à distância constante de 30 cm da mesa cirúrgica. Foi realizada a medida do diâmetro, avaliação e análise duplo cego, da ferida residual no eixo crânio-caudal e latero-lateral com paquímetro digital (MESSEN®) (Figura 3). Para a determinação das áreas das feridas, utilizou-se uma variação da fórmula $A = \pi \times R \times r$, onde:

A - Área da ferida;

π - Valor matemático utilizado até a quarta casa após a vírgula (3,1415);

R - Raio maior da ferida;

r - Raio menor da ferida.

Neste experimento *R* e *r* corresponderam aos raios das feridas no sentido crânio-caudal e látero-lateral, respectivamente (PRATA et al., 1988). Os diâmetros obtidos foram divididos por 2 determinando-se, dessa maneira, os raios (BARRETO et al., 2013a). Para a determinação da área de redução (AR), utilizou-se a fórmula $AR = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$, onde: AR = Área resultante; A_0 – Área inicial após confecção; A_t – Área final medida antes da retirada da ferida nos dias 3,7,14 e 21 dias (AGRA et al., 2013).

Figura 3: Paquímetro digital para mensuração do índice de retração das feridas.



Fonte: Própria do autor.

5.1.6.5 Processamento Histológico

Após os protocolos de avaliação macroscópica, os animais foram eutanasiados, ao 3º, 7º, 14º e 21º dias de pós-operatório e a área das feridas residuais foram retiradas com margem externa de 1cm de pele íntegra em torno da lesão com profundidade até a primeira camada muscular. A peça foi colocada em uma placa de petri e examinada para verificação de crostas, edema, secreções e necroses, para uma avaliação qualitativa por análise macroscópica. Em seguida, cada peça foi fixada por alfinetes em EVA e colocada em recipiente plástico com solução de formol tamponado a 10% por no mínimo 48h para a fixação. Após o período de 48h para fixação, as peças foram seccionadas longitudinalmente e tratadas convenientemente para a inclusão em parafina e coloração em Hematoxilina-Eosina (HE) para posterior análise histopatológica (BARRETO et al., 2013b).

As lâminas foram avaliadas quanto à intensidade da reação inflamatória, tipo de infiltrado inflamatório, índice de epitelização, formação do tecido de granulação, vascularização, proliferação de fibroblastos e deposição de fibras colágenas no 3º, 7º, 14º e 21º dias pós-cirúrgicos (avaliação e análise duplo cego).

5.1.6.6 *Análise Histomorfológica*

5.1.6.6.1 *Análise da Reação Inflamatória*

Para avaliação das características histomorfológicas associadas ao processo inflamatório/reparativo, foram analisadas as secções histológicas coradas em HE (10 campos), observando-se os seguintes critérios: intensidade e tipo do infiltrado inflamatório.

A intensidade do processo inflamatório foi observada e determinada de acordo com os seguintes critérios:

- **LEVE:** (+1) – quando as células inflamatórias, independentemente de seu fenótipo, constituírem menos de 10% da população celular observada na área da ferida cirúrgica;
- **MODERADA:** (+2) – quando as células inflamatórias, independentemente de seu fenótipo, constituírem entre 10% e 50% da população celular observada na área da ferida cirúrgica;
- **SEVERA:** (+3) – quando as células inflamatórias, independentemente de seu fenótipo, constituírem mais de 50% da população celular observada na área da ferida cirúrgica (BARRETO et al., 2013a; RIBEIRO et al., 2009a).

Para a determinação da tipagem da reação inflamatória foi considerado a análise quantitativa das diferentes células inflamatórias individualmente, a saber: neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos, identificadas pela sua morfologia específica (BARRETO et al., 2013b; RIBEIRO et al., 2009b). Desta forma, esta análise obedeceu os mesmos critérios de classificação descritos acima: +1,+2 e +3.

Após a análise anterior, a reação inflamatória foi categorizada de acordo com o fenótipo inflamatório predominante em:

- **Inflamação aguda** (quando predominarem neutrófilos e/ou eosinófilos);
- **Inflamação subaguda** (quando houver equilíbrio entre neutrófilos/eosinófilos e linfócitos/plasmócitos);
- **Inflamação crônica inespecífica** (quando predominarem linfócitos e/ou plasmócitos);
- **Inflamação crônica granulomatosa** (quando predominarem macrófagos e/ou gigantócitos) (BARRETO et al., 2013a; RIBEIRO et al., 2009a).

5.1.6.6.2 Determinação do índice percentual de epitelização da superfície da ferida

O índice de epitelização da superfície da ferida foi determinado pelo percentual de epitelização (Ep) (HE, ampliação de 40X). Nessa avaliação, realizada por pesquisadores treinados para análise histológica de perfil inflamatório, calculou-se a razão entre a extensão superficial ocupada pelo epitélio neoformado (Eex) e a extensão total do ferimento (Et), multiplicando por 100 (BARRETO et al., 2013a), de acordo com a seguinte fórmula: $Ep = (Eex/Et) \times 100$, onde:

Ep – Percentual de epitelização;

Eex – Extensão superficial ocupada pelo epitélio neoformado;

Et – Extensão total do ferimento

5.1.7 Descarte dos Animais

Os animais eutanasiados ao término dos protocolos experimentais foram acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados como material biológico infectante e armazenados no freezer do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia/UFS até a coleta seletiva de lixo biológico da instituição para descarte adequado de acordo com a legislação vigente.

5.1.8 Análise Estatística

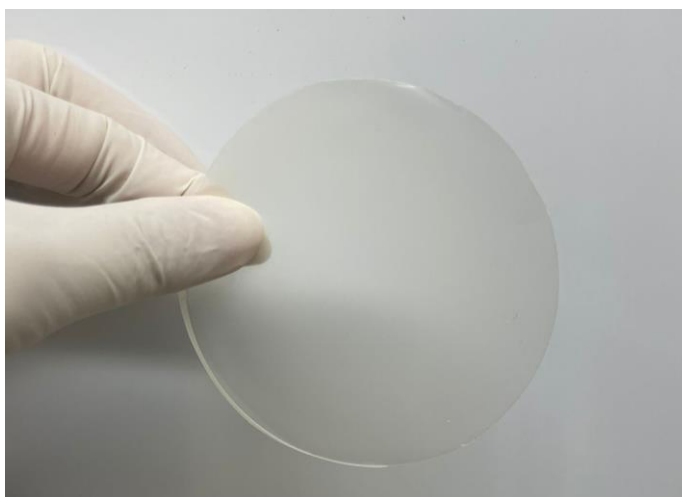
Os resultados foram expressos em média $\pm$ E.P.M. A normalidade das amostras foi avaliada através do teste de Shapiro – Wilk. Nas análises da área de redução das feridas e índice de epitelização (3º, 7º, 14º e 21º dias pós-lesão) as diferenças entre os grupos foram analisadas através do teste de Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo pós-teste de Tukey. A análise semi-quantitativa da reação inflamatória foi analisada pelo teste ANOVA de duas vias, seguido pelo pós-teste de Bonferroni. Todos os resultados foram tratados estatisticamente utilizando-se GraphPad Prism® versão 8.0. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5.2 Resultados

5.2.1 Obtenção das Membranas COL/HESP

Após a secagem a temperatura ambiente, as membranas foram removidas das placas com o auxílio de uma pinça de metal e em seguida suas características organolépticas foram analisadas. As membranas COL/HESP (dose teórica de 3,0 mg), produto já depositado junto ao INPI - BR 10 2023 023131, foram embaladas, lacradas, identificadas e armazenadas em dessecador. Macroscopicamente, apresentaram uma coloração branca, baixa opacidade, boa flexibilidade, sem odor característico e exibiram uma superfície lisa, sem a presença de grumos, rachaduras ou ranhuras (Figura 4).

Figura 4: Membrana bioativa de colágeno contendo hesperidina em lipossomas, após a secagem, obtida pelo método de *casting*.



Fonte: Própria do autor.

5.2.2 Eficiência de Encapsulação (EE) da Hesperidina nas Membranas de Colágeno Contendo Lipossomas

O teor da HESP obtido com as análises, através do método de CLAE, foi de $183,55 \pm 0,34 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e dessa forma a EE foi de 98% (Tabela 1). O valor da EE próximo a 100% indica que praticamente toda a HESP foi incorporada nos lipossomas/membranas.

Tabela 1: Teor ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) e EE (%) da Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas.

	Teor ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Média $\pm$ DP (Todas as amostras)	EE (%)
Membrana A	Média $\pm$ DP (n=3)	$183,55 \pm 0,34$	98%
Segmento 1	$203,83 \pm 0,81$		
Segmento 2	$172,69 \pm 0,69$		
Segmento 3	$174,14 \pm 0,68$		

DP: Desvio padrão; EE: Eficiência de encapsulação.

Fonte: Própria do autor.

5.2.3 Uniformidade de conteúdo da Hesperidina nas Membranas de Colágeno Contendo Lipossomas

A HESP apresentou uma distribuição uniforme nas membranas COL/HESP, pois o teor das 24 frações analisadas por CLAE apresentaram pequenas variações. O teor médio e o DPR foram de $182,43 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e 0,65 %; $181,45 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e 0,80 %; $182,95 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e 0,74 %, para as membranas 1, 2 e 3, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição da Hesperidina nas Membranas de Colágeno contendo Lipossomas.

Fração	Teor ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) Membrana 1	Teor ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) Membrana 2	Teor ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) Membrana 3
1	183,2809	181,6508	181,3718
2	181,6793	182,086	180,9916
3	183,0602	182,0184	183,6928
4	180,4518	179,5523	183,1965
5	182,7274	181,0406	182,0194
6	181,1876	182,553	183,6128
7	183,6995	179,2575	183,7639
8	183,3945	183,4771	184,9814
Média $\pm$ DP (n= 8)	182,43 $\pm$ 1,18	181,45 $\pm$ 1,44	182,95 $\pm$ 1,36
DPR (%)	0,65 %	0,80 %	0,74 %

DP: Desvio padrão; DPR: Desvio padrão relativo.

Fonte: Própria do autor.

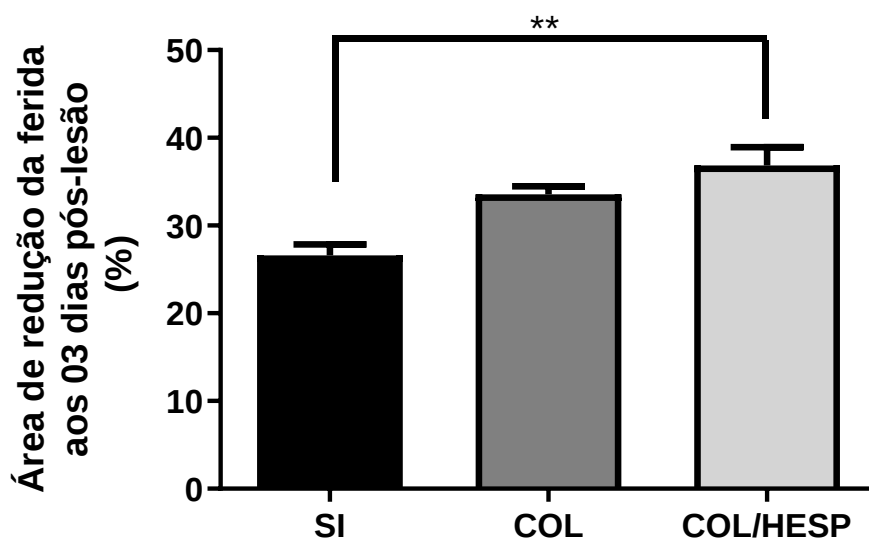
5.2.4 Efeito da COL/HESP sobre a Área de Redução das Feridas

A determinação da área reducional das feridas indica a progressão do processo cicatricial das lesões dos animais em estudo (SI, COL e COL/HESP) no seu respectivo tempo (dias) de retirada da ferida residual.

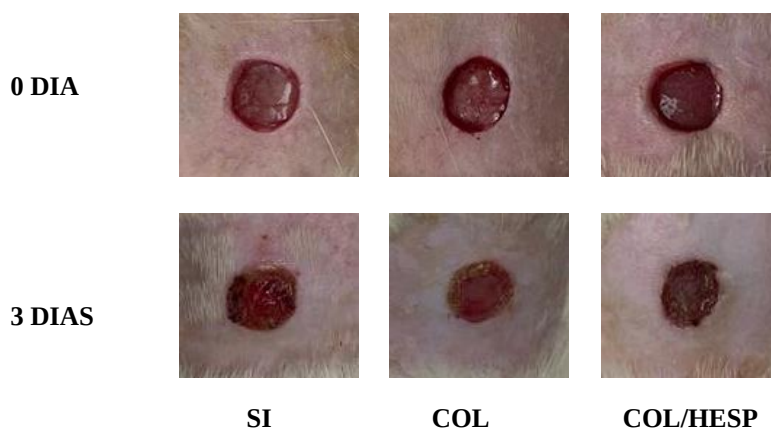
Nesse estudo, no 3º dia pós-lesão, os animais tratados com HESP apresentaram um aumento significativo na área de redução da ferida quando comparado aos animais do grupo SI ($p < 0,01$) (Figura 5).

Figura 5: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 3 dias após a confecção da ferida. A: Cálculo da área de redução (%) . B: Imagem ilustrativa de cada grupo 3 dias após a confecção da ferida.

A



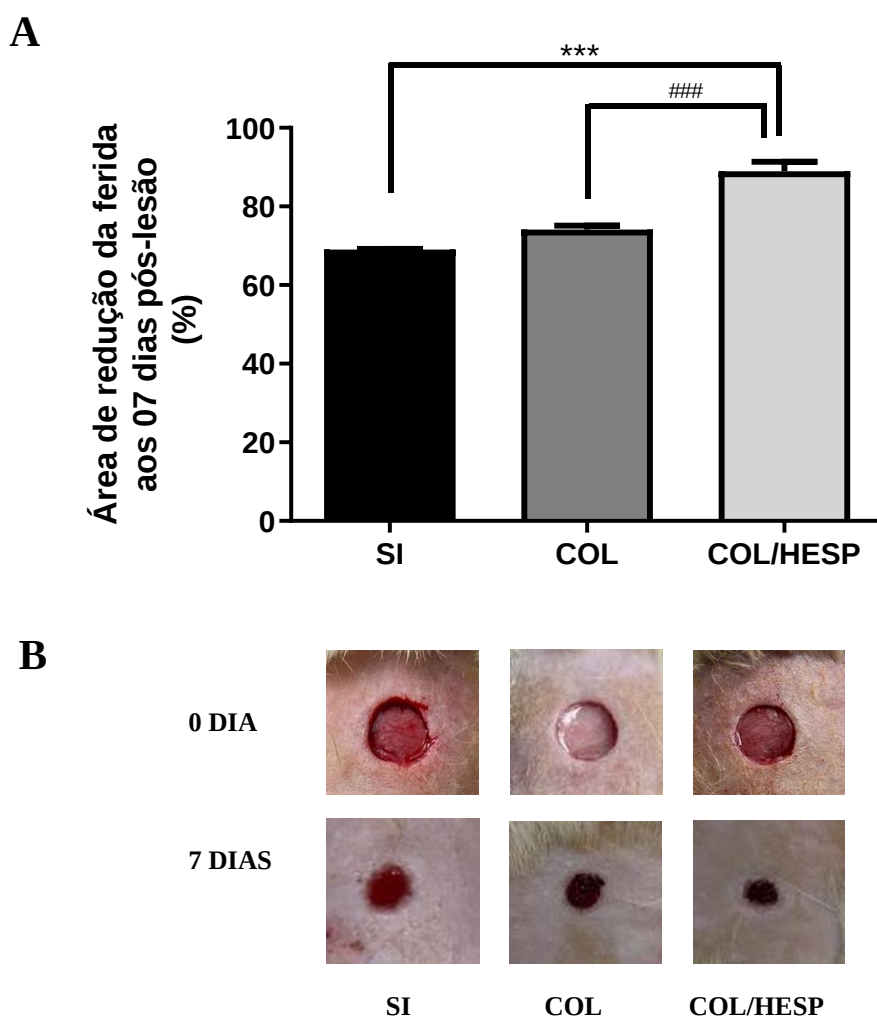
B



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno sem o fármaco; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 3 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados pela média $\pm$ E.P.M. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo SI. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

No 7º dia pós-lesão (Figura 6), o grupo COL/HESP ($0,88 \pm \text{EPM}$) aumentou significativamente a área de redução da ferida, quando comparado ao grupo COL ($0,740,88 \pm \text{EPM}$, $p < 0,001$) e quando comparado ao grupo SI ($0,69 \pm \text{EPM}$, $p < 0,001$). O grupo COL não apresentou diferença estatística quando comparado ao grupo SI.

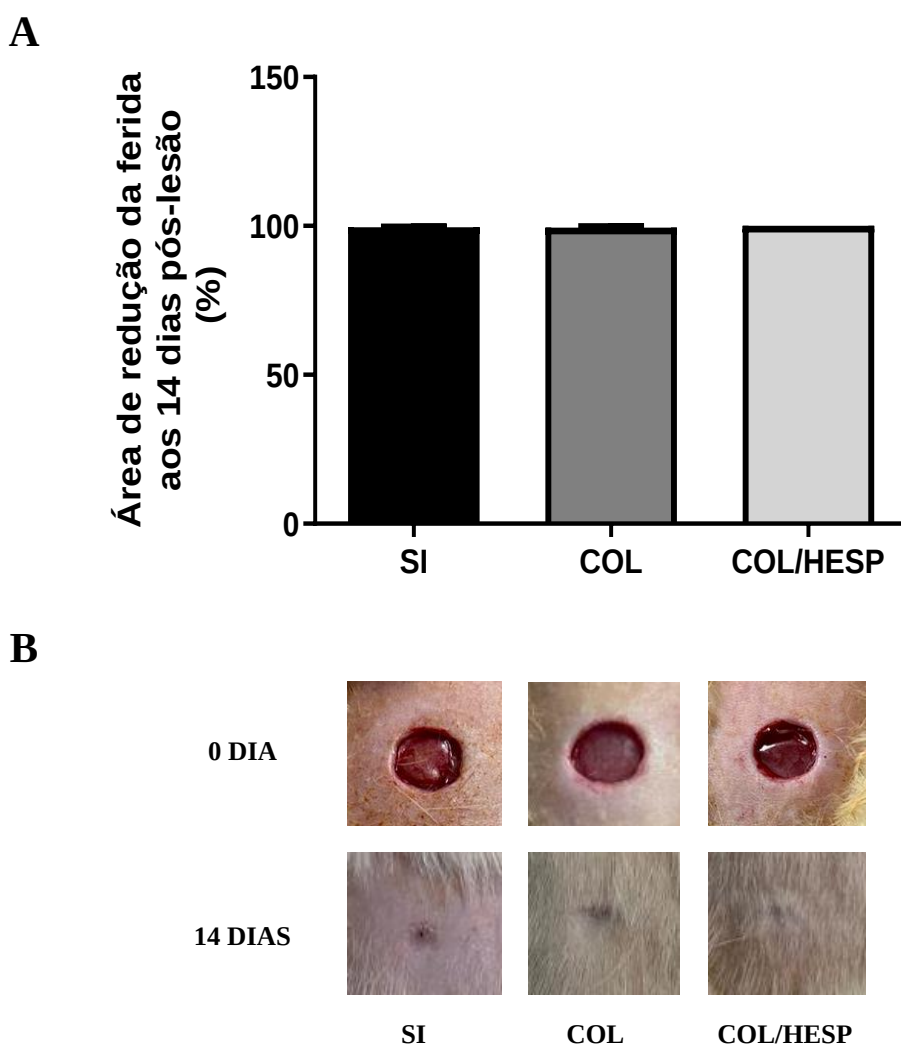
Figura 6: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 7 dias após a confecção da ferida. A: Cálculo da área de redução (%). B: Imagem ilustrativa de cada grupo 7 dias após a confecção da ferida.



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno sem o fármaco; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 7 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados pela média $\pm$ E.P.M. *** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo SI e ### $p < 0,001$ quando comparado ao grupo COL. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

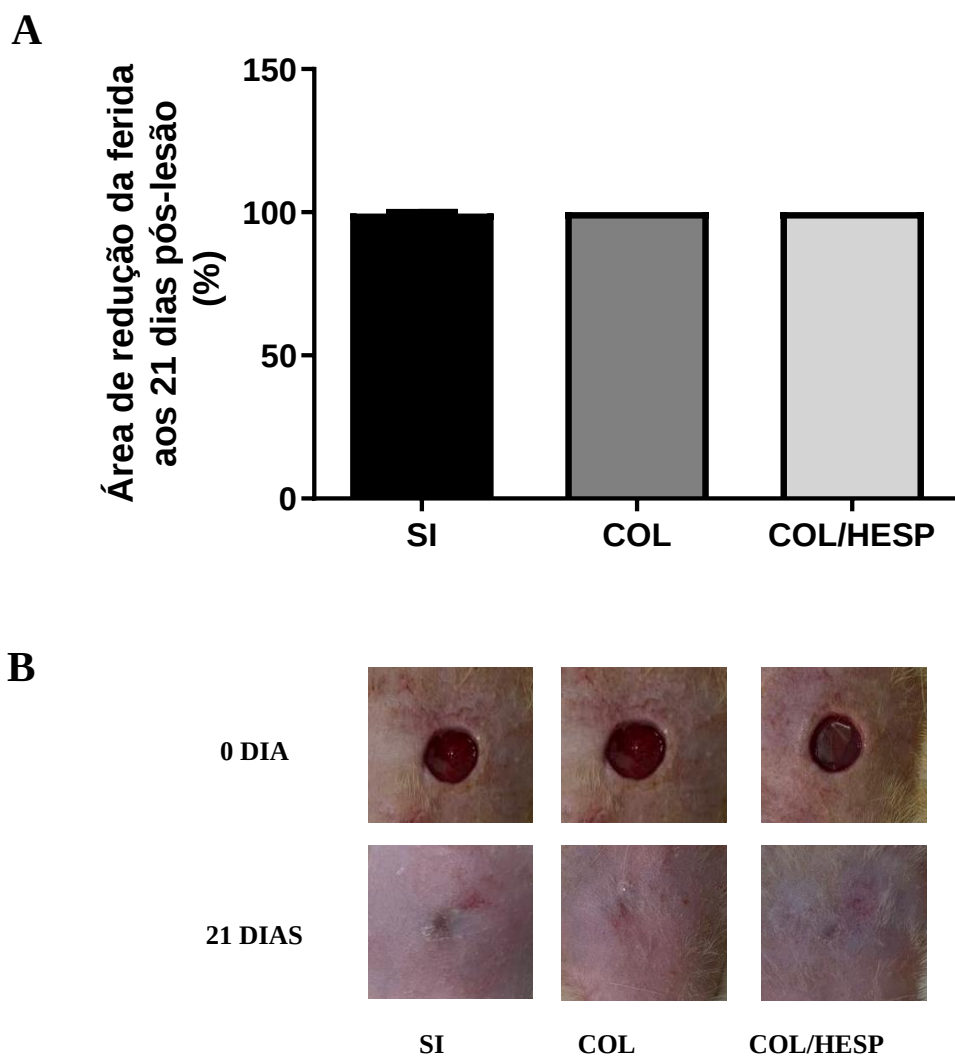
No 14º e 21º dia de experimentação (Figura 7 e 8), o grupo COL/HESP não apresentou diferença estatística quando comparado aos grupos COL e SI, no que se refere à área de redução da ferida.

Figura 7: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 14 dias após a confecção da ferida. A: Cálculo da área de redução (%). B: Imagem ilustrativa de cada grupo 14 dias após a confecção da ferida.



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno sem o fármaco; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 14 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados pela média $\pm$ E.P.M. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

Figura 8: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a mensuração da redução da área da ferida (%) 21 dias após a confecção da ferida. A: Cálculo da área de redução (%). B: Imagem ilustrativa de cada grupo 21 dias após a confecção da ferida.



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno sem o fármaco; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 21 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados pela média $\pm$ E.P.M. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

5.2.5 Efeito da COL/HESP sobre a Composição Histomorfológica das Feridas

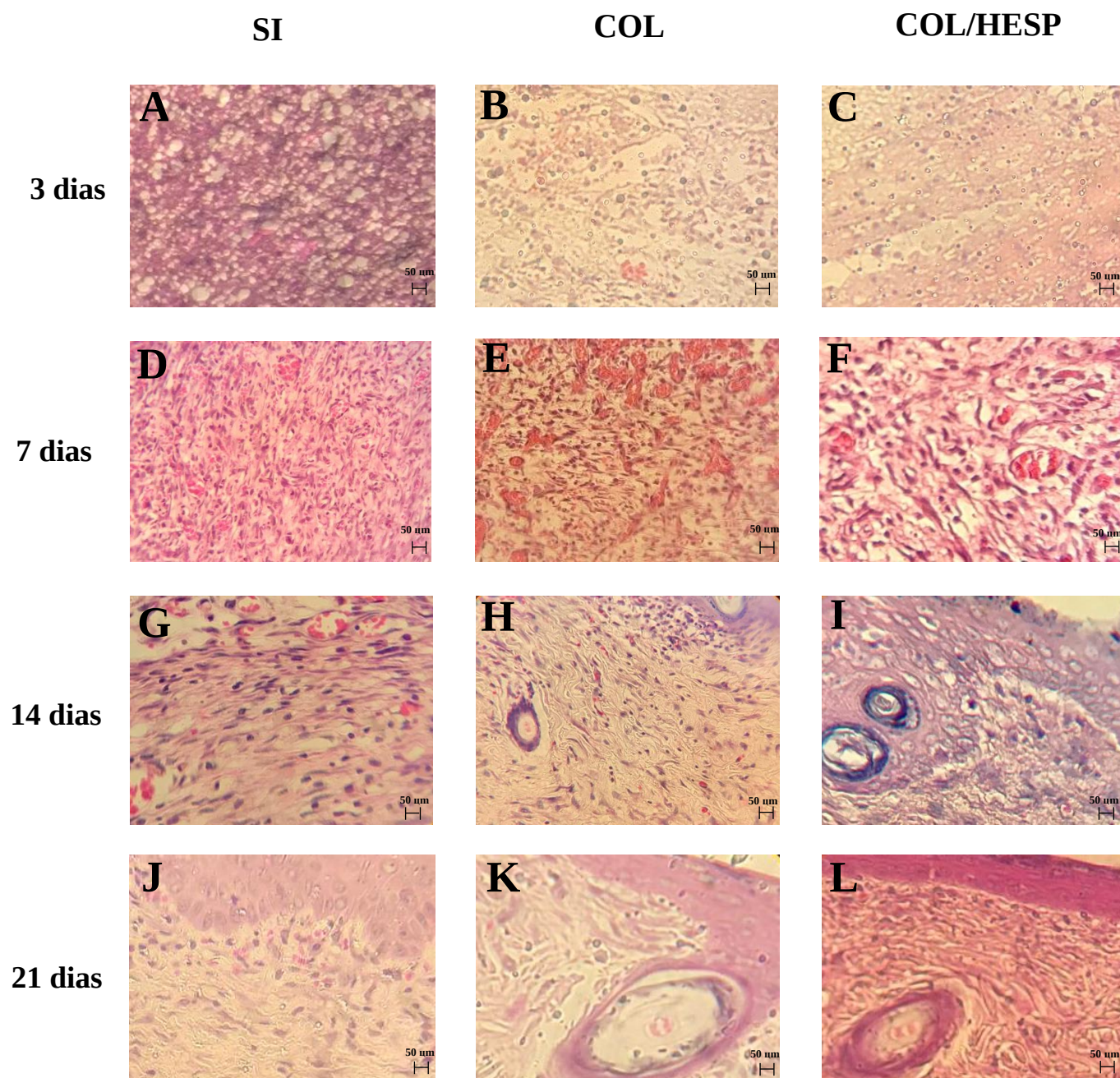
A avaliação histopatológica foi constituída por análise descritiva e semiquantitativa (lâminas coradas em HE) das características histomorfológicas associadas ao processo inflamatório/reparativo. Foram observados os critérios de intensidade da reação inflamatória, tipo de infiltrado inflamatório, índice de epiteliação, formação do tecido de granulação, vascularização, proliferação de fibroblastos e deposição de fibras colágenas no 3º, 7º, 14º e 21 dias pós-cirúrgicos, conforme os grupos e o dia estabelecido para a eutanásia (Figura 9).

No 3º dia pós-cirúrgico, foi possível observar em todos os grupos, SI, COL e COL/HESP, um intenso infiltrado inflamatório (Figura A, B e C). Nos grupos SI e COL observamos um infiltrado composto por macrófagos e neutrófilos (Figura A e C), já no grupo COL/HESP (Figura C) houve uma atenuação do infiltrado neutrofílico com a presença de macrófagos. Esse achado corrobora com os resultados referentes à área de redução das feridas (Figura 5), onde os animais tratados com HESP apresentaram um aumento significativo da área de redução quando comparado ao grupo SI sugerindo um avanço na reparação tecidual. Ademais, nesse mesmo grupo, COL/HESP, foi possível observar uma invasão do tecido adiposo subjacente (paniculite), do muscular subjacente (miosite) e edema.

No 7º dia, o grupo SI apresentou um infiltrado leucocitário predominantemente por neutrófilos e macrófagos (Figura 9 D). Nos grupos COL foi possível observar a presença de um tecido de granulação imaturo e já no grupo COL/HESP um tecido de granulação bem desenvolvido, além disso, foi observado o desenvolvimento de uma vasta rede de vasos capilares em ambos os grupos (Figura 9 E e F). Diferentemente, o COL/HESP foi marcado pela presença de fibroblastos mais fusiformes e ativos, fibras colágenas mais espessas e início da epiteliação quando comparado aos grupos SI e COL. Essas observações corroboram com os achados referentes à área de redução das feridas (Figura 6), em que o grupo tratado com HESP diminuiu significativamente a área residual da ferida quando comparado aos grupos SI e COL, indicando uma maior sobreposição da fase inflamatória para a fase proliferativa.

Já no 14º dia pós-operatório, foi possível observar uma redução da intensidade inflamatória em todos os grupos (Figura 9 G, H e I), principalmente no grupo COL/HESP com predomínio de células mononucleares como os linfócitos. Quando comparado aos grupos SI e COL (Figura 9 G e H), o grupo tratado com HESP apresentou um processo de cicatrização mais evoluído devido à presença de fibroblastos ativos, folículos pilosos e glândulas sebáceas bem formados, que sugerem um avanço da fase proliferativa para a fase de remodelação.

Figura 9: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a análise histológica das feridas residuais dos animais no 3º, 7º, 14º e 21º dias após a confecção da ferida excisional. Os animais foram tratados e avaliados no 3º, 7º, 14º ou 21º dia pós-lesão, respectivamente, após a confecção da ferida. (HE, ampliação de 40x).



Por fim, no 21º dia pós-lesão, todos os grupos apresentaram uma diminuição acentuada no infiltrado inflamatório (Figura 9 J, K e L). Particularmente nos animais do grupo COL/HESP (Figura 9 L), observamos uma maior maturação da cicatriz o que possibilitou a visualização de anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas sebáceas, na região da cicatriz, além de uma deposição de fibras colágenas mais maduras, num arranjo mais entrelaçado e fibras mais longas e espessas quando comparado aos grupos SI (Figura 9 J).

Na análise da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório nas lâminas coradas em HE 3 dias após o procedimento cirúrgico, foi possível observar em todos os grupos, SI, COL, e COL/HESP, uma intensidade inflamatória com a presença de >50% de células inflamatórias na lesão. Em relação à categorização da reação inflamatória, todos os grupos apresentaram uma inflamação aguda pelo predomínio de células polimorfonucleares como neutrófilos e macrófagos (Tabela 3).

Já no 7º dia, os grupos SI e COL apresentaram uma intensidade inflamatória severa com o predomínio de >50% de células inflamatórias. Já no grupo COL/HESP houve uma diminuição desse infiltrado leucocitário, caracterizando-o como moderado. Em relação ao infiltrado inflamatório, o grupo SI foi categorizado como inflamação aguda com o predomínio de neutrófilos e eosinófilos. O grupo COL foi marcado com o equilíbrio entre neutrófilos e macrófagos e entre linfócitos e plasmócitos, sendo categorizado como inflamação subaguda. Por fim, no grupo COL/HESP foi possível observar uma diminuição expressiva de neutrófilos e predomínio de linfócitos, categorizando o infiltrado inflamatório como crônico inespecífico (Tabela 4).

Tabela 3: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 3 dias após a confecção cirúrgica.

GRUPOS	Animais	Intensidade da reação inflamatória	Leucócitos					
			Neut.	Eosin.	Linf.	Plasm.	Macr.	Cél. Gig.
SI	R1	+3	+3	+1	+1	+1	+2	+1
	R2	+3	+2	+1	+1	+1	+1	+1
	R3	+3	+3	+1	+2	+1	+3	+1
	R4	+3	+2	+2	+2	+1	+2	+1
	R5	+3	+3	+2	+1	+1	+3	+1
	R6	+3	+2	+1	+1	+1	+3	+1
COL	R1	+3	+1	+1	+2	+2	+2	+1
	R2	+3	+2	+1	+2	+1	+1	+1
	R3	+3	+1	+1	+3	+1	+2	+2
	R4	+2	+2	+2	+2	+1	+2	+1
	R5	+3	+1	+1	+2	+2	+2	+1
	R6	+3	+2	+1	+2	+2	+1	+2
* COL/HESP	R1	+2	+3	+2	+3	+2	+1	+1
	R2	+2	+2	+1	+2	+2	+2	+1
	R3	+2	+3	+2	+3	+1	+2	+1
	R4	+3	+2	+1	+3	+2	+2	+2
	R5	+3	+2	+2	+3	+1	+3	+1
	R6	+3	+2	+1	+2	+1	+3	+2

SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas; R: Rato; Neut.: Neutrófilos; Eosin: Eosinófilos; Linf.: Linfócitos; Plas.: Plasmócitos; Macr.: Macrófagos; Cél. Gig.: Células Gigantes. LEVE +1: < 10%; MODERADA+2: Entre 10 e 50%; SEVERA +3: > 50%. * $p < 0,01$ COL/HESP quando comparado ao grupo SI. Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn (n= 6/grupo).

Os resultados encontrados no 7º dia pós-lesão corroboram com os dados referentes à área de redução das feridas, onde o grupo COL/HESP apresentou um aumento significativo na taxa de redução quando comparado aos grupos SI e COL. Dessa forma, podemos inferir que os animais tratados com HESP apresentaram um avanço no processo de cicatrização de feridas.

Tabela 4: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 7 dias após a confecção cirúrgica.

GRUPOS	Animais	Intensidade da reação inflamatória	Leucócitos					
			Neut.	Eosin.	Linf.	Plasm.	Macr.	Cél. Gig.
SI	R1	+3	+2	+1	+1	+1	+2	+1
	R2	+3	+2	+1	+1	+1	+1	+1
	R3	+3	+2	+1	+2	+1	+2	+1
	R4	+3	+2	+2	+2	+1	+2	+1
	R5	+2	+2	+1	+1	+2	+2	+1
	R6	+3	+2	+1	+2	+1	+2	+1
COL	R1	+2	+1	+1	+2	+2	+2	+1
	R2	+2	+2	+1	+2	+1	+1	+1
	R3	+3	+1	+1	+3	+1	+2	+2
	R4	+3	+2	+2	+2	+1	+2	+1
	R5	+3	+1	+1	+2	+2	+2	+1
	R6	+2	+2	+1	+2	+2	+1	+2
**/ # COL/HESP	R1	+3	+1	+1	+3	+1	+1	+1
	R2	+2	+1	+1	+2	+2	+1	+1
	R3	+2	+1	+3	+3	+1	+1	+1
	R4	+2	+1	+1	+3	+2	+2	+2
	R5	+2	+1	+2	+3	+1	+1	+1
	R6	+2	+2	+1	+2	+1	+1	+1

SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas; R: Rato; Neut.: Neutrófilos; Eosin: Eosinófilos; Linf.: Linfócitos; Plas.: Plasmócitos; Macr.: Macrófagos; Cél. Gig.: Células Gigantes. LEVE +1: < 10%; MODERADA +2: Entre 10 e 50%; SEVERA +3: > 50%. **p<0,05 COL/HESP quando comparado ao grupo SI e # p<0,01 COL/HESP quando comparado ao grupo COL. Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn (n= 6/grupo).

No 14º dia pós-lesão, todos os grupos apresentaram uma diminuição da intensidade inflamatória. Entretanto, no grupo SI a intensidade foi classificada como moderada, entre 10-50% de células inflamatórias, e nos grupos COL e COL/HESP foi categorizado como leve ou ausente, <10% de células inflamatórias no local da lesão. No que diz respeito à reação inflamatória no local da lesão, todos os grupos foram categorizados como inflamação crônica inespecífica, com predomínio de células mononucleares como os linfócitos (Tabela 5).

Tabela 5: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 14 dias após a confecção cirúrgica.

GRUPOS	Animais	Intensidade da reação inflamatória	Leucócitos					Cél. Gig.
			Neut.	Eosin.	Linf.	Plasm.	Macr.	
SI	R1	+1	+1	+1	+1	+1	+2	+1
	R2	+1	+1	+1	+1	+2	+1	+1
	R3	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R4	+2	+2	+1	+2	+2	+2	+1
	R5	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R6	+1	+1	+1	+2	+1	+2	+1
COL	R1	+1	+1	+1	+2	+1	+1	+1
	R2	+1	+1	+1	+1	+1	+2	+1
	R3	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R4	+1	+1	+1	+2	+1	+2	+1
	R5	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R6	+1	+2	+1	+1	+1	+1	+1
COL/HESP	R1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R2	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R3	+1	+1	+1	+2	+1	+1	+1
	R4	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R5	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R6	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1

SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas; R: Rato; Neut.: Neutrófilos; Eosin: Eosinófilos; Linf.: Linfócitos; Plas.: Plasmócitos; Macr.: Macrófagos; Cél. Gig.: Células Gigantes. LEVE +1: < 10%; MODERADA+2: Entre 10 e 50%; SEVERA +3: > 50%.

Diante da diminuição do infiltrado inflamatório no 14º dia pós-lesão, podemos inferir que os animais tratados com COL/HESP apresentaram uma reparação tecidual mais avançada quando comparado aos grupos SI. Nesse grupo, a fase de remodelação encontra-se no seu estágio inicial, enquanto que os grupos SI e COL encontram-se na final da fase proliferativa. Vale ressaltar, que esse avanço do processo de cicatrização no grupo COL/HESP pode estar relacionado com a presença de apêndices da pele e fibras colágenas mais espessas.

Tabela 6: Avaliação da intensidade e tipo de infiltrado inflamatório das feridas residuais 21 dias após a confecção cirúrgica.

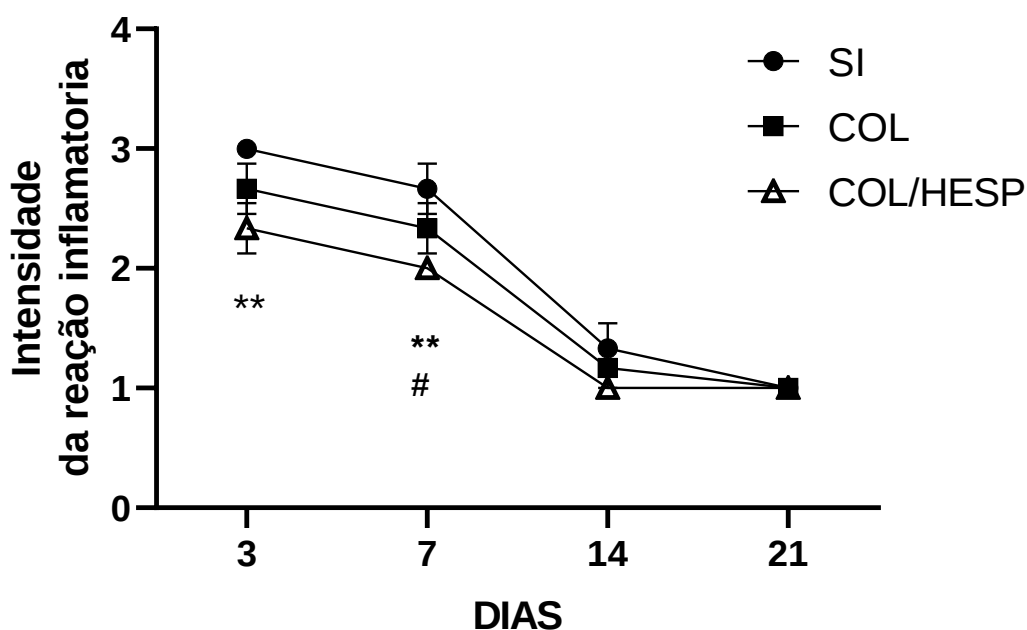
GRUPOS	Animais	Intensidade da reação inflamatória	Leucócitos					Cél. Gig.
			Neut.	Eosin.	Linf.	Plasm.	Macr.	
SI	R1	+1	+1	+1	+1	+1	+2	+1
	R2	+1	+1	+1	+1	+2	+1	+1
	R3	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R4	+2	+2	+1	+2	+2	+2	+1
	R5	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R6	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
COL	R1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R2	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R3	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R4	+1	+1	+1	+2	+1	+1	+1
	R5	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R6	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
COL/HESP	R1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R2	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R3	+1	+1	+1	+2	+1	+1	+1
	R4	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
	R5	+1	+1	+1	+1	+2	+1	+1
	R6	+1	+1	+1	+2	+2	+1	+1

SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas; R: Rato; Neut.: Neutrófilos; Eosin: Eosinófilos; Linf.: Linfócitos; Plas.: Plasmócitos; Macr.: Macrófagos; Cél. Gig.: Células Gigantes. LEVE +1: < 10%; MODERADA+2: Entre 10 e 50%; SEVERA +3: > 50%.

Finalmente, aos 21º dia pós – lesão, em todos os grupos (Tabela 6), a reação inflamatória mostrou-se bastante reduzida (leve) ou ausente. Quanto ao infiltrado inflamatório, o mesmo foi categorizado como crônico inespecífico devido ao predomínio de leucócitos mononucleares (linfócitos e plasmócitos) em todos os grupos. Essa já era uma resposta previsível, pois essa fase do processo de reparação tecidual é representada por uma diminuição gradual do estímulo quimiotático e apoptose das células inflamatórias da cicatriz, resultado na atenuação do infiltrado leucocitário observado. No entanto, nos grupos tratados COL e COL/HESP foi observado a presença de apêndices cutâneos já bem formados e diferenciados em folículos pilosos e glândulas sebáceas, fibras colágenas mais espessas e entrelaçadas, diferente do grupo SI no qual foi observado apenas rudimentos de prováveis apêndices cutâneos.

De forma geral e estatisticamente, visando avaliar a intensidade da reação inflamatória entre os dias 3, 7, 14 e 21, foi possível observar que no 3º dia pós-lesão houve diminuição significativa na intensidade da reação inflamatória nos animais tratados com COL/HESP ($2,33 \pm \text{EPM}$) quando comparados ao grupo SI ($3,0 \pm \text{EPM}$, $p < 0,01$). A mesma resposta foi encontrada no 7º dia pós-cirúrgico nos animais tratados com COL/HESP ($2,0 \pm \text{EPM}$) quando comparados ao grupo SI ($2,66 \pm \text{EPM}$, $p < 0,01$) e COL ($2,33 \pm \text{EPM}$, $p < 0,05$). Já no 14º e 21º dia pós-cirúrgico não houve nenhuma diferença estatística entre os grupos (Figura 10).

Figura 10: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre a intensidade da reação inflamatória no 3º, 7º, 14º e 21º dia pós-lesão.



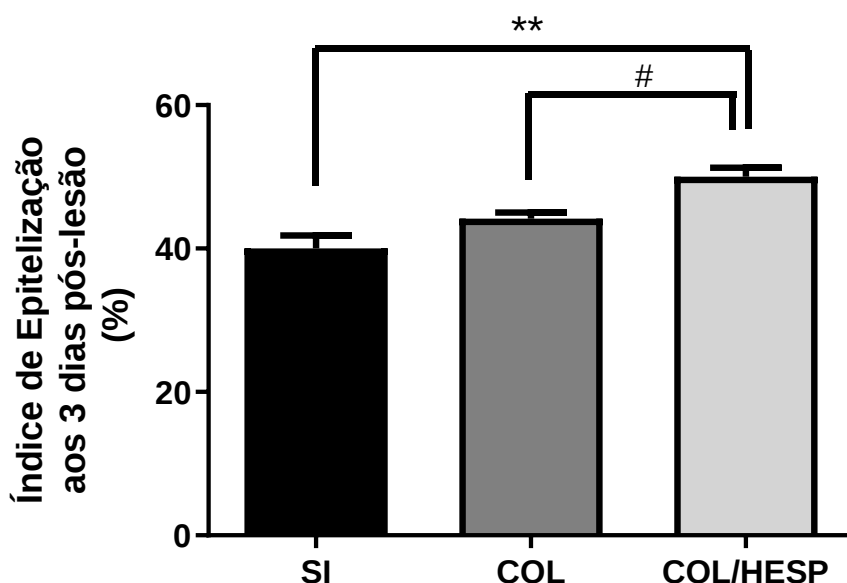
SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados e avaliados no 3º, 7º, 14º e 21º dia após a confecção da ferida. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo SI no 3º dia pós-lesão. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo SI e # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo COL no 7º dia pós-lesão. Os valores estão representados média $\pm$ E.P.M. ANOVA duas vias, seguido pelo pós-teste de Bonferroni (n = 6/grupo).

5.2.6 Efeito da COL/HESP sobre o Índice de Epitelização da Superfície da Ferida

O índice de epitelização da superfície da ferida foi avaliado através da observação da migração de queratinócitos na região correspondente a área lesionada.

Ao 3º dia pós-lesão o grupo tratado com HESP ($50 \pm \text{EPM}$) apresentou um aumento significativo nas taxas de epitelização quando comparado aos grupos SI ($40 \pm \text{EPM}$, $p < 0,01$) e COL ($44,16 \pm \text{EPM}$, $p < 0,05$). Já nos animais do grupo COL não foi possível observar nenhuma diferença estatística quando comparado ao grupo SI (Figura 11).

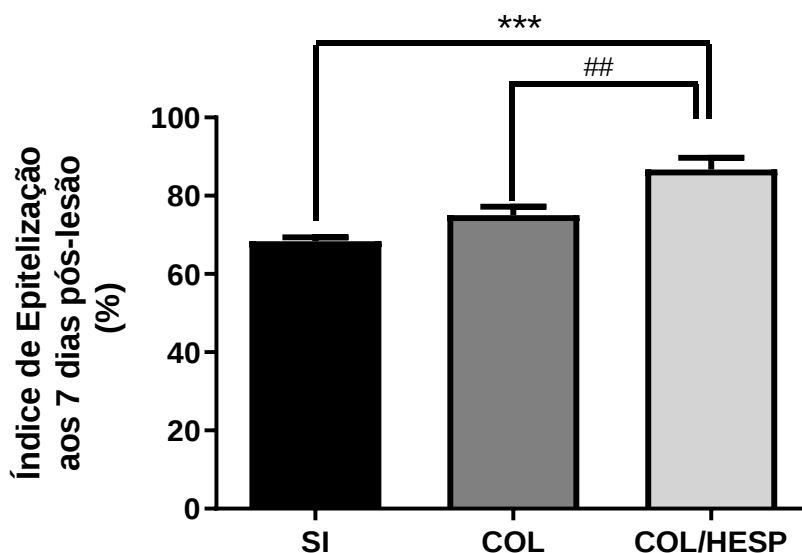
Figura 11: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epitelização em feridas cutâneas abertas no 3º dia pós-lesão.



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 3 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados média $\pm$ E.P.M. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo SI; # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo COL. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

No 7º dia, o grupo COL/HESP ($86,66 \pm \text{EPM}$) apresentou um aumento significativo nas taxas de epitelização quando comparado aos grupos SI ($68,33 \pm \text{EPM}$, $p < 0,001$) e COL ($75 \pm \text{EPM}$, $p < 0,01$) (Figura 12). Esse achado corrobora com os resultados referentes à área de redução das feridas, no qual os animais tratados com HESP apresentaram um aumento significativo na taxa de redução quando comparado aos grupos SI e COL. Já nos animais do grupo COL não foi possível observar diferença estatística quando comparado ao grupo SI.

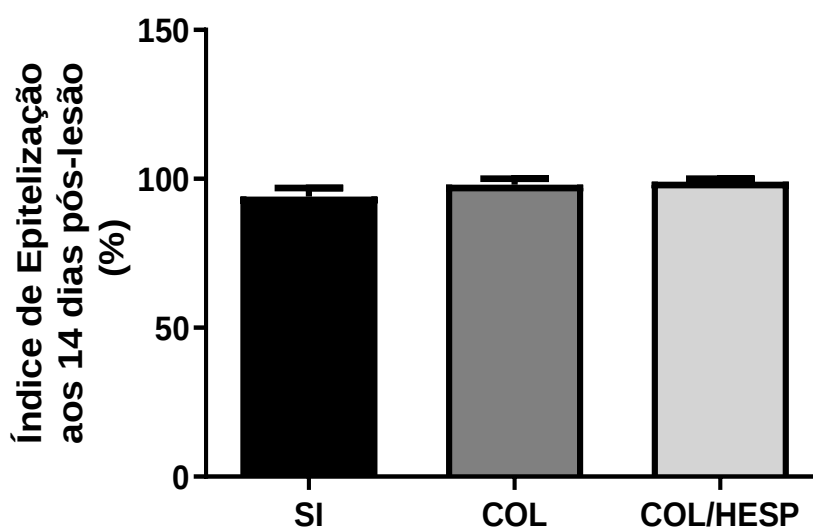
Figura 12: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epitelização em feridas cutâneas abertas no 7º dia pós-lesão.



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 7 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados média $\pm$ E.P.M. *** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo SI; ## $p < 0,01$ quando comparado ao grupo COL. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

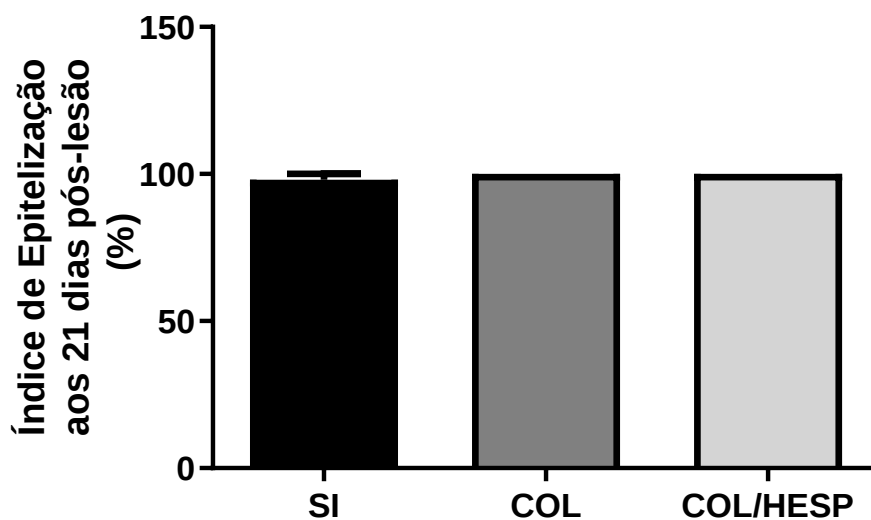
Já na avaliação dos grupos do 14º e 21º pós-cirúrgico, não foi possível observar distinções estatísticas significativas quanto ao índice de epitelização (Figura 13 e 14).

Figura 13: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epitelização em feridas cutâneas abertas no 14º dia pós-lesão.



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 14 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados pela média $\pm$ E.P.M. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

Figura 14: Efeito das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas (COL/HESP) sobre o índice de epiteliação em feridas cutâneas abertas no 21º dia pós-lesão.



SI: Animais isentos de tratamento; COL: Animais tratados com membrana de colágeno pura; COL/HESP: Animais tratados com membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas. Os animais foram tratados imediatamente após a lesão cirúrgica e avaliados 21 dias após a confecção da ferida cutânea aberta. Os valores estão representados pela média $\pm$ E.P.M. ANOVA uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey ($n = 6/\text{grupo}$).

5.3 DISCUSSÃO

O processo de cicatrização de feridas é definido como um evento fisiológico natural que ocorre como uma reação a danos estruturais nos tecidos, incluindo a pele (ADELEKE et al., 2022; SINGH; YOUNG; MCNAUGHT, 2017; YU; ZHANG; GUO, 2021). A procura de formulações que possam acelerar o processo de cicatrização aumenta a cada dia, tornando-se indispensável a compreensão das vias de sinalização que estão envolvidas no processo de reparo tecidual, as características físico-químicas das interações dos produtos naturais e os alvos específicos capazes de acelerar o processo de cicatrização como abordagem complementar ao uso de terapias convencionais de cicatrização (ABINAYA M.; GAYATHRI M., 2019; AFKHAMIZADEH et al., 2018; ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2016; SONG et al., 2022).

As plantas medicinais desempenham um papel promissor no processo de cicatrização de feridas e isso tem atraído o interesse público para o desenvolvimento de novos alvos farmacológicos de acordo com as suas inúmeras atividades biológicas (AHMADIAN et al., 2021; ALBAHRI et al., 2023; SHEDOEVA et al., 2019). Dentre as propriedades farmacológicas que a hesperidina possui, tais como: anti-inflamatória, antibacteriana, antioxidante e angiogênica, optou-se por incorporar essa flavonona a uma formulação contendo colágeno em lipossomas, visando diminuir os obstáculos da hesperidina devido a sua baixa solubilidade em água e baixa estabilidade físico-química *in vivo* (ÇETIN; ÇİFTÇİ; OTLU, 2016; GUAZELLI et al., 2021; HADDADI et al., 2018; KAWAGUCHI et al., 2004; ZHOU et al., 2019).

Os lipossomas têm sido amplamente utilizados como nanocarreadores seguros e eficazes para transportar fármacos pouco solúveis em água, de forma a aumentar a biodisponibilidade e propiciar sua administração (CHEN; STEPHEN INBARAJ, 2019; ELSANA et al., 2019). Além disso, podem ser aplicados diretamente na lesão tecidual a fim de sustentar a liberação à longo prazo, o que reduziria a toxicidade e os efeitos colaterais causados pela liberação maciça do medicamento de uso único (JANGDE; SINGH, 2016; THAPA MAGAR et al., 2022).

A fim de mensurar o teor e o percentual de encapsulação do princípio ativo na formulação, as membranas contendo hesperidina apresentaram teor de $183,55 \pm 0,34 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ e uma EE de 98%. O valor da EE próximo a 100% indica que praticamente toda hesperidina foi incorporada nos lipossomas/membranas, demonstrando que o método de obtenção das membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina é adequado e eficiente. Um estudo

realizado por Morsy e Nair (2018) realizou a incorporação da hesperidina em lipossomas com a finalidade de melhorar sua solubilidade e aumentar o seu potencial no tratamento de fibrose hepática em modelo animal. Nesse estudo a EE obtida foi de 74% (MORSY; NAIR, 2018). Esses achados corroboram com diversos estudos que analisaram a inclusão de substâncias hidrofóbicas em lipossomas e apresentaram excelentes desfechos em relação à eficiência de encapsulação, com uma porcentagem variando entre 70% e 100%. (BOZZUTO; MOLINARI, 2015; LEE; NA, 2020; PETTINATO et al., 2020; XU et al., 2018).

Após avaliarmos o teor e EE, foi realizado o teste de uniformidade para mensurar o conteúdo de hesperidina nas membranas COL/HESP. A uniformidade de conteúdo é um método utilizado para avaliar a distribuição do princípio ativo na formulação (DE O. PORFÍRIO et al., 2015). A principal finalidade da técnica é demonstrar que a substância em estudo foi difundida ao longo de toda a preparação, sem acúmulos em determinados pontos (CARVALHO et al., 2020). Nesse estudo, a hesperidina apresentou uma distribuição uniforme nas membranas COL/HESP, pois o teor das 24 frações analisadas por CLAE apresentaram pequenas variações. Esse achado corrobora com um estudo realizado por Nunes et al. (2016) que através do método CLAE foi possível comprovar a distribuição uniforme do ácido úsnico em uma formulação contendo gelatina e lipossomas (NUNES et al., 2016).

Após as análises de teor, EE e uniformidade de conteúdo, o colágeno e a hesperidina incorporada em lipossomas mostraram-se substâncias adequadas para a produção de membranas biodegradáveis, uma vez que, o colágeno é um biopolímero natural, biodegradável e com boa flexibilidade composicional e estrutural, sendo altamente biocompatível com a adição de agentes plastificantes e a fosfatidilcolina, fosfolípido utilizado para a produção dos lipossomas (PAIVA et al., 2022; WISE et al., 2016). Nesse estudo, as membranas COL/HESP apresentaram características macroscópicas homogêneas e deposição aparentemente uniforme do fármaco na formulação. Souza, Alves e Santana (2018) demonstraram que membranas de colágeno contendo lipossoma e ácido úsnico foram eficazes no processo de cicatrização de queimaduras evidenciando o efeito dessa formulação farmacêutica na modulação de alguns eventos biológicos, tais como: maior degradação de fibrina, aumento da vascularização e das taxas de epitelização observados nos pacientes tratados (SOUZA; ALVES; SANTANA, 2018).

Apresentando inúmeras vantagens como: simplicidade, reprodutibilidade, disponibilidade, baixo custo e praticidade em relação à técnica, materiais e manejo, o modelo excisional de cicatrização de feridas em roedores tem sido amplamente utilizado para estudar cada fase do processo de cicatrização (ALBUQUERQUE-JÚNIOR et al., 2009; ASSAR et al.,

2021; BARRETO et al., 2016; CHEN et al., 2015). Nesse modelo, os tecidos são coletados com facilidade para as análises histomorfométricas, imunológicas ou moleculares, além de permitir maior acessibilidade à ferida para administração de agentes tópicos a fim de elucidar os mecanismos de ação envolvidos na reparação tecidual (DOLIVO et al., 2023; FISCHER et al., 2023).

Primeiramente, avaliou-se a capacidade da hesperidina em acelerar o processo de contração da ferida cutânea. A contração é a redução de parte ou de toda a área da ferida aberta, ocorrendo de forma centrípeta, a partir das bordas da lesão, através da presença dos filamentos de actina oriundos dos miofibroblastos e pelo rearranjo das fibras de colágeno (CASADO-DIAZ et al., 2022; GRADA; MERVIS; FALANGA, 2018). Nesse estudo, as feridas excisionais foram realizadas na região dorso costal por ser considerada uma área com menor probabilidade de contaminação por fezes e saliva do animal. Além disso, essa região evita o autocanibalismo e a irritação por contato (GALIANO et al., 2004; KASHYAP et al., 1995).

De acordo com Khoo e Jansen (2016), a maneira mais precisa para avaliar a cicatrização de feridas é através do acompanhamento da redução percentual da área em um determinado período (KHOO; JANSEN, 2016). A taxa percentual de redução da área de uma ferida pode ser utilizada para distinguir entre uma ferida com potencial de cicatrização ou não e também como uma importante ferramenta para distinguir quais os tipos de tratamentos mais eficazes que estão sendo estudados (LEVINSON, 2013).

Ao avaliarmos a área de redução das lesões, no 3º dia pós-cirúrgico pôde-se observar que os animais do grupo COL/HESP apresentaram uma diminuição significativa na área residual da ferida quando comparado ao grupo SI. Este dado é relevante, pois sugere que o tratamento com hesperidina acelerou o processo de preenchimento da lesão com tecido de granulação favorecendo o aparecimento de miofibroblastos e consequentemente uma maior aproximação das bordas da ferida.

No 7º dia pós-cirúrgico, o tratamento com COL/HESP apresentou um aumento significativo na área de redução das feridas quando comparado ao grupo SI e COL. Esse resultado corrobora com um estudo realizado por Gupta et al. (2022) que demonstrou um efeito promissor da hesperidina na contração de feridas no 7º e 14º dia pós lesão em um modelo excisional de feridas cutâneas (GUPTA et al., 2022). Diante disso, podemos inferir que o grupo COL/HESP acelerou o processo de contração através dos efeitos anti-inflamatórios e cicatrizantes, da hesperidina, já descritos na literatura (GUAZELLI et al., 2021; LI et al., 2018).

Já no 14º e 21º dia pós-lesão, foi possível observar um equilíbrio nas taxas de área de redução das feridas entre os diferentes grupos, SI, COL e COL/HESP. Esses achados já eram esperados, pois nessa fase as feridas encontram-se no fim da fase proliferativa e início da fase de remodelação onde também se observam macroscopicamente a aproximação total das bordas da ferida, com consequente redução da área residual (GANESHKUMAR et al., 2012).

Nos primeiros dias após a lesão, a resposta inflamatória inicial que precede os fenômenos proliferativos da reparação cicatricial é caracterizada como aguda devido à migração em larga escala de células polimorfonucleares (FORTINGO et al., 2022). Considerando que a resposta inflamatória é um processo imunológico, indo muito além do combate aos patógenos, inflamações exacerbadas e não controladas levam a um aumento da intensidade e duração da resposta, originando dano tecidual (BONIAKOWSKI et al., 2017). Portanto, compreende-se que a inflamação é absolutamente necessária ao processo de reparo, embora, quando se manifeste em elevada intensidade ou se mantenha persistente ao longo do processo de reparação tecidual, este fenômeno seja o principal agente retardador da cicatrização (YU et al., 2022). Nesse estudo, vale ressaltar que durante todo período experimental não foi observado em nenhum dos grupos presença de edema, fístulas ou formação de abscesso, que representariam sinais indicativos de resposta imunoinflamatória exacerbada.

Com base na composição histológica das feridas, as fotomicrografias representativas de cada grupo, evidenciaram a composição celular e a reestruturação da pele lesionada. No 3º dia pós-lesão todos os grupos, SI, COL e COL/HESP, apresentaram uma atividade inflamatória aguda devido ao número acentuado de células polimorfonucleares. Esse achado já era esperado, visto que, entre o 3º e 4º dia pós-lesão há um recrutamento de mediadores inflamatórios com a finalidade de minimizar os efeitos de bactérias patogênicas ou do traumatismo, destruindo ou neutralizando os patógenos e limitando sua disseminação por todo o organismo (HASSANSHAHI et al., 2022).

No 7º dia pós-cirúrgico os grupos SI e COL apresentaram um infiltrado severo de células polimorfonucleares, como neutrófilos e macrófagos, enquanto que no grupo COL/HESP houve uma diminuição desse infiltrado mantendo-se moderado. Esses dados demonstram um avanço na reparação tecidual nos animais tratados com hesperidina, pois a diminuição de células inflamatórias no local da lesão permite um aumento da migração de queratinócitos e de células endoteliais para preencher o leito da ferida para formar tecido de granulação e epitélio. Essa hipótese é reforçada por vários estudos envolvendo a hesperidina em modelos experimentais de lesões cutâneas, no qual demonstraram que a mesma apresenta

propriedades essenciais para uma adequada cicatrização, como atividades anti-inflamatórias, antibacterianas e antialérgicas (GUAZELLI et al., 2021; HADDADI et al., 2018; LI et al., 2018).

Um estudo realizado por Bagher et al. (2020) comprovou que o tratamento com hesperidina foi capaz de atenuar significativamente a infiltração de neutrófilos e aumentar as taxas de contração da ferida em modelo de ferida excisional de espessura total (BAGHER et al., 2020). Portanto, nossos dados são consistentes com a ideia de que a redução do infiltrado neutrofílico no local da lesão e a diminuição significativa na área residual da ferida, no 7º dia pós-lesão, podem estar relacionados com a capacidade da hesperidina em aumentar a quimiotaxia das células inflamatórias para controlar a infecção, por meio da fagocitose, no local da lesão, que consequentemente contribui para o avanço do processo de cicatrização de feridas.

No grupo COL/HESP foi possível observar a presença abundante de tecido de granulação, além de uma vasta rede de capilares sanguíneos que pode contribuir no aporte de nutrientes e oxigênio para um adequado reparo tecidual do tecido em crescimento. Nesse mesmo grupo, o avanço da reparação tecidual e o índice de epitelização foram maiores quando comparado aos grupos SI e COL, sugerindo que a hesperidina apresenta capacidade de reparação do tecido epitelial através da migração de queratinócitos para o leito da ferida. Esse dado corrobora com um estudo realizado por Toledo et al. (2017) no qual demonstrou que pacientes portadores de úlcera venosa tratados com hesperidina apresentaram uma diminuição significativa na circunferência da lesão e aumento nas taxas de epitelização, achados que contribuem para o avanço e potencialização do processo de cicatrização de feridas (TOLEDO; SANTOS; SCHNAIDER, 2017).

Na análise histológica, ao 14º dia pós-cirúrgico, notou-se uma redução da intensidade inflamatória em todos os grupos, principalmente no grupo COL/HESP com predomínio de células mononucleares como os linfócitos. Quando comparado aos grupos SI e COL, o grupo tratado com hesperidina apresentou um processo de cicatrização mais evoluído devido à presença de fibroblastos ativos que sugerem um avanço da fase proliferativa para a fase de remodelação. Ademais, no grupo SI, foi possível observar a presença de neovascularização que pode estar relacionada com o prolongamento da fase proliferativa nesse grupo de animais que não receberam tratamento.

Por fim, no 21º dia pós – lesão, todos os grupos demonstraram uma reação inflamatória de leve a ausente. No entanto, particularmente nos animais do grupo COL/HESP foi possível observar a presença de anexos sugestivos da pele, como os folículos pilosos e

glândulas sebáceas, indicando um avanço da fase de remodelação quando comparado aos grupos SI e COL.

Nesse estudo, vale ressaltar que os achados macroscópicos e histológicos encontrados no 14º e 21º dia demonstram que do ponto de vista estatístico os eventos inflamatórios ocorreram seguindo o padrão fisiológico esperado, com diminuição acentuada do infiltrado inflamatório e fechamento total da lesão.

Durante o processo de epitelização, as ligações epiteliais estimuladas pela liberação de fatores de crescimento e pela migração dos queratinócitos da ferida são os principais responsáveis pelo aumento das mitoses e da hiperplasia epitelial (SORG et al., 2017). Portanto, uma falha na reepitelização da pele lesada pode ocasionar perda da função de barreira do órgão, desidratação ou até mesmo uma infecção (HASSANSHAHI et al., 2019). Assim, o rápido fechamento do local da ferida pela migração e proliferação de células epiteliais é fundamental para restaurar a função de barreira que é vital para a sobrevivência do organismo (HUANG et al., 2021).

Nesse estudo, ao longo do período experimental, todos os grupos apresentaram melhora na taxa de epitelização, embora no 3º e 7º dia esse resultado tenha sido significativo nos animais tratados com hesperidina. Esse achado corrobora com os resultados da área de redução das feridas, onde no 3º e 7º dia os animais do grupo COL/HESP apresentaram uma diminuição significativa nas áreas residuais da ferida. Uma pesquisa realizada por Yoon et al. (2022), demonstrou que a hesperidina acelerou eficientemente a migração de queratinócitos humanos e fibroblastos dérmicos em estudo *in vitro* como também em um modelo experimental de ferida aguda em camundongos (YOON et al., 2022). Portanto, diante dos nossos resultados de índice de epitelização, podemos inferir que o tratamento com COL/HESP permitiu uma acentuada migração de células epiteliais das bordas íntegras das feridas em direção ao centro da lesão garantindo um avanço no processo de reepitelização quando comparado aos demais grupos.

Já no 14º e 21º dia pós-lesão, as taxas do índice de epitelização se mantiveram estabilizadas entre os diferentes grupos. Esse achado corrobora com os resultados macroscópicos da área de redução das feridas, onde todos os animais, dos diferentes grupos estudados, apresentaram uma redução total na área residual das feridas.

Por fim, diante de todos os resultados apresentados e discutidos, o tratamento com COL/HESP se destacou como um biomaterial que pode ser utilizado como uma alternativa tecnológica através de coberturas na cicatrização de feridas por segunda intenção. Seu efeito cicatrizante somado às propriedades terapêuticas do colágeno, tornam essas membranas um

produto viável para o tratamento de lesões, entretanto, estudos posteriores ainda são necessários para assegurar a eficácia e segurança deste produto para tratamento de feridas em humanos.

CAPÍTULO VI

Conclusão e Perspectivas

6 CONCLUSÃO

Diante dos dados observados na nossa pesquisa acerca do efeito da membrana COL/HESP sobre a cicatrização de feridas cutâneas excisionais em roedores, pode-se concluir:

- É um produto obtido a partir de biomateriais e com base nanotecnológica promissora para o tratamento de feridas;
- A hesperidina foi incorporada de maneira efetiva nas membranas, com EE de 98%, confirmando que o método de obtenção das membranas é eficaz;
- As membranas COL/HESP mostraram uma distribuição uniforme da hesperidina, que foi comprovada pelo teste de uniformidade de conteúdo;
- Acelerou a redução da área residual das feridas no 3º e 7º dia pós-lesão;
- Atenuou o infiltrado inflamatório agudo no 3º e 7º dia pós-lesão;
- Contribuiu no avanço do processo inflamatório evidenciado pelo predomínio de células mononucleares, como os linfócitos, maturação do tecido de granulação, proliferação de fibroblastos e deposição de fibras colágenas já no 7º dia pós-excisão;
- Acelerou a epitelização das feridas em 3 e 7 dias;
- Promoveu de forma eficaz uma melhora da cicatrização de feridas cutâneas abertas em modelo animal.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, nossos resultados descritos no estudo pré-clínico para a hesperidina, como seu efeito anti-inflamatório e cicatrizante, mostraram que o tratamento com COL/HESP foi capaz de atenuar o processo inflamatório, no local da ferida, e acelerar a reepitelização das bordas para o centro da ferida, potencializando a reparação tecidual no modelo de lesão cutânea aberta em roedores. Esses achados sugerem a eficiência das COL/HESP como um produto inovador e com grande potencial para o tratamento de feridas, através do seu papel em acelerar eventos biológicos essenciais para um adequado reparo cicatricial.

Além disso, a nossa revisão sistemática foi capaz de identificar as propriedades dos flavonoides no processo de cicatrização de feridas. Foi possível perceber que essas moléculas atuaram em todas as fases da cicatrização de feridas e ativaram vias de sinalização intracelular essenciais para que ocorresse a cicatrização. Assim, sugerimos que os flavonoides são ferramentas úteis no desenvolvimento de terapias para tratar lesões cutâneas, e a nossa revisão forneceu uma base científica para futuras pesquisas básicas e translacionais.

8 PERSPECTIVAS

Outros estudos são necessários visando elucidar os mecanismos farmacológicos envolvidos nos efeitos da hesperidina. Diante disso as próximas etapas devem investigar a ação das COL/HESP na expressão das mieloperoxidases, atividade das ERK, p38 e MAPK e realizar a caracterização físico-química das membranas.

Ademais, avaliar o estresse oxidativo, a participação de miofibroblastos, atividade do NF- κ B, mediadores pró-inflamatórios (IL1- β , IL-6, TNF- α e COX-2), mediadores anti-inflamatórios (IL-10 e IL-4), atividade do VEGF, fibras de colágeno (coloração em picrossirius) envolvidas no reparo tecidual, como também realizar novos testes em animais de maior porte (suínos) para que seja possível translacionar esse estudo para a etapa clínica, seguindo todos os parâmetros descritos na RDC-17 de 24/02/00 e RDC-48 de 16/03/04 da ANVISA (Agência de Vigilância Sanitária).

REFERÊNCIAS

- ABBAS, M. et al. Wound healing potential of curcumin cross-linked chitosan/polyvinyl alcohol. **International journal of biological macromolecules**, v. 140, p. 871–876, 1 nov. 2019.
- ABDUL KHAYUM, K.; PRAVEENA, G.; ARATHI, K. N. Wound healing potential of a herbal gel prepared from leaf extract of holarrhena antidysenterica wall. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, n. 5, p. 294–298, 2016.
- ABDULAZIZ, A. A. et al. QUALITATIVE EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL, ANTIOXIDANT, AND MEDICINALLY IMPORTANT PHYTOCHEMICAL CONSTITUENTS OF THE ETHANOLIC EXTRACTS OF THE LEAVES OF GLIRICIDIA SEPIUM (JACQ.) WALP. **Pharmacophore**, v. 10, n. 4, p. 72–83, 2019.
- ABEROUMAND, A. Comparative study between different methods of collagen extraction from fish and its properties. **World Applied Sciences Journal**, v. 16, p. 316–319, 1 jan. 2012.
- ABINAYA M.; GAYATHRI M. Biodegradable collagen from Scomberomorus lineolatus skin for wound healing dressings and its application on antibiofilm properties. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 9, p. 15572–15584, 2019.
- ABOU NEEL, E. A. et al. Collagen--emerging collagen based therapies hit the patient. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 4, p. 429–456, abr. 2013.
- ADDIS R. et al. Fibroblast proliferation and migration in wound healing by phytochemicals: Evidence for a novel synergic outcome. **International Journal of Medical Sciences**, v. 17, n. 8, p. 1030–1042, 2020.
- ADDOTEY, J. N. et al. Isoflavonoids with inhibiting effects on human hyaluronidase-1 and norneolignan clitorienolactone B from Ononis spinosa L. root extract. **Fitoterapia**, v. 130, p. 169–174, out. 2018.
- ADELEKE, O. et al. Effect of aqueous extract from root and leaf of Sphenocentrum jollyanum pierre on wounds of diabetic rats: Influence on wound tissue cytokines, vascular endothelial growth factor and microbes. **Journal of ethnopharmacology**, v. 293, p. 115266, 15 jul. 2022.
- ADIB, Y.; BENSUSSAN, A.; MICHEL, L. Cutaneous Wound Healing: A Review about Innate Immune Response and Current Therapeutic Applications. **Mediators of Inflammation**, v. 2022, p. 5344085, 25 abr. 2022.
- AFKHAMIZADEH, M. et al. Topical propolis improves wound healing in patients with diabetic foot ulcer: a randomized controlled trial. **Natural product research**, v. 32, n. 17, p. 2096–2099, set. 2018.
- AGBAGWA, O. E.; EKEKE, C.; ISRAEL, P. C. Antibacterial Efficacy and Healing Potential of Honey from Different Zones in Nigeria on Diabetic-Induced Wound Infection in Wistar Rats. **International Journal of Microbiology**, v. 2022, 2022.

AGRA, I. K. R. et al. Evaluation of wound healing and antimicrobial properties of aqueous extract from *Bowdichia virgilioides* stem barks in mice. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 945–954, set. 2013.

AHMADIAN, R. et al. Medicinal Plants as Efficacious Agents for Diabetic Foot Ulcers: A Systematic Review of Clinical Studies. **Wounds**, v. 33, n. 8, p. 207–218, 2021.

AHMED, O. M. et al. Quercetin and low level laser therapy promote wound healing process in diabetic rats via structural reorganization and modulatory effects on inflammation and oxidative stress. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 101, p. 58–73, maio 2018.

AJMAL, G. et al. Ciprofloxacin HCl and quercetin functionalized electrospun nanofiber membrane: fabrication and its evaluation in full thickness wound healing. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 47, n. 1, p. 228–240, dez. 2019.

AKIYAMA, S. et al. Dietary Hesperidin Exerts Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects in Streptozotocin-Induced Marginal Type 1 Diabetic Rats. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 46, n. 1, p. 87–92, jan. 2010.

ALAM, M. R. et al. Sources, extractions and applications of bio-maker collagen—A review. **Biomedical Engineering Advances**, v. 4, p. 100064, 1 dez. 2022.

ALBAHRI, G. et al. The Therapeutic Wound Healing Bioactivities of Various Medicinal Plants. **Life**, v. 13, n. 2, 2023.

ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C. DE et al. Effect of Bovine Type-I Collagen-Based Films Containing Red Propolis on Dermal Wound Healing in Rodent Model. **International Journal of Morphology**, v. 27, n. 4, dez. 2009.

AL-DABBAGH B. et al. Antioxidant and anticancer activities of *Trigonella foenum-graecum*, *Cassia acutifolia* and *Rhazya stricta*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, 2018.

ALEXANDRU, V. et al. Studies on the antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Romanian medicinal plants used for wound healing. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 12, n. 6, p. 3467–3472, dez. 2007.

ALI, M. et al. An in vivo study of hypericum perforatum in a niosomal topical drug delivery system. **Drug Delivery**, v. 25, n. 1, p. 417–425, 2018.

ALIASL, J. et al. Effect of *Arnebia euchroma* ointment on post-laser wound healing in rats. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy: Official Publication of the European Society for Laser Dermatology**, v. 17, n. 1, p. 41–45, fev. 2015.

ALIZADEH, S. et al. Copper nanoparticles promote rapid wound healing in acute full thickness defect via acceleration of skin cell migration, proliferation, and neovascularization. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 517, n. 4, p. 684–690, 1 out. 2019.

ALLAW, M. et al. Oleuropein multicompartiment nanovesicles enriched with collagen as a natural strategy for the treatment of skin wounds connected with oxidative stress. **Nanomedicine (London, England)**, v. 16, n. 26, p. 2363–2376, nov. 2021.

ALMEIDA, J. S. et al. Hydrogels containing rutin intended for cutaneous administration: Efficacy in wound healing in rats. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 38, n. 7, p. 792–799, 2012.

AL-ROUJAYEE, A. S. Naringenin improves the healing process of thermally-induced skin damage in rats. **The Journal of international medical research**, v. 45, n. 2, p. 570–582, abr. 2017.

ALVARENGA, C. F. DE et al. USO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA O TRATAMENTO DO DIABETES MELLITUS NO VALE DO PARAÍBA-SP. **Revista Ciência e Saúde On-line**, v. 2, n. 2, 4 set. 2017.

ALVEN, S.; ADERIBIGBE, B. A. Chitosan and Cellulose-Based Hydrogels for Wound Management. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 24, p. E9656, 18 dez. 2020.

AMAYA, R. Safety and efficacy of active *Leptospermum* honey in neonatal and paediatric wound debridement. **Journal of Wound Care**, v. 24, n. 3, p. 95; 97–103, mar. 2015.

AMINZADEH, M. A. et al. Role of impaired Nrf2 activation in the pathogenesis of oxidative stress and inflammation in chronic tubulo-interstitial nephropathy. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 28, n. 8, p. 2038–2045, ago. 2013.

AN, Y. et al. Autophagy promotes MSC-mediated vascularization in cutaneous wound healing via regulation of VEGF secretion. **Cell Death & Disease**, v. 9, n. 2, p. 58, 19 2018.

ANANDAKUMAR P. et al. Effect of capsaicin on glucose metabolism studied in experimental lung carcinogenesis. **Natural Product Research**, v. 23, n. 8, p. 763–774, 2009.

ANITHA, S. et al. Extraction, isolation and wound healing activity of flavonoid from *Coscinium Fenestratum*. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 2, n. 3, p. 1090–1095, 2011.

ANOWER, A. K. M. M. et al. The role of classical and alternative macrophages in the immunopathogenesis of herpes simplex virus-induced inflammation in a mouse model. **Journal of Dermatological Science**, v. 73, n. 3, p. 198–208, mar. 2014.

ANTUNES, M. S. et al. Protective effect of hesperidin in a model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine in aged mice. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 30, n. 11–12, p. 1415–1422, 2014.

ARAÚJO-FILHO, H. G. et al. Phytochemical screening and analgesic profile of the lyophilized aqueous extract obtained from *Chrysobalanus icaco* leaves in experimental protocols. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 12, p. 3055–3062, dez. 2016.

ARKHIPOV, S. A. et al. In vitro study of phenotypical characteristics of BCG granuloma macrophages over the course of granuloma development. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 155, n. 5, p. 655–658, set. 2013.

AROUI, S. et al. Naringin suppresses cell metastasis and the expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) via the inhibition of ERK-P38-JNK signaling pathway in human glioblastoma. **Chemico-Biological Interactions**, v. 244, p. 195–203, 2016.

ARWERT, E. N.; HOSTE, E.; WATT, F. M. Epithelial stem cells, wound healing and cancer. **Nature Reviews. Cancer**, v. 12, n. 3, p. 170–180, 24 fev. 2012.

ASFOUR, M. H. et al. Chitosan based Pickering emulsion as a promising approach for topical application of rutin in a solubilized form intended for wound healing: In vitro and in vivo study. **International journal of pharmaceutics**, v. 534, n. 1–2, p. 325–338, 20 dez. 2017.

ASHCROFT, G. S.; ROBERTS, A. B. Loss of Smad3 modulates wound healing. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 11, n. 1–2, p. 125–131, jun. 2000.

ASONG, J. A. et al. Antimicrobial Activity, Antioxidant Potential, Cytotoxicity and Phytochemical Profiling of Four Plants Locally Used against Skin Diseases. **Plants**, v. 8, n. 9, 15 set. 2019.

ASSAR, D. H. et al. Wound healing potential of licorice extract in rat model: Antioxidants, histopathological, immunohistochemical and gene expression evidences. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 143, p. 112151, 1 nov. 2021.

AUF DEM KELLER, U. et al. Reactive Oxygen Species and Their Detoxification in Healing Skin Wounds. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 11, n. 1, p. 106–111, 1 set. 2006.

AYAZ, M. et al. Neuroprotective and Anti-Aging Potentials of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 9, p. 168, 30 maio 2017.

AYCAN, D. et al. Conductive polymeric film loaded with ibuprofen as a wound dressing material. **European Polymer Journal**, v. 121, p. 109308, 1 dez. 2019.

BAGHER, Z. et al. Wound healing with alginate/chitosan hydrogel containing hesperidin in rat model. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, p. 101379, fev. 2020.

BAHRAMI, A. et al. Modulation of regulatory T cells by natural products in cancer. **Cancer Letters**, v. 459, p. 72–85, 2019.

BAKER, E. A.; LEAPER, D. J. Profiles of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in intraperitoneal drainage fluid: relationship to wound healing. **Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 11, n. 4, p. 268–274, ago. 2003.

BANERJEE, N.; MUKHOPADHYAY, S. Oxidative damage markers and inflammatory cytokines are altered in patients suffering with post-chikungunya persisting polyarthralgia. **Free radical research**, v. 52, n. 8, p. 887–895, ago. 2018.

BAO, P. et al. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. **The Journal of surgical research**, v. 153, n. 2, p. 347–358, 15 maio 2009.

BARBOSA, F. DA S.; OLIVEIRA, J. C. DE; TESSER, C. D. Evidências sobre tratamentos clínicos conservadores para doença hemorroidária. **Rev. bras. med. fam. comunidade**, p. 149–158, 2014.

BARONI, A. et al. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. **Clinics in Dermatology**, v. 30, n. 3, p. 257–262, 2012.

BARRETO, R. S. et al. Improvement of wound tissue repair by chitosan films containing (-)-borneol, a bicyclic monoterpene alcohol, in rats: Improvement of wound tissue repair by chitosan films containing (-)-borneol. **International Wound Journal**, v. 13, n. 5, p. 799–808, out. 2016.

BARRETO, R. S. S. et al. Evaluation of wound healing activity of atranorin, a lichen secondary metabolite, on rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 310–319, mar. 2013a.

BARRETO, R. S. S. et al. Evaluation of wound healing activity of atranorin, a lichen secondary metabolite, on rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, n. 2, p. 310–319, abr. 2013b.

BARRETO, R. S. S. et al. A Systematic Review of the Wound-Healing Effects of Monoterpenes and Iridoid Derivatives. **Molecules**, v. 19, n. 1, p. 846–862, 13 jan. 2014.

BARRIENTOS, S. et al. Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 16, n. 5, p. 585–601, out. 2008.

BASSINO, E.; GASPARRI, F.; MUNARON, L. Natural dietary antioxidants containing flavonoids modulate keratinocytes physiology: In vitro tri-culture models. **Journal of ethnopharmacology**, v. 238, p. 111844, 28 jun. 2019.

BAYDA, S. et al. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 1, p. 112, 27 dez. 2019.

BEITZ, J. M. Pharmacologic Impact (aka “Breaking Bad”) of Medications on Wound Healing and Wound Development: A Literature-based Overview. **Ostomy/Wound Management**, v. 63, n. 3, p. 18–35, mar. 2017.

BELAL, A. et al. Calendula officinalis Phytochemicals for the Treatment of Wounds Through Matrix Metalloproteinases-8 and 9 (MMP-8 and MMP-9): In Silico Approach. **NATURAL PRODUCT COMMUNICATIONS**, v. 17, n. 5, maio 2022.

BEN DJEMAA, F. G. et al. Antioxidant and wound healing activity of Lavandula aspic L. ointment. **Journal of Tissue Viability**, v. 25, n. 4, p. 193–200, 1 nov. 2016.

BERGMEIER, V. et al. Identification of a myofibroblast-specific expression signature in skin wounds. **Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology**, v. 65, p. 59–74, 2018.

BERRY-KILGOUR, C.; CABRAL, J.; WISE, L. Advancements in the Delivery of Growth Factors and Cytokines for the Treatment of Cutaneous Wound Indications. **Advances in Wound Care**, v. 10, n. 11, p. 596–622, 1 nov. 2021.

BEZERRA, G. C. et al. Artigo Original 3 - Avaliação do risco para desenvolver pé diabético na atenção básica. **Estima – Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, v. 13, n. 3, 2015.

BHARDWAJ, N.; CHOUHAN, D.; MANDAL, B. B. Tissue Engineered Skin and Wound Healing: Current Strategies and Future Directions. **Current Pharmaceutical Design**, v. 23, n. 24, p. 3455–3482, 2017.

BIGONIYA P. et al. Anti-anemic potential estimation on mice and characterization of flavonoids using high performance thin layer chromatography in *Wrightia tinctoria* bark fraction. **Journal of Natural Pharmaceuticals**, v. 4, n. 1, p. 47–56, 2013.

BILGEN, F. et al. The effect of oxidative stress and Raftlin levels on wound healing. **International Wound Journal**, v. 16, n. 5, p. 1178–1184, out. 2019.

BLANCO-FERNANDEZ, B. et al. Nanotechnology Approaches in Chronic Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 10, n. 5, p. 234–256, maio 2021.

BLANPAIN, C.; FUCHS, E. Stem cell plasticity. Plasticity of epithelial stem cells in tissue regeneration. **Science (New York, N.Y.)**, v. 344, n. 6189, p. 1242281, 13 jun. 2014.

BOAFO, G. F. et al. The Role of Cryoprotective Agents in Liposome Stabilization and Preservation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 20, p. 12487, 18 out. 2022.

BOATENG, J.; CATANZANO, O. Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing A Review. **JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES**, v. 104, n. 11, p. 3653–3680, nov. 2015.

BOERMAN, O. et al. Gene expression changes in therapeutic ultrasound-treated venous leg ulcers. **Frontiers in Medicine**, v. 10, p. 1144182, 2023.

BOLLAG, W. B. et al. Dioleoylphosphatidylglycerol Accelerates Corneal Epithelial Wound Healing. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 61, n. 3, p. 29, 18 mar. 2020.

BONIAKOWSKI, A. E. et al. Macrophage-Mediated Inflammation in Normal and Diabetic Wound Healing. **Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 199, n. 1, p. 17–24, 1 jul. 2017.

BOZZUTO, G.; MOLINARI, A. Liposomes as nanomedical devices. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 975–999, 2015.

BRANCATO, S. K.; ALBINA, J. E. Wound macrophages as key regulators of repair: origin, phenotype, and function. **The American Journal of Pathology**, v. 178, n. 1, p. 19–25, jan. 2011.

BRASIL (ED.). **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. 1a. ed ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica, 2006.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, nov. 1998.

BROUGHTON, G.; JANIS, J. E.; ATTINGER, C. E. Wound healing: an overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. 7 Suppl, p. 1e-S-32e-S, jun. 2006.

CALEY, M. P.; MARTINS, V. L. C.; O'TOOLE, E. A. Metalloproteinases and Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 4, p. 225–234, 1 abr. 2015.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, p. e20190105, 3 jun. 2019.

CARNEIRO, J.; JUNQUEIRA, L. C. U. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. v. 1

CARVALHO, F. O. et al. Effects of the solid lipid nanoparticle of carvacrol on rodents with lung injury from smoke inhalation. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 393, n. 3, p. 445–455, 1 mar. 2020.

CASADO-DIAZ, A. et al. Evaluation of Antioxidant and Wound-Healing Properties of EHO-85, a Novel Multifunctional Amorphous Hydrogel Containing Olea europaea Leaf Extract. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 2, p. 349, 1 fev. 2022.

CASSIDY, A.; MINIHANE, A.-M. The role of metabolism (and the microbiome) in defining the clinical efficacy of dietary flavonoids1. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 105, n. 1, p. 10–22, jan. 2017.

CASTANGIA, I. et al. Fabrication of quercetin and curcumin bionanovesicles for the prevention and rapid regeneration of full-thickness skin defects on mice. **Acta biomaterialia**, v. 10, n. 3, p. 1292–1300, mar. 2014.

ÇETIN, A.; ÇİFTÇİ, O.; OTLU, A. Protective effect of hesperidin on oxidative and histological liver damage following carbon tetrachloride administration in Wistar rats. **Archives of Medical Science : AMS**, v. 12, n. 3, p. 486–493, 1 jun. 2016.

CHANG H.-L. et al. Naringenin inhibits migration of lung cancer cells via the inhibition of matrix metalloproteinases-2 and-9. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 13, n. 2, p. 739–744, 2017.

CHATTOPADHYAY, S.; RAINES, R. T. Collagen-Based Biomaterials for Wound Healing. **Biopolymers**, v. 101, n. 8, p. 821–833, ago. 2014.

CHAZAUD, B. Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! **Trends in Immunology**, v. 41, n. 6, p. 481–492, jun. 2020.

CHEN, B.-H.; STEPHEN INBARAJ, B. Nanoemulsion and Nanoliposome Based Strategies for Improving Anthocyanin Stability and Bioavailability. **Nutrients**, v. 11, n. 5, 10 maio 2019.

CHEN, D. et al. Structure-proteasome-inhibitory activity relationships of dietary flavonoids in human cancer cells. **Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library**, v. 12, p. 1935–1945, 1 jan. 2007.

CHEN, L. et al. The murine excisional wound model: Contraction revisited. **Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 23, n. 6, p. 874–877, 2015.

CHEN, R.-F. et al. Modulation of vascular endothelial growth factor and mitogen-activated protein kinase-related pathway involved in extracorporeal shockwave therapy accelerate diabetic wound healing. **Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 27, n. 1, p. 69–79, 2019.

CHEN, X.-M. et al. Effect of FPZ, a total flavonoids ointment topical application from *Pouzolzia zeylanica* var. *microphylla*, on mice skin infections. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 28, n. 6, p. 732–737, 2018.

CHEN, Z. et al. Metabolism of flavonoids in human: a comprehensive review. **Current Drug Metabolism**, v. 15, n. 1, p. 48–61, jan. 2014.

CHENG, M. et al. An Ointment Consisting of the Phage Lysin LysGH15 and Apigenin for Decolonization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Skin Wounds. **Viruses**, v. 10, n. 5, 6 maio 2018.

CHO H.-D. et al. *Kochia scoparia* seed extract suppresses VEGF-induced angiogenesis via modulating VEGF receptor 2 and PI3K/AKT/mTOR pathways. **Pharmaceutical Biology**, v. 57, n. 1, p. 684–693, 2019.

CHOUDHARY A. et al. Quercetin loaded chitosan tripolyphosphate nanoparticles accelerated cutaneous wound healing in Wistar rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 880, n. (Choudhary A.; Kant V., drvinaykantluvas@gmail.com) Department of Veterinary Pharmacology&Toxicology, Lala Lajpat Rai University of Veterinary and Animal Sciences, Hisar, Haryana, India, 2020.

CHUNG, S. S.; VADGAMA, J. V. Curcumin and epigallocatechin gallate inhibit the cancer stem cell phenotype via down-regulation of STAT3-NFκB signaling. **Anticancer research**, v. 35, n. 1, p. 39–46, jan. 2015.

COGER, V. et al. Tissue Concentrations of Zinc, Iron, Copper, and Magnesium During the Phases of Full Thickness Wound Healing in a Rodent Model. **Biological Trace Element Research**, v. 191, n. 1, p. 167–176, 2019.

CORDEIRO, C. H. G.; CHUNG, M. C.; SACRAMENTO, L. V. S. DO. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 272–278, set. 2005.

COSTA, L. C. et al. Glutamine-Loaded Liposomes: Preliminary Investigation, Characterization, and Evaluation of Neutrophil Viability. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, n. 2, p. 446–453, 31 jul. 2015.

COSTA, R. et al. Xanthohumol Modulates Inflammation, Oxidative Stress, and Angiogenesis in Type 1 Diabetic Rat Skin Wound Healing. **JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS**, v. 76, n. 11, p. 2047–2053, nov. 2013.

COUTURAUD, V. Biophysical Characteristics of the Skin in Relation to Race, Sex, Age and Site. Em: **Handbook of Cosmetic Science and Technology, Third Edition**. [s.l: s.n.]. p. 5–24.

DA SILVA, L. M. et al. Hesperidin, a citrus flavanone glycoside, accelerates the gastric healing process of acetic acid-induced ulcer in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 308, p. 45–50, 2019.

DĄBROWSKA, A. K. et al. Materials used to simulate physical properties of human skin. **Skin research and technology: official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI)**, v. 22, n. 1, p. 3–14, fev. 2016.

DANTAS-MEDEIROS, R. et al. Uso seguro e racional de produtos naturais e fitoterápicos: : a utilização das redes sociais digitais para interação entre profissionais da área da saúde e a sociedade. **Revista Extensão & Sociedade**, v. 11, n. 2, 17 dez. 2020.

DE ALENCAR FONSECA SANTOS, J. et al. Effects of Low-Power Light Therapy on the Tissue Repair Process of Chronic Wounds in Diabetic Feet. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 36, n. 6, p. 298–304, jun. 2018.

DE ALMEIDA, E. B. et al. The incorporation of Brazilian propolis into collagen-based dressing films improves dermal burn healing. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, n. 2, p. 419–425, 20 maio 2013.

DE O. PORFÍRIO, L. et al. Compatibility study of hydroxypropylmethylcellulose films containing zidovudine and lamivudine using thermal analysis and infrared spectroscopy. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 120, n. 1, p. 817–828, 1 abr. 2015.

DEMIDOVA-RICE, T. N.; HAMBLIN, M. R.; HERMAN, I. M. Acute and Impaired Wound Healing: Pathophysiology and Current Methods for Drug Delivery, Part 1: Normal and Chronic Wounds: Biology, Causes, and Approaches to Care. **Advances in skin & wound care**, v. 25, n. 7, p. 304–314, jul. 2012.

DEVERAJ, C. **Efficacy Of Growth Factor Supplemented Fish (Catla Catla) Collagen For Augmenting Wound Healing In Cattle**. [s.l.] Tamil Nadu Veterinary and Animal Sciences University., 2014.

DHIVYA, S.; PADMA, V. V.; SANTHINI, E. Wound dressings – a review. **BioMedicine**, v. 5, n. 4, 28 nov. 2015.

DI CARLO, G. et al. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p. 337–353, 1999.

DÍAZ-GARCÍA, D. et al. A Beginner's Introduction to Skin Stem Cells and Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 20, p. 11030, 13 out. 2021.

DIMMELER, S. et al. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. **Nature**, v. 399, n. 6736, p. 601–605, 10 jun. 1999.

DING, Y. et al. An efficient PEGylated liposomal nanocarrier containing cell-penetrating peptide and pH-sensitive hydrazone bond for enhancing tumor-targeted drug delivery. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 6199–6214, 2015.

DINIZ, L. R. L. et al. Centella asiatica and Its Metabolite Asiatic Acid: Wound Healing Effects and Therapeutic Potential. **Metabolites**, v. 13, n. 2, p. 276, 14 fev. 2023.

DIPIETRO, L. A. Angiogenesis and scar formation in healing wounds. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 25, n. 1, p. 87–91, jan. 2013.

DOLIVO, D. et al. Amnion membranes support wound granulation in a delayed murine excisional wound model. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, v. 50, n. 3, p. 238–246, mar. 2023.

DUNNILL, C. et al. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. **International Wound Journal**, v. 14, n. 1, p. 89–96, fev. 2017.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, out. 2016.

ELANGWE, C. N. et al. A Review on Chitosan and Cellulose Hydrogels for Wound Dressings. **Polymers**, v. 14, n. 23, p. 5163, 27 nov. 2022.

ELSANA, H. et al. Evaluation of novel cationic gene based liposomes with cyclodextrin prepared by thin film hydration and microfluidic systems. **Scientific Reports**, v. 9, 22 out. 2019.

EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 514–525, mar. 2007.

EMING, S. A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC, M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. **Science Translational Medicine**, v. 6, n. 265, p. 265sr6, 3 dez. 2014.

ENOCH, S.; GREY, J. E.; HARDING, K. G. Non-surgical and drug treatments. **BMJ : British Medical Journal**, v. 332, n. 7546, p. 900–903, 15 abr. 2006.

EO, H.; LEE, H.-J.; LIM, Y. Ameliorative effect of dietary genistein on diabetes induced hyper-inflammation and oxidative stress during early stage of wound healing in alloxan induced diabetic mice. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 478, n. 3, p. 1021–1027, 23 set. 2016.

ESCOBAR, S. J. D. M. et al. Anti-proliferative and cytotoxic activities of the flavonoid isoliquiritigenin in the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. **Chemico-Biological Interactions**, v. 299, p. 77–87, 2019.

FANG, C.-L. et al. Liposome-Encapsulated Baicalein Suppressed Lipogenesis and Extracellular Matrix Formation in Hs68 Human Dermal Fibroblasts. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 155, 6 mar. 2018.

FARJADIAN, F. et al. Nanopharmaceuticals and nanomedicines currently on the market: challenges and opportunities. **Nanomedicine (London, England)**, v. 14, n. 1, p. 93–126, jan. 2019.

FEITOSA, M. H. A. et al. Inserção do Conteúdo Fitoterapia em Cursos da Área de Saúde. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 40, p. 197–203, jun. 2016.

FENG, Y. et al. Potential roles of suppressor of cytokine signaling in wound healing. **Regenerative Medicine**, v. 11, n. 2, p. 193–209, mar. 2016.

FISCHER, K. S. et al. Protocol for the Splinted, Human-like Excisional Wound Model in Mice. **Bio-protocol**, v. 13, n. 3, p. e4606, 5 fev. 2023.

FORTINGO, N. et al. Innate Immune System Activation, Inflammation and Corneal Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 23, p. 14933, 29 nov. 2022.

FRANK, L. A. et al. Improving drug biological effects by encapsulation into polymeric nanocapsules. **Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology**, v. 7, n. 5, p. 623–639, out. 2015.

FRANZ, S. et al. Overexpression of S100A9 in obesity impairs macrophage differentiation via TLR4-NFkB-signaling worsening inflammation and wound healing. **Theranostics**, v. 12, n. 4, p. 1659–1682, 16 jan. 2022.

FRYKBERG, R. G.; BANKS, J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 9, p. 560–582, 17 jul. 2015.

FU, J. et al. Quercetin Promotes Diabetic Wound Healing via Switching Macrophages From M1 to M2 Polarization. **Journal of Surgical Research**, v. 246, p. 213–223, 1 fev. 2020.

FUJITA, K. et al. Cinnamtannin B-1 Promotes Migration of Mesenchymal Stem Cells and Accelerates Wound Healing in Mice. **PloS one**, v. 10, n. 12, p. e0144166, 2015.

GAJBHIYE, S.; WAIRKAR, S. Collagen fabricated delivery systems for wound healing: A new roadmap. **Biomaterials Advances**, v. 142, p. 213152, nov. 2022.

GALIANO, R. D. et al. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. **Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 12, n. 4, p. 485–492, 2004.

GALVÃO, N. S. **Prevalência de feridas agudas e crônicas e fatores associados em pacientes de hospitais públicos em Manaus-AM**. Doutorado em Enfermagem na Saúde do Adulto—São Paulo: Universidade de São Paulo, 31 maio 2017.

GAMBLE, C. et al. Inhibitory kappa B kinases as targets for pharmacological regulation. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 4, p. 802–819, fev. 2012.

GANESH, G. V.; RAMKUMAR, K. M. Macrophage mediation in normal and diabetic wound healing responses. **Inflammation Research**, v. 69, n. 4, p. 347–363, abr. 2020.

GANESHKUMAR, M. et al. Topical application of *Acalypha indica* accelerates rat cutaneous wound healing by up-regulating the expression of Type I and III collagen. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, n. 1, p. 14–22, 26 jun. 2012.

GARDIKIOTIS, I. et al. Borrowing the Features of Biopolymers for Emerging Wound Healing Dressings: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 15, p. 8778, 7 ago. 2022.

GARTNER, L. P. **Tratado de Histologia Em Cores**. [s.l.] Elsevier Brasil, 2007.

GE, B. et al. Comprehensive Assessment of Nile Tilapia Skin (*Oreochromis niloticus*) Collagen Hydrogels for Wound Dressings. **Marine Drugs**, v. 18, n. 4, p. 178, 25 mar. 2020.

GE, L. et al. Fabrication of Antibacterial Collagen-Based Composite Wound Dressing. **ACS sustainable chemistry & engineering**, 2018.

GHARIB, R. et al. Drug-in-cyclodextrin-in-liposomes as a carrier system for volatile essential oil components: Application to anethole. **Food Chemistry**, v. 218, p. 365–371, 1 mar. 2017.

GHEYBI, F. et al. pH-Sensitive PEGylated Liposomal Silybin: Synthesis, In Vitro and In Vivo Anti-Tumor Evaluation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 110, n. 12, p. 3919–3928, dez. 2021.

GHICA, M. V. et al. Development, Optimization and In Vitro/In Vivo Characterization of Collagen-Dextran Spongiuous Wound Dressings Loaded with Flufenamic Acid. **Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry**, v. 22, n. 9, p. 1552, 15 set. 2017.

GIRIJA, A. R.; BALASUBRAMANIAN, S.; COWIN, A. J. Nanomaterials-based Drug Delivery Approaches for Wound Healing. **Current Pharmaceutical Design**, v. 28, n. 9, p. 711–726, 2022.

GOMATHI, K. et al. Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat. **Biomaterials**, v. 24, n. 16, p. 2767–2772, jul. 2003.

GOPALAKRISHNAN, A. et al. Quercetin accelerated cutaneous wound healing in rats by increasing levels of VEGF and TGF-beta 1. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 54, n. 3, p. 187–195, mar. 2016.

GOUMA F. et al. Healing effects of quercetin on full thickness epidermal thermal injury in Wistar rats. **International Journal of Phytomedicine**, v. 8, n. 2, p. 277–281, 2016.

GRADA, A.; MERVIS, J.; FALANGA, V. Research Techniques Made Simple: Animal Models of Wound Healing. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 138, n. 10, p. 2095–2105.e1, 1 out. 2018.

GRANDI, V. et al. Cellular Mechanisms in Acute and Chronic Wounds after PDT Therapy: An Update. **Biomedicines**, v. 10, n. 7, p. 1624, 7 jul. 2022.

GROEBER, F. et al. Skin tissue engineering — In vivo and in vitro applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, n. 4–5, p. 352–366, abr. 2011.

GUAZELLI, C. F. S. et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of hesperidin methyl chalcone in experimental ulcerative colitis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 333, p. 109315, 5 jan. 2021.

GUPTA, I.; ROY, A. Economic Studies on Non-Communicable Diseases and Injuries in India: A Systematic Review. **Applied Health Economics and Health Policy**, v. 16, n. 3, p. 303–315, jun. 2018.

GUPTA, P. et al. Amelioration of Full-Thickness Wound Using Hesperidin Loaded Dendrimer-Based Hydrogel Bandages. **Biosensors**, v. 12, n. 7, p. 462, 27 jun. 2022.

GUSHIKEN, L. F. S. et al. Skin wound healing potential and mechanisms of the hydroalcoholic extract of leaves and oleoresin of *Copaifera langsdorffii* Desf. Kuntze in rats. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.

HADDADI, G. et al. Evaluation of the effect of hesperidin on vascular endothelial growth factor gene expression in rat skin animal models following cobalt-60 gamma irradiation. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 14, n. Suppl 5, p. S1098, dez. 2018.

HAJIALYANI, M. et al. Hesperidin as a Neuroprotective Agent: A Review of Animal and Clinical Evidence. **Molecules**, v. 24, n. 3, p. 648, 12 fev. 2019.

HAN, G. et al. Nitric oxide-releasing nanoparticles accelerate wound healing by promoting fibroblast migration and collagen deposition. **The American Journal of Pathology**, v. 180, n. 4, p. 1465–1473, abr. 2012.

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. **Advances in Therapy**, v. 34, n. 3, p. 599–610, 2017.

HASSANSHAHI, A. et al. Adipose-derived stem cells for wound healing. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 6, p. 7903–7914, jun. 2019.

HASSANSHAHI, A. et al. Macrophage-Mediated Inflammation in Skin Wound Healing. **Cells**, v. 11, n. 19, p. 2953, 21 set. 2022.

HAYCOCKS, S.; CHADWICK, P.; CUTTING, K. F. Collagen matrix wound dressings and the treatment of DFUs. **Journal of Wound Care**, v. 22, n. 7, p. 369–375, jul. 2013.

HEYER, K. et al. Epidemiology of chronic wounds in Germany: Analysis of statutory health insurance data. **Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 24, n. 2, p. 434–442, 2016.

HOMAEIGO HAR, S.; BOCCACCINI, A. R. Antibacterial biohybrid nanofibers for wound dressings. **Acta Biomaterialia**, v. 107, p. 25–49, 15 abr. 2020.

HONNEGOWDA, T. M. et al. Role of angiogenesis and angiogenic factors in acute and chronic wound healing. **Plastic and Aesthetic Research**, v. 2, p. 243–249, 15 set. 2015.

HOOIJMANS, C. R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Medical Research Methodology**, v. 14, p. 43, 26 mar. 2014.

HORNG, H.-C. et al. Estrogen Effects on Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 11, p. 2325, 3 nov. 2017.

HOSSEINI, M.; SHAFIEE, A. Engineering Bioactive Scaffolds for Skin Regeneration. **Small (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)**, v. 17, n. 41, p. e2101384, out. 2021.

HOWE, L. M. Current concepts in negative pressure wound therapy. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 45, n. 3, p. 565–584, maio 2015.

HUANG, S. et al. Lgr6 marks epidermal stem cells with a nerve-dependent role in wound re-epithelialization. **Cell Stem Cell**, v. 28, n. 9, p. 1582–1596.e6, 2 set. 2021.

HUANG Y.-W. et al. Wound healing can be improved by (2)-epigallocatechin gallate through targeting Notch in streptozotocin-induced diabetic mice. **FASEB Journal**, v. 33, n. 1, p. 953–964, 2019.

IACOB, A.-T. et al. An Overview of Biopolymeric Electrospun Nanofibers Based on Polysaccharides for Wound Healing Management. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 10, p. 983, 17 out. 2020.

INDRANI, D.; LUKITOWATI, F.; YULIZAR, Y. Preparation of Chitosan/Collagen Blend Membranes for Wound Dressing: A Study on FTIR Spectroscopy and Mechanical Properties. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 202, p. 012020, 1 maio 2017.

ISHISE, H. et al. Hypertrophic scar contracture is mediated by the TRPC3 mechanical force transducer via NFκB activation. **Scientific Reports**, v. 5, 25 jun. 2015.

ISNER, J. M. et al. Clinical evidence of angiogenesis after arterial gene transfer of phVEGF165 in patient with ischaemic limb. **Lancet (London, England)**, v. 348, n. 9024, p. 370–374, 10 ago. 1996.

JAISWAL M. et al. Bi-layer composite dressing of gelatin nanofibrous mat and poly vinyl alcohol hydrogel for drug delivery and wound healing application: In-vitro and in-vivo studies. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 9, n. 9, p. 1495–1508, 2013.

JANGDE, R.; SINGH, D. Preparation and optimization of quercetin-loaded liposomes for wound healing, using response surface methodology. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 44, n. 2, p. 635–641, 2016.

JÄRBRINK, K. et al. Prevalence and incidence of chronic wounds and related complications: a protocol for a systematic review. **Systematic Reviews**, v. 5, n. 1, 8 set. 2016.

JIA, Y. et al. The mechanism of skin lipids influencing skin status. **Journal of Dermatological Science**, v. 89, n. 2, p. 112–119, fev. 2018.

JIANG, Y. J. et al. Bioactive compound production by adventitious root culture of *Oplopanax elatus* in balloon-type airlift bioreactor systems and bioactivity property. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 123, n. 2, p. 413–425, nov. 2015.

JOHNSON, K. E.; WILGUS, T. A. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. **Advances in Wound Care**, v. 3, n. 10, p. 647–661, 1 out. 2014.

JUCÁ, M. M. et al. Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. **Natural Product Research**, v. 34, n. 5, p. 692–705, mar. 2020.

KAASI, A. et al. Regenerative collagen biomembrane: Interim results of a Phase I veterinary clinical trial for skin repair. **F1000Research**, v. 7, p. 729, 2018.

KAKADIYA, J.; MULANI, H.; SHAH, N. PROTECTIVE EFFECT OF HESPERIDIN ON CARDIOVASCULAR COMPLICATION IN EXPERIMENTALLY INDUCED MYOCARDIAL INFARCTION IN DIABETES IN RATS. **Journal of Basic and Clinical Pharmacy**, v. 1, n. 2, p. 85–91, mar. 2010.

KALLIS, P. J.; FRIEDMAN, A. J. Collagen Powder in Wound Healing. **Journal of drugs in dermatology: JDD**, v. 17, n. 4, p. 403–408, 1 abr. 2018.

KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. **Ageing Research Reviews**, v. 21, p. 16–29, maio 2015.

KANDHARE, A. D.; GHOSH, P.; BODHANKAR, S. L. Naringin, a flavanone glycoside, promotes angiogenesis and inhibits endothelial apoptosis through modulation of inflammatory and growth factor expression in diabetic foot ulcer in rats. **Chemico-biological interactions**, v. 219, p. 101–112, 5 ago. 2014.

KANDHARE, A. D.; MUKHERJEE, A.; BODHANKAR, S. L. Effect Of Hesperidin In Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis In Rats: Critical Role Of NRF-2, TNF-A, AND IL-1B. **Value in Health**, v. 20, n. 9, p. A887–A888, 1 out. 2017.

KANDHARE A.D. et al. Wound healing potential of naringin ointment formulation via regulating the expression of inflammatory, apoptotic and growth mediators in experimental rats. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 3, p. 419–432, 2016.

KANT V. et al. Dose regulated cutaneous wound healing potential of quercetin in male rats. **Wound Medicine**, v. 19, n. (Kant V., drvinaykant2001@yahoo.co.in; Nigam A.; Kumar V.) Department of Veterinary Pharmacology&Toxicology, Lala Lajpat Rai University of Veterinary&Animal Sciences (LUVAS), Hisar, Haryana, India, p. 82–87, 2017.

KAPADNIS P.D.; SHROTRIYA S.N. Electrospun silybin enriched scaffolds of polyethylene oxide as wound dressings: Enhanced wound closure, reepithelization in rat excisional wound model. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 53, n. 2, p. 301–309, 2019.

KAPOOR, M. et al. Effects of epicatechin gallate on wound healing and scar formation in a full thickness incisional wound healing model in rats. **The American journal of pathology**, v. 165, n. 1, p. 299–307, jul. 2004.

KAR, A. K. et al. Polymer-Assisted In Situ Synthesis of Silver Nanoparticles with Epigallocatechin Gallate (EGCG) Impregnated Wound Patch Potentiate Controlled Inflammatory Responses for Brisk Wound Healing. **International journal of nanomedicine**, v. 14, p. 9837–9854, 2019a.

KAR, A. K. et al. Polymer-Assisted In Situ Synthesis of Silver Nanoparticles with Epigallocatechin Gallate (EGCG) Impregnated Wound Patch Potentiate Controlled Inflammatory Responses for Brisk Wound Healing. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 9837–9854, 2019b.

KARRI, V. V. S. R. et al. Current and emerging therapies in the management of diabetic foot ulcers. **Current Medical Research and Opinion**, v. 32, n. 3, p. 519–542, 2016.

KASHYAP, A. et al. Effect of povidone iodine dermatologic ointment on wound healing. **The American Surgeon**, v. 61, n. 6, p. 486–491, jun. 1995.

KASUYA, A.; TOKURA, Y. Attempts to accelerate wound healing. **Journal of Dermatological Science**, v. 76, n. 3, p. 169–172, dez. 2014.

KAWAGUCHI, K. et al. A citrus flavonoid hesperidin suppresses infection-induced endotoxin shock in mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 5, p. 679–683, maio 2004.

KHOO, R.; JANSEN, S. The Evolving Field of Wound Measurement Techniques: A Literature Review. **Wounds: A Compendium of Clinical Research and Practice**, v. 28, n. 6, p. 175–181, jun. 2016.

KILIC, K. et al. The amendatory effect of hesperidin and thymol in allergic rhinitis: an ovalbumin-induced rat model. **European archives of oto-rhino-laryngology: official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery**, v. 276, n. 2, p. 407–415, fev. 2019.

KIM, D.-S.; LIM, S.-B. Extraction of flavanones from immature Citrus unshiu pomace: process optimization and antioxidant evaluation. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 19950, 17 nov. 2020.

KIM, H. et al. Enhanced wound healing by an epigallocatechin gallate-incorporated collagen sponge in diabetic mice. **Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society**, v. 16, n. 5, p. 714–720, out. 2008.

KIM, H. S. et al. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 146, p. 209–239, jun. 2019.

KIM, S. Y.; NAIR, M. G. Macrophages in wound healing: activation and plasticity. **Immunology and Cell Biology**, v. 97, n. 3, p. 258–267, mar. 2019.

KIM, W.-S. et al. Accelerated wound healing by S-methylmethionine sulfonium: evidence of dermal fibroblast activation via the ERK1/2 pathway. **Pharmacology**, v. 85, n. 2, p. 68–76, 2010.

KIYAMA, R. Estrogenic flavonoids and their molecular mechanisms of action. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 114, p. 109250, 1 abr. 2023.

KOGA, A. Y. et al. Evaluation of wound healing effect of alginate films containin g Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) gel. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 32, n. 9, p. 1212–1221, abr. 2018.

KOH, T. J.; DIPIETRO, L. A. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 13, p. e23, 11 jul. 2011.

KRIZANOVA, O. et al. Signaling pathways in cutaneous wound healing. **Frontiers in Physiology**, v. 13, p. 1030851, 25 nov. 2022.

KUFFLER, D. P. Photobiomodulation in promoting wound healing: a review. **Regenerative Medicine**, v. 11, n. 1, p. 107–122, jan. 2016.

KUMAR, M. et al. Healing effects of Musa sapientum var. paradisiaca in diabetic rats with co-occurring gastric ulcer: Cytokines and growth factor by PCR amplification. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 13, 2013.

LANE, M. E. Skin penetration enhancers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 447, n. 1–2, p. 12–21, 15 abr. 2013.

LEAL, L. R.; TELLIS, C. J. M. Farmacovigilância de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: uma breve revisão. 2015.

LEE, C.; NA, K. Anthocyanin-Loaded Liposomes Prepared by the pH-Gradient Loading Method to Enhance the Anthocyanin Stability, Antioxidation Effect and Skin Permeability. **Macromolecular Research**, v. 28, n. 3, p. 289–297, 1 mar. 2020.

LEE, N.-K. et al. Antiallergic activity of hesperidin is activated by intestinal microflora. **Pharmacology**, v. 71, n. 4, p. 174–180, ago. 2004.

LEGRAND, J. M. D.; MARTINO, M. M. Growth Factor and Cytokine Delivery Systems for Wound Healing. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 14, n. 8, p. a041234, 1 ago. 2022.

LEVI, E. et al. Matrix metalloproteinase 2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor 1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 14, p. 7069–7074, 9 jul. 1996.

LEVINSON, H. A Paradigm of Fibroblast Activation and Dermal Wound Contraction to Guide the Development of Therapies for Chronic Wounds and Pathologic Scars. **Advances in Wound Care**, v. 2, n. 4, p. 149–159, maio 2013.

LI, C.; SCHLUESENER, H. Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 3, p. 613–631, 11 fev. 2017.

LI, M. et al. Epigallocatechin-3-gallate augments therapeutic effects of mesenchymal stem cells in skin wound healing. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 43, n. 11, p. 1115–1124, nov. 2016.

LI, W. et al. HESPERIDIN, A PLANT FLAVONOID ACCELERATED THE CUTANEOUS WOUND HEALING IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS: ROLE OF

TGF-B/SMADS AND ANG-1/TIE2 SIGNALING PATHWAYS. **Excli Journal**, v. 17, p. 399–419, 2018.

LIN, T.-K.; ZHONG, L.; SANTIAGO, J. L. Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, p. 70, 27 dez. 2017.

LINDHOLM, C.; SEARLE, R. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency: Wound management for the 21st century. **International Wound Journal**, v. 13, p. 5–15, jul. 2016.

LIU, T. et al. A novel grapheme oxide-modified collagen-chitosan bio-film for controlled growth factor release in wound healing applications. **Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications**, v. 77, p. 202–211, 1 ago. 2017.

LIU, W.-C. et al. Gamma-poly glutamate/gelatin composite hydrogels crosslinked by proanthocyanidins for wound healing. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 101, p. 630–639, ago. 2019.

LIU Y.-Y. et al. Isoliquiritin promote angiogenesis by recruiting macrophages to improve the healing of zebrafish wounds. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 100, n. (Liu Y.-Y.; Wu J.-Q.; Fan R.-Y.; Li C.-Y., lichy100@njtech.edu.cn; He M.-F., mingfanghe@njtech.edu.cn) College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing, China, p. 238–245, 2020.

LODEN, M.; MAIBACH, H. I. (EDS.). **Dry Skin and Moisturizers: Chemistry and Function**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2013.

LODHI, S.; SINGHAI, A. K. Wound healing effect of flavonoid rich fraction and luteolin isolated from *Martynia annua* Linn. on streptozotocin induced diabetic rats. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 6, n. 4, p. 253–259, 13 abr. 2013.

LOGAN, G. Clinical judgment and decision making in wound assessment and management: is experience enough? **British Journal of Community Nursing**, v. Suppl Wound Care, p. S21-22, S24-28, mar. 2015.

LÓPEZ-CANO, J. J. et al. Liposomes as vehicles for topical ophthalmic drug delivery and ocular surface protection. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 18, n. 7, p. 819–847, 3 jul. 2021.

LOPEZ-JORNET, P. et al. Effects of potassium apigenin and verbena extract on the wound healing process of SKH-1 mouse skin. **International Wound Journal**, v. 11, n. 5, p. 489–495, out. 2014.

LORENCINI, M. et al. Active ingredients against human epidermal aging. **Ageing Research Reviews**, v. 15, p. 100–115, maio 2014.

LU, M. et al. Phyto-phospholipid complexes (phytosomes): A novel strategy to improve the bioavailability of active constituents. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 3, p. 265–274, maio 2019.

LUCEY, P.; GOLDBERG, D. J. Complications of collagen fillers. **Facial plastic surgery: FPS**, v. 30, n. 6, p. 615–622, dez. 2014.

ŁUKASIEWICZ, S. et al. Encapsulation of clozapine in polymeric nanocapsules and its biological effects. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 140, p. 342–352, abr. 2016.

MA, L.; YAO, L. Antiviral Effects of Plant-Derived Essential Oils and Their Components: An Updated Review. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2627, 5 jun. 2020.

MA, X. et al. Baicalein suppresses metastasis of breast cancer cells by inhibiting EMT via downregulation of SATB1 and Wnt/beta-catenin pathway. **Drug Design Development and Therapy**, v. 10, p. 1419–1441, 2016.

MALEKI, S. J.; CRESPO, J. F.; CABANILLAS, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. **Food Chemistry**, v. 299, p. 125124, 30 nov. 2019.

MANCA, M. L. et al. Sorbitol-penetration enhancer containing vesicles loaded with baicalin for the protection and regeneration of skin injured by oxidative stress and UV radiation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 555, p. 175–183, 2019.

MANO, J. F. et al. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends. **Journal of the Royal Society, Interface**, v. 4, n. 17, p. 999–1030, 22 dez. 2007.

MANTHEY, J. A.; GROHMANN, K. Flavonoids of the orange subfamily Aurantioideae. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 439, p. 85–101, 1998.

MANTOVANI, A. et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. **The Journal of Pathology**, v. 229, n. 2, p. 176–185, jan. 2013.

MANUEL, J. A.; GAWRONSKA-KOZAK, B. Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) is upregulated during scarless wound healing in athymic nude mice. **Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology**, v. 25, n. 8, p. 505–514, out. 2006.

MARCONDES SARI, M. H. et al. p,p'-Methoxyl-diphenyl diselenide-loaded polymeric nanocapsules are chemically stable and do not induce toxicity in mice. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 117, p. 39–48, ago. 2017.

MARCONI, G. D. et al. Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT): The Type-2 EMT in Wound Healing, Tissue Regeneration and Organ Fibrosis. **Cells**, v. 10, n. 7, p. 1587, 23 jun. 2021.

MARINI, H. et al. Genistein aglycone improves skin repair in an incisional model of wound healing: a comparison with raloxifene and oestradiol in ovariectomized rats. **British journal of pharmacology**, v. 160, n. 5, p. 1185–1194, jul. 2010.

MARTIN, P.; LEIBOVICH, S. J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. **Trends in Cell Biology**, v. 15, n. 11, p. 599–607, 1 nov. 2005.

MARTIN, P.; NUNAN, R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. **The British Journal of Dermatology**, v. 173, n. 2, p. 370–378, ago. 2015.

MARTINEZ, F. O.; GORDON, S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. **F1000Prime Reports**, v. 6, p. 13, 3 mar. 2014.

MASSOUD, D. et al. Topical application of Aloe gel and/or olive oil combination promotes the wound healing properties of streptozotocin-induced diabetic rats. **Environmental science and pollution research international**, v. 29, n. 39, p. 59727–59735, ago. 2022.

MAYADAS, T. N.; CULLERE, X.; LOWELL, C. A. The Multifaceted Functions of Neutrophils. **Annual review of pathology**, v. 9, p. 181–218, 2014.

MAZINI, L. et al. Hopes and Limits of Adipose-Derived Stem Cells (ADSCs) and Mesenchymal Stem Cells (MSCs) in Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 1306, 14 fev. 2020.

MCKELVEY, K. J.; APPLETON, I. Epicatechin Gallate Improves Healing and Reduces Scar Formation of Incisional Wounds in Type 2 Diabetes Mellitus Rat Model. **Wounds-a Compendium of Clinical Research and Practice**, v. 24, n. 3, p. 55–57, mar. 2012.

MEHTA, M.; BRANFORD, O. A.; ROLFE, K. J. The evidence for natural therapeutics as potential anti-scarring agents in burn-related scarring. **Burns & Trauma**, v. 4, p. 15, 4 maio 2016.

MELGUIZO-RODRÍGUEZ, L. et al. Potential Effects of Phenolic Compounds That Can Be Found in Olive Oil on Wound Healing. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1642, 15 jul. 2021.

MELINCOVICI, C. S. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. **Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine De Morphologie Et Embryologie**, v. 59, n. 2, p. 455–467, 2018.

MELTON, D. W. et al. Temporal Phenotypic Features Distinguish Polarized Macrophages In Vitro. **Autoimmunity**, v. 48, n. 3, p. 161–176, maio 2015.

MESCHER, A. **Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, 12th Edition**. [s.l.] McGraw Hill Professional, 2009.

MESSADI, D. V. et al. Activation of NFkappaB signal pathways in keloid fibroblasts. **Archives of Dermatological Research**, v. 296, n. 3, p. 125–133, ago. 2004.

MEYER, M. Processing of collagen based biomaterials and the resulting materials properties. **Biomedical Engineering Online**, v. 18, n. 1, p. 24, 18 mar. 2019.

M'HIRI, N. et al. Phytochemical characteristics of Citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds: a review. **Food Reviews International**, v. 33, 7 jun. 2016.

MI B. et al. Icariin promotes wound healing by enhancing the migration and proliferation of keratinocytes via the AKT and ERK signaling pathway. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 42, n. 2, p. 831–838, 2018.

MICKELSON, M. A.; MANS, C.; COLOPY, S. A. Principles of Wound Management and Wound Healing in the Exotic Pets. **The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice**, v. 19, n. 1, p. 33–53, jan. 2016.

MIGUEL, S. P. et al. An overview of electrospun membranes loaded with bioactive molecules for improving the wound healing process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.**, v. 139, p. 1–22, jun. 2019.

MIRANDA, Í. K. S. P. B. et al. Development of membranes based on carboxymethyl cellulose/acetylated arrowroot starch containing bromelain extract carried on nanoparticles and liposomes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 110, n. 6, p. 2372–2378, jun. 2021.

MOHAMMADI, Z. et al. The effect of chrysin-loaded nanofiber on wound healing process in male rat. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 90, n. 6, p. 1106–1114, dez. 2017.

MOHAMMADI, Z. et al. The effect of chrysin-curcumin-loaded nanofibres on the wound-healing process in male rats. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v. 47, n. 1, p. 1642–1652, dez. 2019.

MOHER, D. et al. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. **PLOS Medicine**, v. 6, n. 7, p. e1000097, 21 jul. 2009.

MOHR, L. D.; REYNA, R.; AMAYA, R. Neonatal case studies using active leptospermum honey. **Journal of Wound, Ostomy, and Continence Nursing: Official Publication of The Wound, Ostomy and Continence Nurses Society**, v. 41, n. 3, p. 213–218, jun. 2014.

MONAVARIAN, M. et al. Regenerative Scar-Free Skin Wound Healing. **Tissue Engineering. Part B, Reviews**, v. 25, n. 4, p. 294–311, 1 ago. 2019.

MOORE, K.; SHEEDY, F.; FISHER, E. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. **Nature reviews. Immunology**, v. 13, n. 10, p. 709–721, out. 2013.

MORESCHI, D. A. B.; LEITE-MELLO, E. V. DE S.; BUENO, F. G. Ação cicatrizante de plantas medicinais: um estudo de revisão. **Arq. ciências saúde UNIPAR**, p. 63–69, 2018.

MORRELL, C. N. et al. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. **Blood**, v. 123, n. 18, p. 2759–2767, 1 maio 2014.

MORSY, M. A.; NAIR, A. B. Prevention of rat liver fibrosis by selective targeting of hepatic stellate cells using hesperidin carriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 552, n. 1–2, p. 241–250, dez. 2018.

MOSSER, D. M. The many faces of macrophage activation. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 73, n. 2, p. 209–212, fev. 2003.

MOTTA, Y. P. et al. Quantificação de citocinas no soro e homogenato da pata na intoxicação experimental com veneno de Bothropoides jararaca em ratos Wistar tratados com soroterapia e Mikania glomerata. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 5, p. 1413–1418, out. 2014.

MOURA, L. I. F. et al. Neurotensin-loaded collagen dressings reduce inflammation and improve wound healing in diabetic mice. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1842, n. 1, p. 32–43, jan. 2014.

MOUSAVI, S.-M. et al. Bioactive Agent-Loaded Electrospun Nanofiber Membranes for Accelerating Healing Process: A Review. **Membranes**, v. 11, n. 9, p. 702, 13 set. 2021.

MUKAI, R. Prenylation enhances the biological activity of dietary flavonoids by altering their bioavailability. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 82, n. 2, p. 207–215, fev. 2018.

MULVIHILL, E. E.; BURKE, A. C.; HUFF, M. W. Citrus Flavonoids as Regulators of Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis. **Annual Review of Nutrition**, v. 36, p. 275–299, 17 jul. 2016.

MURPHY, P. S.; EVANS, G. R. D. Advances in Wound Healing: A Review of Current Wound Healing Products. **Plastic Surgery International**, v. 2012, p. 190436, 2012.

NEGUT, I.; DORCIOMAN, G.; GRUMEZESCU, V. Scaffolds for Wound Healing Applications. **Polymers**, v. 12, n. 9, p. 2010, set. 2020.

NETHI, S. K. et al. Recent advances in inorganic nanomaterials for wound-healing applications. **Biomaterials Science**, v. 7, n. 7, p. 2652–2674, 1 jul. 2019.

NGUYEN, M.-H. et al. In vivo comparison of wound healing and scar treatment effect between curcumin-oligochitosan nanoparticle complex and oligochitosan-coated curcumin-loaded-liposome. **Journal of Microencapsulation**, v. 36, n. 2, p. 156–168, mar. 2019.

NINOMIYA, K. et al. Targeted and ultrasound-triggered cancer cell injury using perfluorocarbon emulsion-loaded liposomes endowed with cancer cell-targeting and fusogenic capabilities. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 28, p. 54–61, 1 jan. 2016.

NUNES, P. S. et al. Collagen-Based Films Containing Liposome-Loaded Usnic Acid as Dressing for Dermal Burn Healing. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2011, p. 1–9, 2011.

NUNES, P. S. et al. Gelatin-based membrane containing usnic acid-loaded liposome improves dermal burn healing in a porcine model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 513, n. 1–2, p. 473–482, 20 nov. 2016.

NUSSBAUM, S. R. et al. An Economic Evaluation of the Impact, Cost, and Medicare Policy Implications of Chronic Nonhealing Wounds. **Value in Health: The Journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research**, v. 21, n. 1, p. 27–32, jan. 2018.

OLIVEIRA, A. C. D.; ROPKE, C. Os dez anos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e os principais entraves da cadeia produtiva de extratos vegetais e medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Fitos**, v. 10, n. 2, p. 185–198, 1 dez. 2016.

ORYAN, A. et al. Modulation of cutaneous wound healing by silymarin in rats. **Journal of Wound Care**, v. 21, n. 9, p. 457–464, set. 2012.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. **Journal of Tissue Viability**, v. 25, n. 2, p. 98–118, 2016.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie**, v. 98, p. 469–483, fev. 2018.

OZAY, Y. et al. Evaluation of the wound healing properties of luteolin ointments on excision and incision wound models in diabetic and non-diabetic rats. **Records of Natural Products**, v. 12, n. 4, p. 350–366, 2018.

OZAY, Y. et al. Wound Healing Effect of Kaempferol in Diabetic and Nondiabetic Rats. **Journal of Surgical Research**, v. 233, p. 284–296, jan. 2019.

OZGOK KANGAL, M. K.; REGAN, J.-P. Wound Healing. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.

PAIVA, M. et al. Latex–collagen membrane: an alternative treatment for tibial bone defects. **Journal of Materials Science**, v. 57, 8 dez. 2022.

PARK, E. et al. Effects of genistein on early-stage cutaneous wound healing. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 410, n. 3, p. 514–519, 8 jul. 2011.

PAZYAR, N. et al. Skin Wound Healing and Phytomedicine: A Review. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 27, n. 6, p. 303–310, 2014.

PEDROSO, R. DOS S.; ANDRADE, G.; PIRES, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, p. e310218, 16 jul. 2021.

PENN, J. W.; GROBBELAAR, A. O.; ROLFE, K. J. The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: a review. **International Journal of Burns and Trauma**, v. 2, n. 1, p. 18–28, 5 fev. 2012.

PETTINATO, M. et al. Bioactives extraction from spent coffee grounds and liposome encapsulation by a combination of green technologies. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 151, p. 107911, 1 maio 2020.

PILEHVAR-SOLTANAHMADI, Y. et al. An Overview on Application of Natural Substances Incorporated with Electrospun Nanofibrous Scaffolds to Development of Innovative Wound Dressings. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 5, p. 414–427, 14 fev. 2018.

PIRIZ, M. A. et al. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, p. 628–636, set. 2014.

POLERÀ N. et al. Quercetin and its natural sources in wound healing management. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 31, p. 5825–5848, 2019.

PONRASU, T. et al. Morin incorporated polysaccharide-protein (psyllium-keratin) hydrogel scaffolds accelerate diabetic wound healing in Wistar rats. **Rsc Advances**, v. 8, n. 5, p. 2305–2314, 2018.

POWERS, J. G. et al. Wound healing and treating wounds: Chronic wound care and management. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 4, p. 607–625; quiz 625–626, abr. 2016.

PRATA, M. B. et al. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em rato. **Acta cir. bras**, v. 3, n. 2, p. 43–8, jun. 1988.

PROKSCH, E.; BRANDNER, J. M.; JENSEN, J.-M. The skin: an indispensable barrier. **Experimental Dermatology**, v. 17, n. 12, p. 1063–1072, dez. 2008.

PUSHPAVALLI, G. et al. Effect of chrysin on hepatoprotective and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatitis in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 631, n. 1–3, p. 36–41, 10 abr. 2010.

QIN Y. et al. Chitosan green tea polyphenol complex as a released control compound for wound healing. **Chinese Journal of Traumatology - English Edition**, v. 13, n. 2, p. 91–95, 2010.

RAGELLE, H. et al. Nanoparticle-based drug delivery systems: a commercial and regulatory outlook as the field matures. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 14, n. 7, p. 851–864, jul. 2017.

RAJAMANICKAM, M.; KALAIVANAN, P.; SIVAGNANAM, I. Antibacterial and wound healing activities of quercetin-3-O-A-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside isolated from *Salvia leucantha*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 22, n. 1, p. 264–268, 2013.

RAMALHO, M. P. et al. PLANTAS MEDICINAIS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Expressão Católica Saúde**, v. 3, n. 2, p. 64, 17 dez. 2018.

RANA, M. M. et al. Amnion and collagen-based blended hydrogel improves burn healing efficacy on a rat skin wound model in the presence of wound dressing biomembrane. **Bio-Medical Materials and Engineering**, v. 31, n. 1, p. 1–17, 2020.

RAZZAGHI, R. et al. Magnesium Supplementation and the Effects on Wound Healing and Metabolic Status in Patients with Diabetic Foot Ulcer: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. **Biological Trace Element Research**, v. 181, n. 2, p. 207–215, fev. 2018.

REINKE, J. M.; SORG, H. Wound repair and regeneration. **European Surgical Research. Europäische Chirurgische Forschung. Recherches Chirurgicales Europeennes**, v. 49, n. 1, p. 35–43, 2012.

REZUCHOVA, I. et al. Type 3 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor has antiapoptotic and proliferative role in cancer cells. **Cell Death & Disease**, v. 10, n. 3, p. 186, 22 fev. 2019.

RIBEIRO, M. A. G. et al. Immunohistochemical Assessment of Myofibroblasts and Lymphoid Cells During Wound Healing in Rats Subjected to Laser Photobiomodulation at 660 nm. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 1, p. 49–55, fev. 2009a.

RIBEIRO, M. A. G. et al. Immunohistochemical assessment of myofibroblasts and lymphoid cells during wound healing in rats subjected to laser photobiomodulation at 660 nm. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 1, p. 49–55, fev. 2009b.

RINNERTHALER, M. et al. Oxidative Stress in Aging Human Skin. **Biomolecules**, v. 5, n. 2, p. 545–589, 21 abr. 2015.

RITTIÉ, L. Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals. **Journal of Cell Communication and Signaling**, v. 10, n. 2, p. 103–120, jun. 2016.

ROCHA, F. A. G. DA et al. O uso terapêutico da flora na história mundial. **HOLOS**, v. 1, p. 49–61, 6 mar. 2015.

ROCHA, L. P. B. DA et al. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282–e44101018282, 5 ago. 2021.

ROCK, K. L. et al. The sterile inflammatory response. **Annual review of immunology**, v. 28, p. 321–342, 2010.

RODRIGUES, M. et al. Wound Healing: A Cellular Perspective. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 665–706, 1 jan. 2019.

ROSENBAUM, A. J. et al. Advances in Wound Management: **Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 26, n. 23, p. 833–843, dez. 2018.

ROSS, K. MiR equal than others: MicroRNA enhancement for cutaneous wound healing. **Journal of Cellular Physiology**, v. 236, n. 12, p. 8050–8059, dez. 2021.

RÖSZER, T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 816460, 2015.

SAHANA, T. G.; REKHA, P. D. Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering. **Molecular Biology Reports**, v. 45, n. 6, p. 2857–2867, dez. 2018.

SAK, K. Intake of Individual Flavonoids and Risk of Carcinogenesis: Overview of Epidemiological Evidence. **Nutrition and Cancer**, v. 69, n. 8, p. 1119–1150, dez. 2017.

SALAZAR-GÓMEZ, A.; ALONSO-CASTRO, A. J. Medicinal Plants from Latin America with Wound Healing Activity: Ethnomedicine, Phytochemistry, Preclinical and Clinical Studies—A Review. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 9, p. 1095, 31 ago. 2022.

SALEHI, M. et al. Naringin-loaded Poly(epsilon-caprolactone)/Gelatin Electrospun Mat as a Potential Wound Dressing: In vitro and In vivo Evaluation. **Fibers and Polymers**, v. 19, n. 1, p. 125–134, jan. 2018.

SALEHI M. et al. Accelerating healing of excisional wound with alginate hydrogel containing naringenin in rat model. **Drug Delivery and Translational Research**, n. (Salehi M., msalehi.te1392@gmail.com) Department of Tissue Engineering, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran, 2020.

SAREILA, O. et al. NOX2 complex-derived ROS as immune regulators. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, n. 8, p. 2197–2208, 15 out. 2011.

SARGEANT, T. D. et al. An in situ forming collagen-PEG hydrogel for tissue regeneration. **Acta Biomaterialia**, v. 8, n. 1, p. 124–132, jan. 2012.

SCHMIDT, A. et al. Nrf2 signaling and inflammation are key events in physical plasma-spurred wound healing. **Theranostics**, v. 9, n. 4, p. 1066–1084, 30 jan. 2019.

SEBAALY, C. et al. Preparation and characterization of clove essential oil-loaded liposomes. **Food Chemistry**, v. 178, p. 52–62, 1 jul. 2015.

SEN, C. K. Human Wound and Its Burden: Updated 2020 Compendium of Estimates. **Advances in Wound Care**, v. 10, n. 5, p. 281–292, 1 maio 2021.

SEO, G. Y. et al. TMF and glycerin act synergistically on keratinocytes and fibroblasts to promote wound healing and anti-scarring activity. **Experimental & molecular medicine**, v. 49, n. 3, p. e302, 17 mar. 2017.

SERRA, M. B. et al. From Inflammation to Current and Alternative Therapies Involved in Wound Healing. **International Journal of Inflammation**, v. 2017, 2017.

SHAH, A.; AMINI-NIK, S. The Role of Phytochemicals in the Inflammatory Phase of Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, p. 1068, 16 maio 2017.

SHAH, S. et al. Liposomes: advancements and innovation in the manufacturing process. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 154–155, p. 102–122, 8 jul. 2020.

SHAN, S. et al. Naringenin attenuates fibroblast activation and inflammatory response in a mechanical stretch-induced hypertrophic scar mouse model. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, n. 4, p. 4643–4649, out. 2017.

SHARMA, K. et al. Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 34, p. 29–46, fev. 2017.

SHEDOEVA, A. et al. Wound Healing and the Use of Medicinal Plants. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, v. 2019, p. 2684108, 2019.

SHEIR, M. M.; NASRA, M. M. A.; ABDALLAH, O. Y. Phenytoin-loaded bioactive nanoparticles for the treatment of diabetic pressure ulcers: formulation and in vitro/in vivo evaluation. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 12, n. 12, p. 2936–2949, 2022.

SHEVELEV A.B. et al. In vivo antimicrobial and wound-healing activity of resveratrol, dihydroquercetin, and dihydromyricetin against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. **Pathogens**, v. 9, n. 4, 2020.

SHI, Y.; MASSAGUÉ, J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. **Cell**, v. 113, n. 6, p. 685–700, 13 jun. 2003.

SHUBINA, V. S.; SHATALIN, YU. V. Skin regeneration after chemical burn under the effect of taxifolin-based preparations. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 154, n. 1, p. 152–157, 2012.

SHUKLA, R. et al. Fabrication of Apigenin loaded gellan gum-chitosan hydrogels (GGCH-HGs) for effective diabetic wound healing. **International journal of biological macromolecules**, v. 91, p. 1110–1119, out. 2016.

SICA, A.; MANTOVANI, A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 3, p. 787–795, 1 mar. 2012.

SINGH, R.; SHITIZ, K.; SINGH, A. Chitin and chitosan: biopolymers for wound management. **International Wound Journal**, v. 14, n. 6, p. 1276–1289, dez. 2017.

SINGH, S.; YOUNG, A.; MCNAUGHT, C.-E. The physiology of wound healing. **Surgery - Oxford International Edition**, v. 35, n. 9, p. 473–477, 1 set. 2017.

SINGH, W. R. et al. Angiogenic and MMPs modulatory effects of icariin improved cutaneous wound healing in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 858, p. UNSP 172466, 5 set. 2019.

SKLENAROVA, R. et al. Co-delivering of oleuropein and lentisk oil in phospholipid vesicles as an effective approach to modulate oxidative stress, cytokine secretion and promote skin regeneration. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V**, v. 185, p. 126–136, abr. 2023.

SOARES, G. R. et al. Relação das plantas medicinais no controle da ansiedade e no processo de emagrecimento. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e9911628702–e9911628702, 21 abr. 2022.

SONG, J. et al. Natural Biologics Accelerate Healing of Diabetic Foot Ulcers by Regulating Oxidative Stress. **Frontiers in bioscience (Landmark edition)**, v. 27, n. 10, p. 285, 19 out. 2022.

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.

SOUZA, A. C. S. DE M. C.; ALVES, A.; SANTANA, E. DE. Aplicação de membranas de colágeno contendo ácido úsnico incorporado em lipossomas no processo de cicatrização de queimaduras em áreas especiais. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 17, n. 2, p. 94–99, 2018.

SOUZA, L. C. et al. Flavonoid Chrysin prevents age-related cognitive decline via attenuation of oxidative stress and modulation of BDNF levels in aged mouse brain. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 134, p. 22–30, jul. 2015.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R. N.; PIETRO, R. C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 435–440, jul. 2010.

SPOONER, R.; YILMAZ, Ö. The Role of Reactive-Oxygen-Species in Microbial Persistence and Inflammation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 1, p. 334–352, 13 jan. 2011.

STAN, D. et al. Wound healing applications of creams and “smart” hydrogels. **Experimental Dermatology**, v. 30, n. 9, p. 1218–1232, set. 2021.

STANLEY, B. J. Negative Pressure Wound Therapy. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 47, n. 6, p. 1203–1220, nov. 2017.

STASI, L. C. D. **Plantas medicinais: arte e ciência: Um guia de estudo interdisciplinar**. 1ª edição ed. [s.l.] Editora Unesp, 2016.

STEFFENSEN, B.; HÄKKINEN, L.; LARJAVA, H. Proteolytic events of wound-healing--coordinated interactions among matrix metalloproteinases (MMPs), integrins, and extracellular matrix molecules. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine: An Official Publication of the American Association of Oral Biologists**, v. 12, n. 5, p. 373–398, 2001.

STEPHENS, M.; BARTLEY, C.; DUMVILLE, J. C. Pressure redistributing static chairs for preventing pressure ulcers. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2, n. 2, p. CD013644, 17 fev. 2022.

STONE, R. C. et al. Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis. **Cell and Tissue Research**, v. 365, n. 3, p. 495–506, set. 2016.

STREFEZZA, E. F. Estudo comparativo das formulações de diosmina/hesperidina comprimidos e sachê no tratamento da dor e edema dos membros inferiores na doença venosa crônica. **RBM rev. bras. med**, 2010.

SUGA, H. et al. Tracking the elusive fibrocyte: Identification and characterization of collagen producing hematopoietic lineage cells during murine wound healing. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 32, n. 5, p. 1347–1360, maio 2014.

SUN, W. et al. Collagen membranes loaded with collagen-binding human PDGF-BB accelerate wound healing in a rabbit dermal ischemic ulcer model. **Growth Factors**, v. 25, n. 5, p. 309–318, jan. 2007.

SÜNTAR, I. et al. Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants? **Free Radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 2, p. 1–7, abr. 2012.

SÜNTAR, I. et al. Regulatory Role of Nrf2 Signaling Pathway in Wound Healing Process. **Molecules**, v. 26, n. 9, p. 2424, 21 abr. 2021.

SWIFT, M. E. et al. Age-Related Alterations in the Inflammatory Response to Dermal Injury. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 117, n. 5, p. 1027–1035, 1 nov. 2001.

TAYMOURI, S. et al. Fabrication and evaluation of hesperidin loaded polyacrylonitrile/polyethylene oxide nanofibers for wound dressing application. **Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition**, v. 32, n. 15, p. 1944–1965, out. 2021.

TETTEH-QUARSHIE, S.; BLOUGH, E. R.; JONES, C. B. Exploring Dendrimer Nanoparticles for Chronic Wound Healing. **Frontiers in Medical Technology**, v. 3, p. 661421, 11 maio 2021.

THAPA MAGAR, K. et al. Liposome-based delivery of biological drugs. **Chinese Chemical Letters**, v. 33, n. 2, p. 587–596, 1 fev. 2022.

TIE, L. et al. Genistein accelerates refractory wound healing by suppressing superoxide and FoxO1/iNOS pathway in type 1 diabetes. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 88–96, jan. 2013.

TOLEDO, R. R.; SANTOS, M. E. R. D. C.; SCHNAIDER, T. B. Effect of Pycnogenol on the Healing of Venous Ulcers. **Annals of Vascular Surgery**, v. 38, p. 212–219, 2017.

TORRES, F. G.; COMMEAUX, S.; TRONCOSO, O. P. Starch-based biomaterials for wound-dressing applications. **Starch - Stärke**, v. 65, n. 7–8, p. 543–551, 2013.

TOSCANO, C. M. et al. Annual Direct Medical Costs of Diabetic Foot Disease in Brazil: A Cost of Illness Study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 1, 8 jan. 2018.

TOTTOLI, E. M. et al. Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 735, 5 ago. 2020.

TRACY, L. E.; MINASIAN, R. A.; CATERSON, E. J. Extracellular Matrix and Dermal Fibroblast Function in the Healing Wound. **Advances in Wound Care**, v. 5, n. 3, p. 119–136, 1 mar. 2016.

TSAI, M.-J. et al. Preparation and Characterization of Naringenin-Loaded Elastic Liposomes for Topical Application. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, 9 jul. 2015.

VEDAKUMARI, W. S. et al. Quercetin impregnated chitosan-fibrin composite scaffolds as potential wound dressing materials - Fabrication, characterization and in vivo analysis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, p. 106–112, 15 jan. 2017.

VELNAR, T.; BAILEY, T.; SMRKOLJ, V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. **The Journal of International Medical Research**, v. 37, n. 5, p. 1528–1542, 2009.

VIEIRA, C. P. DE B.; ARAÚJO, T. M. E. DE. Prevalence and factors associated with chronic wounds in older adults in primary care. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, n. 0, 20 dez. 2018.

VITALE, S. et al. Phytochemistry and Biological Activity of Medicinal Plants in Wound Healing: An Overview of Current Research. **Molecules**, v. 27, n. 11, p. 3566, 1 jun. 2022.

WACKER, A.; EILMES, H. G. [Virus inhibition using hesperidin]. **Die Naturwissenschaften**, v. 62, n. 6, p. 301, jun. 1975.

WALLACE, H. A.; BASEHORE, B. M.; ZITO, P. M. Wound Healing Phases. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.

WANG, J. et al. Improved bioavailability and anticancer efficacy of Hesperetin on breast cancer via a self-assembled rebaudioside A nanomicelles system. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 419, p. 115511, 15 maio 2021.

WANG, W. et al. Nano-drug delivery systems in wound treatment and skin regeneration. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 17, p. 82, 10 jul. 2019.

WEIDENBUSCH, M.; ANDERS, H.-J. Tissue Microenvironments Define and Get Reinforced by Macrophage Phenotypes in Homeostasis or during Inflammation, Repair and Fibrosis. **Journal of Innate Immunity**, v. 4, n. 5–6, p. 463–477, ago. 2012.

WILHELMI, G. Effect of O-(beta-hydroxyethyl)-rutoside on wound healing in the rat. **Pharmacology**, v. 19, n. 2, p. 82–85, 1979.

WILKINS, R. G.; UNVERDORBEN, M. Wound cleaning and wound healing: a concise review. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 26, n. 4, p. 160–163, abr. 2013.

WILLENBORG, S. et al. CCR2 recruits an inflammatory macrophage subpopulation critical for angiogenesis in tissue repair. **Blood**, v. 120, n. 3, p. 613–625, 19 jul. 2012.

WISE, J. K. et al. Synergistic enhancement of ectopic bone formation by supplementation of freshly isolated marrow cells with purified MSC in collagen-chitosan hydrogel microbeads. **Connective Tissue Research**, v. 57, n. 6, p. 516–525, 2016.

WOLF, S. E.; ARNOLDO, B. D. The year in burns 2011. **Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries**, v. 38, n. 8, p. 1096–1108, dez. 2012.

WOLFRAM, J. et al. Hesperetin liposomes for cancer therapy. **Current drug delivery**, v. 13, n. 5, p. 711–719, 2016.

WONG, V. W. et al. Engineered pullulan-collagen composite dermal hydrogels improve early cutaneous wound healing. **Tissue Engineering. Part A**, v. 17, n. 5–6, p. 631–644, mar. 2011.

XIA, S. et al. Curcumin-incorporated 3D bioprinting gelatin methacryloyl hydrogel reduces reactive oxygen species-induced adipose-derived stem cell apoptosis and improves implanting survival in diabetic wounds. **BURNS & TRAUMA**, v. 10, 1 jan. 2022.

XU, H.-L. et al. Skin-permeable liposome improved stability and permeability of bFGF against skin of mice with deep second degree scald to promote hair follicle neogenesis through inhibition of scar formation. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, v. 172, p. 573–585, 1 dez. 2018.

XU, S. et al. Tea polyphenol modified, photothermal responsive and ROS generative black phosphorus quantum dots as nanoplatfoms for promoting MRSA infected wounds healing in diabetic rats. **Journal of nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, p. 362, 10 nov. 2021.

XUE, M.; JACKSON, C. J. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 3, p. 119–136, 1 mar. 2015.

YAMAGUCHI K. et al. The effect of isoflavone oral medication on cutaneous wound healing in ovariectomized female mice. **Wound Repair and Regeneration**, v. 20, n. 1, p. A5, 2012.

YAN, C.; BOYD, D. D. Regulation of matrix metalloproteinase gene expression. **Journal of Cellular Physiology**, v. 211, n. 1, p. 19–26, abr. 2007.

YAZARLU, O. et al. Perspective on the application of medicinal plants and natural products in wound healing: A mechanistic review. **Pharmacological Research**, v. 174, p. 105841, dez. 2021.

YIP, W. L. Influence of oxygen on wound healing. **International Wound Journal**, v. 12, n. 6, p. 620–624, dez. 2015.

YOON, M. et al. Euodia daniellii Hemsl. Extract and Its Active Component Hesperidin Accelerate Cutaneous Wound Healing via Activation of Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. **Molecules**, v. 27, n. 20, p. 7134, 21 out. 2022.

YU, D. et al. Regulation of wound healing and fibrosis by galectins. **Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)**, v. 100, n. 6, p. 861–874, jun. 2022.

YU, R.; ZHANG, H.; GUO, B. Conductive Biomaterials as Bioactive Wound Dressing for Wound Healing and Skin Tissue Engineering. **Nano-Micro Letters**, v. 14, p. 1, 2 dez. 2021.

YUAN, X. et al. Cinnamaldehyde accelerates wound healing by promoting angiogenesis via up-regulation of PI3K and MAPK signaling pathways. **LABORATORY INVESTIGATION**, v. 98, n. 6, p. 783–798, jun. 2018.

YUSUF ALIYU, A.; ADELEKE, O. A. Nanofibrous Scaffolds for Diabetic Wound Healing. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 3, p. 986, 19 mar. 2023.

ZAGO, L.; MOURA, M. Vinte e dois anos de pesquisa sobre plantas medicinais: uma análise cienciométrica. *Tecnia, Goiânia*. v. 3, n. 1, p. 1–17, 2018.

ŻELECHOWSKA, E.; SADOWSKA, M. The influence of different acids and pepsin on the extractability of collagen from the skin of Baltic cod (*Gadus morhua*). **Food Chemistry**, v. 105, p. 1302–1306, 31 dez. 2007.

ZHANG, S. et al. Polydopamine/Puerarin Nanoparticle-Incorporated Hybrid Hydrogels for Enhanced Wound Healing. **Biomaterials Science**, 8 ago. 2019.

ZHAO, C. et al. Biosynthesis of citrus flavonoids and their health effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 4, p. 566–583, 2020.

ZHAO, M.; ROLANDI, M.; ISSEROFF, R. R. Bioelectric Signaling: Role of Bioelectricity in Directional Cell Migration in Wound Healing. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 14, n. 10, p. a041236, 3 out. 2022.

ZHAO, R. et al. Inflammation in Chronic Wounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, 11 dez. 2016.

ZHOU, Z. et al. Hesperidin ameliorates bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis via inhibition of TGF- β 1/Smad3/AMPK and IkappaB α /NF-kappaB pathways. **EXCLI Journal**, v. 18, p. 723–745, 29 ago. 2019.

ZIELINS, E. R. et al. Emerging drugs for the treatment of wound healing. **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v. 20, n. 2, p. 235–246, jun. 2015.

ZUBAIR, M.; AHMAD, J. Role of growth factors and cytokines in diabetic foot ulcer healing: A detailed review. **Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders**, n. (Zubair M., mohammad_zubair@yahoo.co.in) Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, University of Tabuk, Tabuk, Saudi Arabia, 2019.

ZUBER, M. et al. Collagen based polyurethanes—A review of recent advances and perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 366–374, set. 2015.

ANEXOS

**ANEXO A: Declaração de aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em
Pesquisa com Animais da UFS.**



**Comissão de Ética no
Uso de Animais**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS DAS MEMBRANAS BIOATIVAS DE COLÁGENO CONTENDO FLAVANONAS SOBRE A CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS", protocolada sob o CEUA nº 7086120523 (ID 000726), sob a responsabilidade de **Rosana Barreto e equipe; MIKAELLA TUANNY BEZERRA CARVALHO; ADENILSON DOS SANTOS** - 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 - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Sergipe (CEUA/UFS) na reunião de 21/07/2023.

We certify that the proposal "EFFECTS OF BIOACTIVE COLLAGEN MEMBRANES CONTAINING FLAVANONES ON HEALING OF CUTANEOUS WOUNDS", utilizing 96 Heterogenics rats (96 males), protocol number CEUA 7086120523 (ID 000726), under the responsibility of **Rosana Barreto and team; MIKAELLA TUANNY BEZERRA CARVALHO; ADENILSON DOS SANTOS** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Sergipe (CEUA/UFS) in the meeting of 07/21/2023.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **12/2023** a **12/2025** Área: **Ciências Biológicas**

Origem: **Biotério da Universidade Federal de Sergipe**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **2 a 3 meses**

N: **96**

Linhagem: **WISTAR**

Peso: **250 a 300 g**

Local do experimento: Laboratório de Neurociências e Ensaios Farmacológicos - LANEF

São Cristóvão, 25 de julho de 2023

Prof. Dr. Josemar Sena Batista
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Anderson Carlos Marçal
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Sergipe

**ANEXO B: Patente de Invenção (PI): Processo de Obtenção de Formulação
Farmacêutica com Atividade Cicatrizante**



870230097616
06/11/2023 11:41

29409162311385468

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2023 023131 4

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 13031547000104

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária, "Prof. José Aloísio de Campos", Bairro Rosa Elze

Cidade: São Cristovão

Estado: SE

CEP: 49100000

País: Brasil

Telefone: (79) 3194-6865

Fax:

Email: cinttec.ufs@gmail.com

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em
06/11/2023 às 11:41, Petição 870230097616

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FORMULAÇÃO FARMACÊUTICA COM ATIVIDADE CICATRIZANTE

Resumo: A presente patente de invenção refere-se à formulação farmacêutica contendo atividade cicatrizante, cujo princípio ativo é a Hesperidina (3,5,7-trihidroxi-7-flavanona ramnoglicosídeo). Trata-se de uma formulação farmacêutica contendo hesperidina em lipossomas como princípio ativo em membranas bioativas de colágeno. Esta formulação farmacêutica apresenta vantagens quanto a melhorias da solubilidade, estabilidade e efeito farmacológico. As membranas bioativas de colágeno contendo hesperidina em lipossomas facilitam a cicatrização e reconstituição dos tecidos celulares envolvidos nas lesões epiteliais ou mucosas em geral (lesões cirúrgicas, queimaduras, ulcerações, escoriações, fissuras etc. ou qualquer outra lesão que seja reparada por cicatrização) e em qualquer espécie de feridas.

Figura a publicar: 1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 06/11/2023 às 11:41, Petição 870230097616

Nome: JULLYANA DE SOUZA SIQUEIRA QUINTANS

CPF: 00135444543

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos Av. Marechal Rondon,
s/n, Jd. Rosa Elze

Cidade: São Cristóvão

Estado: SE

CEP: 49107-230

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email:

Inventor 4 de 16

Nome: MIKAELLA TUANNY BEZERRA CARVALHO

CPF: 05480076400

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Doutorando

Endereço: Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos Av. Marechal Rondon,
s/n, Jd. Rosa Elze

Cidade: São Cristóvão

Estado: SE

CEP: 49107-230

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email:

Inventor 5 de 16

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em
06/11/2023 às 11:41, Petição 870230097616

ANEXO C: Artigo Publicado Phytomedicine (QUALIS A1) FI:6.65

Phytomedicine 90 (2021) 153636



Contents lists available at ScienceDirect

Phytomedicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/phyomed

Original Article

Wound healing properties of flavonoids: A systematic review highlighting the mechanisms of action

Mikaella T.B. Carvalho^{a,b}, Heitor G. Araújo-Filho^a, André S. Barreto^{b,c},
Lucindo J. Quintans-Júnior^{a,b}, Julliyana S.S. Quintans^{a,b}, Rosana S.S. Barreto^{a,b,*}

^a Laboratory of Neuroscience and Pharmacological Assays (LANEF), Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Marechal Rondon Avenue, S/N, Rosa Elza, CEP: 49.000-100, São Cristóvão, SE, Brazil

^b Health Sciences Graduate Program (PPGCS), Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil

^c Laboratory Pharmacology Cardiovascular (LAFAC), Department of Physiology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Flavonoids
Natural products
Wound healing
Skin lesions
Chronic wounds

ABSTRACT

Background: Flavonoids are a class of compounds with a wide variety of biological functions, being an important source of new products with pharmaceutical potential, including treatment of skin wounds.

Purpose: This review aimed to summarize and evaluate the evidence in the literature in respect of the healing properties of flavonoids on skin wounds in animal models.

Study design: This is a systematic review following the guidelines of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) statement.

Methods: This was carried out through a specialized search of four databases: PubMed, Scopus, Web of Science and Embase. The following keyword combinations were used: 'flavonoid' OR 'flavonoid' OR 'flavonoidic' OR 'flavonoids' AND 'wound healing' as well as MeSH terms, Emtree terms and free-text words.

Results: Fifty-five (55) articles met the established inclusion and exclusion criteria. Flavonoids presented effects in respect of the inflammatory process, angiogenesis, re-epithelialization and oxidative stress. They were shown to be able to act on macrophages, fibroblasts and endothelial cells by mediating the release and expression of TGF- β 1, VEGF, Ang, Tie, Smad 2 and 3, and IL-10. Moreover, they were able to reduce the release of inflammatory cytokines, NF- κ B, ROS and the M1 phenotype. Flavonoids acted by positively regulating MMPs 2, 8, 9 and 13, and the Ras/Raf/MEK/ERK, PI3K/Akt and NO pathways.

Conclusion: Flavonoids are useful tools in the development of therapies to treat skin lesions, and our review provides a scientific basis for future basic and translational research.

Introduction

In general, wounds are defined as the rupture of the continuity of the

skin and subcutaneous tissue, reaching deeper layers such as muscles, tendons and bones (Davane and Nagoba, 2016). The wound healing process that restores injured tissues is complex and dynamic, being

Abbreviations: ALT, Alanina aminotransferase; Ang-1, Angiotensin-1; AST, Aspartato aminotransferase; CAT, Catalase; CHL, Ciprofloxacin hydrochloride; COX, Cyclooxygenase; ECG, Epicatechin-3-gallate; EGCG, Epigallocatechin gallate; ERK, Extracellular-signal-regulated kinase; GPx, Glutathione peroxidase; GSH, Reduced glutathione; GST, Glutathione S-transferase; IFN- γ , Interferon-gamma; IGF-1, Insulin-like growth factor-1; IL-12, Interleukin-12; IL-1, Interleukin-1; IL-10, Interleukin-10; IL-1 β , Interleukin-1 β ; IL-6, Interleukin-6; iNOS, Inducible nitric oxide synthase; LPO, Lipid peroxidation; LPS, Lipopolysaccharide; LTB-4, Leukotriene B4; MAPK, Mitogen-activated protein kinase; MDA, Malondialdehyde; MMP-13, Matrix metalloproteinase 13; MMP-2, Matrix metalloproteinase 2; MMP-8, Matrix metalloproteinase 8; MMP-9, Matrix metalloproteinase 9; MPO, Myeloperoxidase; NF- κ B, Nuclear factor kappa B; NR, Not reported; OPC, Oligomeric proanthocyanidins; PCL, Poly(ϵ -caprolactone); PI3K, Phosphoinositide 3-kinase; PRISMA, Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses; PROSPERO, International Prospective Register of Systematic Reviews; ROS, Reactive oxygen species; SAR, structure-activity relationship; SD, SpragueDawley; SOD, Superoxide dismutase; TG2, Transglutaminase 2; TGF- β 1, Transforming growth factor β 1; TIE, Tyrosine kinase; TIMP-1, Metalloproteinase inhibitor 1; TIMP-2, Metalloproteinase inhibitor 2; TNF- α , Tumor necrosis factor α ; TPA, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate; VEGF, Vascular endothelial growth factor; γ -PGA, Poly (γ -glutamic acid).

* Corresponding author at: Laboratory of Neuroscience and Pharmacological Assays (LANEF), Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Marechal Rondon Avenue, S/N, Rosa Elza, CEP: 49.000-100, São Cristóvão, SE, Brazil.

E-mail address: rosanasbarreto@pq.cnpq.br (R.S.S. Barreto).

<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153636>

Received 22 February 2021; Received in revised form 22 May 2021; Accepted 15 June 2021

Available online 19 June 2021

0944-7113/© 2021 Elsevier GmbH. All rights reserved.

ANEXO D: Cadastro no Prospero Artigo II

27/04/2023, 21:05

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=189592

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews

Wound healing properties of flavonoids: a systematic review highlighting the mechanisms of action

Heitor Gomes de Araujo Filho, Mikaella Tuanny Bezerra Carvalho

Citation

Heitor Gomes de Araujo Filho, Mikaella Tuanny Bezerra Carvalho. Wound healing properties of flavonoids: a systematic review highlighting the mechanisms of action. PROSPERO 2020 CRD42020189592 Available from: https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42020189592

Review question [1 change]

What mechanisms are involved in the wound healing activity of flavonoids in animal models?

Context and rationale

Wounds are a public health problem, related to increased public spending, in addition to impairing the quality of life of the affected population. In developed countries like the United States, chronic wounds affect more than 6.5 million patients with approximately 300, 000 hospitalized patients, exceeding more than \$ 25 billion in spending on health systems. Given the impact of costs related to the treatment of wounds, there is a great search for the development of new resources and technologies that act to accelerate the healing process, enabling an effective and low-cost treatment for patients.

Searches

We will search the following electronic bibliographic databases: PubMed, EMBASE, Scopus and Web of Science. The full search strategy is based on the search components: (((("flavonoidal"[All Fields] OR "flavonoide"[All Fields]) OR "flavonoides"[All Fields]) OR "flavonoidic"[All Fields]) OR "flavonoids"[MeSH Terms]) OR "flavonoids"[All Fields]) OR "flavonoid"[All Fields]) AND (("wound healing"[MeSH Terms] OR ("wound"[All Fields] AND "healing"[All Fields])) OR "wound healing"[All Fields]).

No publication date will be applied. We will screen the reference lists of included studies for additional eligible studies not retrieved by our search. The searches will be re-run just before the final analyses to retrieve the most recent studies eligible for inclusion.

Study designs to be included [1 change]

Inclusion criteria:

No restrictions on the types of study design eligible for inclusion.

Exclusion criteria:

No restrictions on the types of study design eligible for exclusion.

Human disease modelled

Wound Healing

Animals/population [1 change]

Inclusion criteria:

Any experimental model involving wound healing

Exclusion criteria:

Human studies

27/04/2023, 21:05

https://www.crd.york.ac.uk/prosperto/display_record.php?RecordID=189592**Intervention(s), exposure(s)** [1 change]***Inclusion criteria:***

Inclusion criteria: Any type of treatment using flavonoids in its pure form or its derivatives joint effects with other substances (including drugs or chemicals/biochemicals).

(We will not consider dosage, method, timing, and frequency. As long as the research groups used flavonoids as treatment to treat the animals, we will include these studies.)

Exclusion criteria:

Exclusion criteria: Plants or essential oils that contain Flavonoids; Flavonoids with other studies uncovering the current topic; Studies other than the flavonoids.

Comparator(s)/control [1 change]***Inclusion criteria:***

Inclusion criteria: untreated, vehicle treated, or treated with a different intervention

Exclusion criteria:

Exclusion criteria: all other control conditions; use flavonoids as control.

Other selection criteria or limitations applied [1 change]

Inclusion: No restrictions on dates and articles in English only.

Exclusion: Review articles, meta-analyses, abstracts, conference proceedings, editorials/letters and case reports.

Outcome measure(s) [1 change]***Inclusion criteria:***

Inclusion criteria: Any molecule that is part of a flavonoid wound healing cell signaling pathway.

Exclusion criteria:

Exclusion criteria: Indirect measures that do not show the possible mechanism of action of flavonoid.

Study selection and data extraction [1 change]***Procedure for study selection***

In the first stage, the searches will be conducted by two independent investigators, and their results will be compared.

Two reviewers (M.T.B.C. and H.G.A.F.) independently will read all titles and abstracts. In cases of non-consensus, a third independent review will be obtained. At a second stage, the reviewers will read full-length manuscripts and reached consensus about their inclusion. The articles that will meet all the established criteria were included.

Prioritise the exclusion criteria

Exclusion:

1. Plants or essential oils that contain Flavonoids;
2. Flavonoids with other studies uncovering the current topic;
3. Studies other than the flavonoids.
4. All other control conditions;
5. Use flavonoids as control;
6. Review articles, meta-analyses, abstracts, conference proceedings, editorials/letters and case reports.
7. Indirect measures that do not show the possible mechanism of action of flavonoid.
8. Human studies

Methods for data extraction

The same reviewers will conduct the initial data extraction independently. Studies excluded will be recorded, and the reasons for exclusion will be indicated in the flow chart. In case of articles not available, the main

27/04/2023, 21:05

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=189592

authors will be contacted only once to obtain a copy. If not possible, these articles will be excluded. In cases of non-consensus, a third independent review will be obtained.

Information that will be extracted from the included articles: will be extracted from text or table and summarized in tables (Author's name, publication year, Type of study, treatment concentrations, doses and route, animal used, wound model and Proposed mechanism of action will be included in the table.)

Data to be extracted: study design

Flavonoid treated animals versus control (saline, non-treated, sham, positive and/or negative) group. At least 2 experimental groups.

Data to be extracted: animal model

Animal specie, gender and cutaneous wound induction model.

Data to be extracted: intervention of interest

The dose and route of administration will be included.

Data to be extracted: primary outcome(s)

The main result is to know the intracellular signaling pathway proposed for wound healing activity. e.g. VEGF and TNF overexpression. The data type will be nominal because the result of each experiment is a non-quantifiable measure (name of a signaling molecule).

Data to be extracted: secondary outcome(s)

None

Data to be extracted: other

Bibliographical details, such as author and year.

Risk of bias and/or quality assessment

By use of SYRCLE's risk of bias tool.

Number of reviewers involved: 2 (MTBC and HGAF)

Contribution: Heitor and Mikaella will perform quality assessment independently and come together after done individually

Discrepancies: discrepancies will be resolved by the third author

Strategy for data synthesis [1 change]

Planned approach

The data from the eligible studies will be described in the narrative summary and summarized in tables and figures. The narrative synthesis aims to provide summaries of the results explained mainly in textual form.

The variables for summary and narrative analysis are: Author's name, publication year, Type of study, treatment concentrations, doses and route, animal used, wound model and Proposed mechanism of action. The results that will be synthesized qualitatively are: cell signaling proteins and wound areas.

We will use a sign to indicate increase (+) and decrease (-) or equal size (=) of the effect measured in the follow-up between the treatment and control groups. The narrative syntheses will present data in the form of tables for established patterns and variations.

Effect measure

N/A

Effect models

N/A

Heterogeneity

N/A

Other

N/A

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=189592

3/5

27/04/2023, 21:05

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=189592**Analysis of subgroups or subsets*****Subgroup analyses***

N/A

Sensitivity

N/A

Publication bias

N/A

Contact details for further information

Heitor Gomes de Araujo Filho
 heitorgaf@gmail.com

Organisational affiliation of the review

UFS

<http://www.ufs.br>**Review team members and their organisational affiliations**

Dr Heitor Gomes de Araujo Filho. UFS
 Ms Mikaela Tuanny Bezerra Carvalho. UFS

Review type

Pre-clinical animal intervention review

Anticipated or actual start date

31 May 2020

Anticipated completion date

16 August 2020

Funding sources/sponsors

CAPES and CNPq, Brazil.

Conflicts of interest**Language**

English

Country

Brazil

Stage of review

Review Ongoing

Subject index terms status

Subject indexing assigned by CRD

Subject index terms

Animals; Flavonoids; Wound Healing

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=189592

27/04/2023, 21:05

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?RecordID=189592**Date of registration in PROSPERO**

04 June 2020

Date of first submission

31 May 2020

Stage of review at time of this submission

Stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	No
Piloting of the study selection process	No	No
Formal screening of search results against eligibility criteria	No	No
Data extraction	No	No
Risk of bias (quality) assessment	No	No
Data analysis	No	No

The record owner confirms that the information they have supplied for this submission is accurate and complete and they understand that deliberate provision of inaccurate information or omission of data may be construed as scientific misconduct.

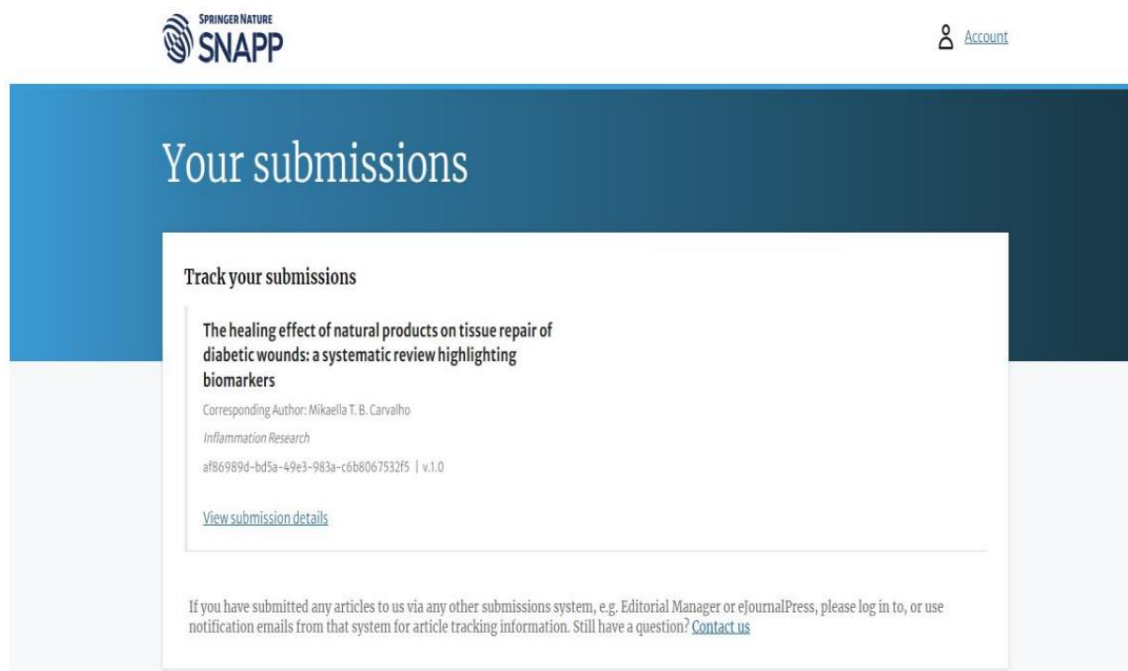
The record owner confirms that they will update the status of the review when it is completed and will add publication details in due course.

Versions

04 June 2020
04 June 2020

PROSPERO

This information has been provided by the named contact for this review. CRD has accepted this information in good faith and registered the review in PROSPERO. The registrant confirms that the information supplied for this submission is accurate and complete. CRD bears no responsibility or liability for the content of this registration record, any associated files or external websites.

ANEXO E: Submissão do artigo II - Front page e Comprovante de submissão**Aguardando parecer da revista: Inflammation Research, FI: 6,98**

The screenshot shows the 'Your submissions' page on the SNAPP (Springer Nature) platform. The page has a blue header with the SNAPP logo and an 'Account' link. The main content area is white and features a section titled 'Track your submissions'. This section displays the title of a submitted article, 'The healing effect of natural products on tissue repair of diabetic wounds: a systematic review highlighting biomarkers', along with the corresponding author's name, 'Mikaela T. B. Carvalho', and the journal name, 'Inflammation Research'. A unique submission ID and version number are also provided. A link to 'View submission details' is present. At the bottom of the section, there is a note about submitting articles via other systems and a 'Contact us' link.

SPRINGER NATURE
SNAPP

Account

Your submissions

Track your submissions

The healing effect of natural products on tissue repair of diabetic wounds: a systematic review highlighting biomarkers

Corresponding Author: Mikaela T. B. Carvalho

Inflammation Research

af86989d-bd5a-49e3-983a-c6b8067532f5 | v.1.0

[View submission details](#)

If you have submitted any articles to us via any other submissions system, e.g. Editorial Manager or eJournalPress, please log in to, or use notification emails from that system for article tracking information. Still have a question? [Contact us](#)

The healing effect of natural products on tissue repair of diabetic wounds: a systematic review highlighting biomarkers

Mikaella T. B. Carvalho^{a,b}, Heitor G. Araújo-Filho^a, André S. Barreto^{b,c}, Lucindo J. Quintans-Júnior^{a,b}, Jullyana S.S. Quintans^{a,b}, Rosana S. S. Barreto^{a,b*}

^aLaboratory of Neuroscience and Pharmacological Assays (LANEF). Department of Physiology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão-SE, Brazil.

^bHealth Sciences Graduate Program (PPGCS). Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil.

^cLaboratory Pharmacology Cardiovascular (LAFAC). Department of Physiology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão-SE, Brazil.

***Corresponding address:**

Mikaella Tuanny Bezerra Carvalho, MSc, Nurse, Laboratory of Neuroscience and Pharmacological Assays (LANEF), Physiology Department, Federal University of Sergipe, Marechal Rondon Avenue, S/N, Rosa Elza, CEP: 49.000-100, São Cristóvão-SE, Brazil.

Phone: 55 (87) 98813-8920

E-mail: mikaella.tuanny@gmail.com; mikaella_tuanny@hotmail.com.

ANEXO F: Texto para a comunidade I

Texto publicado na coluna Ciência e Saúde do Jornal da Cidade – Sergipe

CIÊNCIA E SAÚDE

EDITOR: PROF. DR. RICARDO QUEIROZ GURGEL

Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde – UFS

COORDENADORA: PROF. DRA. TATIANA RODRIGUES DE MOURA

O verão e os cuidados com as cicatrizes

Ainda estamos no verão e os dias são mais ensolarados e quentes em diversas regiões do país. Nesse período é comum o uso de roupas menores que expõem grandes regiões do corpo e também a prática de atividades diversas ao ar livre, proporcionando uma maior exposição da pele ao sol. Assim, com a radiação solar mais intensa nessa época, o risco de queimaduras, manchas e o cuidado com as cicatrizes devem ser uma preocupação, exigindo atenção redobrada com a pele na hora de curtir o calor.

A cicatrização é conhecida como uma reparação natural de um tecido lesado, que no final gera uma cicatriz. A qualidade e a velocidade desse processo dependem de vários fatores, tais como: o local e o tipo de lesão; profundidade; alimentação; hidratação e exposição excessiva ao sol, por exemplo. Em geral, o processo de reparação tecidual acontece em três fases: cicatrização, formação de fibrose e remodelamento.

Na formação de fibrose, o organismo cria fibras de colágeno que recobrem a região lesionada substituindo o tecido imaturo pré-existente. E qualquer alteração dos tecidos, resultantes nesse processo, é o que chamamos de cicatrizes. Dessa forma, a formação dessas cicatrizes depende de uma resposta adequada da pele à uma injúria. É durante a fase de remodelamento que acontece a maturação desse novo tecido. Ocorre o aumento gradual da resistência dessas fibras, em consequência da síntese e degradação coordenada e equilibrada das fibras de colágeno. Essa fase de maturação e remodelamento dura toda a vida da ferida, e se estabiliza so-

mente após 1 (um) ano da lesão. É importante ressaltar, que este novo tecido adquire em torno de 70% a 80% da resistência da pele anteriormente intacta, sendo a cicatriz uma região de tecido mais suscetível a ruturas.

Inicialmente, a cicatriz apresenta uma coloração avermelhada e depois de aproximadamente 6 (seis) meses vai ficando mais escura para posteriormente começar a clarear, geralmente este processo ocorre por volta de 1 (um) ano após a pele ter sofrido a lesão. A pele apresenta diversos tipos de células e uma delas é o melanócito, responsável pela produção do pigmento (melanina). Nos primeiros 3 (três) meses após uma lesão, a produção de melanina é mais intensa e nesse período é preciso manter um cuidado redobrado, pois, qualquer estímulo traumático (como a exposição ao sol), por menor que seja, é capaz de hiperativar os melanócitos, aumentando excessivamente a produção de melanina e tornando a pele cicatricial mais escura de forma irreversível.

Além da luz solar, a radiação ultravioleta é um dos maiores responsáveis pelos danos (envelhecimento e manchas) causados à pele. Podendo atuar de forma maléfica, dificultando a recuperação completa pós-lesão e interferindo na cicatrização e pigmentação da epiderme. O processo de cicatrização varia conforme cada organismo, e a exposição solar pode retardar todo o processo e suas fases.

Passado o período mais crítico, de 3 (três) meses, a melhor forma de proteger as cicatrizes do sol é através do uso do protetor solar (com alto fator de proteção) e roupas sobre as regiões

afetadas. As mãos, face, braços e antebraços, que são áreas mais expostas, precisam de uma atenção especial. Além do protetor solar e das blusas de proteção UV, o mercado disponibiliza de luvas e meias de proteção solar específicas para áreas com cicatrizes. O uso desses deve ser diário e recomendado por profissionais da dermatologia.

No verão, além dos cuidados com o sol a hidratação também é essencial, pois durante a formação das cicatrizes a região lesionada perde a capacidade de produzir hidratação como acontece com a pele intacta e acabam ficando mais ressecadas.

Portanto, em um país tropical como o nosso, ao aproveitar a praia, areia, rio ou piscina lembre-se: mantenha a pele hidratada; beba bastante água; evite ficar ao sol entre às 10:00 e 16:00 horas (período de maior radiação ultravioleta); use roupas leves e com proteção UV; passe filtro solar mesmo que não vá expor a pele diretamente ao sol e não exponha as áreas afetadas ao sol por no mínimo 1 (um) ano. Sabendo todos os cuidados com a pele, é possível aproveitar a estação mais quente do ano sem maiores problemas.

**Profa. Dra. Rosana de Souza Si-
queira Barreto** – Professora Associada do Departamento de Educação em Saúde Lagarto, Docente do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) e Ciências Aplicadas à Saúde (PPGCAS) da Universidade Federal de Sergipe.

**MSc. Mikaella Tuanny Bezerra Car-
valho** – Enfermeira e Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal de Sergipe.

ANEXO G: Texto para a comunidade II

Texto publicado na coluna Ciência e Saúde do Jornal da Cidade – Sergipe

CIÊNCIA E SAÚDE

EDITOR: PROF. DR. RICARDO QUEIROZ GURGEL

COORDENADORA: PROF. DRA. TATIANA RODRIGUES DE MOURA

Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde – UFS

Potencial dos flavonoides na Cicatrização

Considerado um dos maiores centros de biodiversidade vegetal do planeta, o Brasil apresenta inúmeros ambientes e floras específicas que foram introduzidos na cultura popular e utilizados para os mais diversos fins, entre eles o uso no tratamento de diferentes doenças agudas e crônicas. Nesse contexto, as espécies vegetais para o uso medicinal têm recebido atenção especial, pelos diferentes significados que estas assumem em nossa sociedade como recurso biológico e cultural, destacando seus potenciais genéticos para o desenvolvimento de novas drogas. Nos últimos anos, diversos estudos envolvendo plantas medicinais têm discutido o desenvolvimento de novos recursos e tecnologias com potencial para tratar diferentes tipos de feridas agudas e crônicas, com o mínimo de efeitos adversos, fácil aplicação, maior eficácia e baixo custo de tratamento para o paciente. Um dos grupos de produtos naturais mais importantes e promissores para o tratamento de lesões cutâneas são os flavonoides.

Considerado um grupo diversificado de fitonutrientes, os flavonoides são encontrados em todas as partes das plantas, desde a raiz até as folhas. Sua complexidade estrutural levou à sua subclassificação em 10 compostos de acordo com o seu processo de formação: antocianinas, leucoantocianidinas, flavonóis, flavonas, glicoflavonas, bioflavonóides, chalconas, auronas, flavanonas e isoflavonas. Devido à sua estrutura química básica (três anéis fenólicos) e a sua alta distribuição na natureza, os flavonoides se destacam por

apresentarem importantes propriedades farmacológicas no combate à inflamação, hipertensão, estresse oxidativo e demência. Dentre os flavonoides conhecidos estão a: naringina, naringenina, crisina, quercetina e curcumina, todos com capacidade de proporcionar um aumento significativo das taxas de epitelização, taxas de contração acelerada da ferida e modulação de citocinas inflamatórias. Esses compostos apresentam um papel fundamental para o tratamento de diversas doenças crônicas que causam lesões cutâneas como o diabetes mellitus - um problema que assola a população mundial e é uma das principais causas de amputação no mundo.

Uma excelente e bastante disponível fonte de flavonoides em nosso meio vem da casca das frutas cítricas, particularmente da laranja. A partir da maceração e extração dessas substância das cascas da laranja, conseguimos extrair compostos que, concentrados em forma de óleo, podem atuar em todas essas doenças já mencionadas e outras que estão sendo investigadas. Esta fonte de flavonoides está sendo bem investigada em nosso meio e a perspectiva é que essas novas atividades sejam comprovadas nos próximos anos.

Sabe-se que na escolha de um medicamento para o tratamento de lesões agudas e crônicas, devemos levar em consideração a complexidade das fases do processo de cicatrização e a heterogeneidade das feridas. Assim, drogas contendo flavonoides com propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e antioxidantes são vitais na promo-

ção do reparo de feridas, pois atuam em todas as fases do processo de cicatrização de feridas para que a reparação ocorra de maneira rápida e eficaz.

Vale ressaltar que uma das limitações dos flavonoides como tratamento promissor na cicatrização de feridas está em sua baixa solubilidade em água. Nesse contexto, a fim de superar essa baixa biodisponibilidade, estudos envolvendo flavonoides e estruturas em nanoescala têm sido desenvolvidos com o objetivo de aumentar a estabilidade e solubilidade, e reduzir os efeitos colaterais, tornando o uso terapêutico dessas substâncias mais seguro e eficiente entre eles estão: nanoemulsão, nanopartículas, lipossomas, nanocápsulas, nanofibras, hidrogel, membrana, gelatina e emulsão. No entanto, apesar dessas limitações, os flavonoides são ferramentas potenciais extremamente promissoras para uso no desenvolvimento de terapias de feridas pois podem trazer benefícios no que se refere à inflamação, à cicatrização de feridas e à prevenção ou recuperação de cicatrizes patológicas.

Profa. Dra. Rosana de Souza Siqueira Barreto – Professora Associada do Departamento de Educação em Saúde Lagarto, Docente do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) e Ciências Aplicadas à Saúde (PPGCAS) da Universidade Federal de Sergipe.

MSc. Mikaella Tuanny Bezerra Carvalho – Enfermeira e Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal de Sergipe.

ANEXO H: Texto para a comunidade III

Texto publicado na coluna Ciência e Saúde do Jornal da Cidade – Sergipe

CIÊNCIA E SAÚDE

COORDENADOR: PROF. DR. RICARDO QUEIROZ GURGEL

Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde – UFS

O isolamento social, as novas práticas e a saúde da pele

O isolamento social ainda continua sendo a melhor forma de conter a disseminação do coronavírus. Após um pouco mais de um ano desde o início da pandemia, o isolamento tem causado profundas mudanças (novas práticas) nas condições de vida de milhões de pessoas e muita preocupação no dia-a-dia da população que sofre diante das incertezas sobre a progressão da COVID-19. Tudo isso tem gerado consequências significativas na saúde geral e em doenças crônicas coexistentes.

No Brasil, uma pesquisa realizada pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) constatou que durante a pandemia houve um aumento de 90% nos casos de depressão; 71% nas crises de ansiedade e 40% de estresse agudo. Algumas pessoas sensíveis ao estresse, portadores de transtornos ansiosos e depressivos, pioram muito com a experiência de quarentena, principalmente pela perda de liberdade. Segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD), já é comprovado que estressores psicológicos são gatilhos para o aparecimento ou piora de doenças cutâneas. A presença desses estressores, tanto internos quanto externos, rompem o equilíbrio do organismo, estimulando uma série de reações do sistema neuroendócrino afetando vários aspectos imunológicos das doenças da pele, como a dermatite atópica (DA).

Considerada uma doença psicodermatológica, DA é caracterizada principalmente pela perda da barreira epidérmica associada à inflamação crônica da pele, gerando prurido (coceira), xerose cutânea (pele seca), além de sensibilização epidérmica e imunológica. Suas causas envolvem fatores ambientais que interagem com os defeitos da barreira genética da pele, além da superexpressão de

fatores imunes como células Th2, as quais estão envolvidas na ativação da resposta inflamatória. Devido à sua forma clínica intensa com lesões de pele eczematosas (avermelhadas) que podem ocupar grandes áreas expostas como a face e os membros superiores, a qualidade de vida dos pacientes com DA também é afetada com episódios de constrangimento, estigmatização e vergonha.

As recomendações para conter a disseminação do vírus como a lavagem cuidadosa das mãos e o uso frequente de antissépticos tópicos podem levar ao agravamento da DA. Na verdade, a lavagem e higienização das mãos por repetidas vezes levam a uma maior ruptura da barreira da pele e subsequente eczema das mãos. Uma pesquisa realizada na China em maio de 2020, constatou que a DA afetou mais de 97% dos profissionais da saúde devido as recomendações dos cuidados de higiene e ao uso prolongado dos equipamentos de proteção individual (EPI).

A ciência hipotetiza que neste período de isolamento social muitas pessoas diminuíram a prática de atividade física e a rotina correta de alimentação. Isso tem contribuído para o aumento de uma dieta rica em gorduras saturadas, carboidratos refinados e aumento de peso, e o consequente surgimento e exacerbação da DA. A redução da atividade física, é um fator pró-inflamatório importante que pode induzir ao aumento das crises de dermatite. Somados a isso, é possível que o isolamento social também esteja associado à menor exposição à luz solar e que, juntamente com a alta temperatura e uma baixa umidade, estes fatores podem exercer um efeito imunossupressor na DA.

A DA não tem cura conhecida e seu risco multifacetado e fisiopatológico

representam um desafio para um tratamento eficaz. A prevenção deve envolver o controle da doença com reposição da barreira cutânea e o estabelecimento de uma rotina diária de cuidados com a pele. Isso requer o monitoramento dos gatilhos da DA; ingestão de água abundante; hidratação cutânea constante; aderência ao tratamento medicamentoso; alimentação adequada; prática de exercício físico; exposição ao sol frequente e a educação continuada dos familiares e do paciente sobre a doença. Evidências científicas sugerem que a DA é melhor controlada quando existe atuação de uma equipe multiprofissional constituída de médicos especialistas (como dermatologistas, pediatras e alergistas), enfermeiros, psicólogos, educadores físicos e nutricionistas para abordar a conduta terapêutica, fatores psicossociais e aqueles referentes à qualidade de vida geral do paciente. Esses são tempos de muitos desafios para o cuidado da pele! Portanto, diante do cenário atual, atentar para essas práticas podem ajudar a aumentar a hidratação, reduzir a secura, inflamação e coceira cutânea. Afinal, a nossa pele é o maior e mais eficaz inibidor de patógenos que possuímos.

**Profa Dra. Rosana de Souza Si-
queira Barreto** - Professora Asso-
ciada do Departamento de Edu-
cação em Saúde Lagarto, Docente
do Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde (PPGCS) e Ciên-
cias Aplicadas à Saúde (PPGCAS) da
Universidade Federal de Sergipe.

**MSc. Mikaella Tuanny Bezerra
Carvalho** - Enfermeira e Doutoran-
da do Programa de Pós-graduação
em Ciências da Saúde (PPGCS) da
Universidade Federal de Sergipe.

ANEXO I: Texto para a comunidade IV

Texto publicado na coluna Ciência e Saúde do Jornal da Cidade – Sergipe

CIÊNCIA E SAÚDE

EDITOR: PROF. DR. RICARDO QUEIROZ GURGEL

COORDENADOR PPGCS: PROF. DR. ANDRÉ SALES BARRETO

Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde – UFS

Plantas medicinais e seu papel promissor no desenvolvimento de pesquisas para o manejo de feridas diabéticas

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), o diabetes mellitus (DM) é considerado um distúrbio endócrino, e uma das mais frequentes doenças crônicas não contagiosas com proporções epidêmicas. Atingindo todas as faixas etárias, sem distinção de sexo, etnia e condição socioeconômica, o DM quando não diagnosticado, controlado ou tratado adequadamente pode apresentar complicações com elevada morbidade e mortalidade.

Segundo relatório pela Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2010 existiam 285 milhões de diabéticos, e para o ano de 2030 estima-se, em todo o mundo, que o número possa chegar a 435 milhões de indivíduos. Sabe-se que o impacto global do diabetes, incluindo DM tipo 1 e tipo 2, é alarmante, custando aos sistemas de saúde mais de US\$ 800 bilhões.

Segundo a International Diabetes Federation (IDF), em 2019, o Brasil estava entre os cinco países no mundo com o maior número de diabéticos, estimado em 16,8 milhões de pessoas, tendo um aumento de 61,8% dos casos nos últimos 10 anos. Um estudo brasileiro de 2018 estimou que havia 829.724 possíveis indivíduos com neuroisquemia devido ao diabetes, dos quais 43.726 teriam úlceras nos pés, e que se metade desses pacientes tivessem uma úlcera crônica infectada, isso resultaria em 11.284 amputações.

No estado de Sergipe, o Hospital de Urgências de Sergipe (HUSE), localizado em Aracaju-SE, tem relatado nos oito primeiros meses de 2022 um total de 606 procedimentos cirúrgicos de amputação, sendo o DM a doença responsável por 90% dessas cirurgias. Assim, há um alto grau de morbimortalidade, grande impacto psicológico, social e econômico para o paciente, além de altos custos para o sistema de saúde, tornando as feridas diabéticas um grave problema de saúde pública e um desafio mundial para profissionais e pesquisadores.

Apesar dos avanços da ciência e tecnologia e do surgimento de inúmeras terapias farmacológicas para o manejo das feridas diabéticas, o tratamento na maioria das vezes é um desafio altamente complexo. A busca por formulações farmacêuticas que possam acelerar o processo de cicatrização aumenta a cada dia e desafios como efeitos colaterais indesejados, desenvolvimento de

resistência por microorganismos, bem como o alto custo dos medicamentos, voltaram a atenção dos pesquisadores para as fontes naturais de produtos para o tratamento de feridas diabéticas.

Considerado o país que detém a maior biodiversidade de espécies naturais do planeta, o Brasil é fonte de substâncias biologicamente ativas e a sua preservação é fundamental tanto pelo valor intrínseco dessa imensa riqueza biológica como pelo seu enorme potencial como fonte de novos fármacos. Pesquisas realizadas no Brasil mostram que 91,9% da população já fez uso de alguma planta medicinal, seja para prevenção ou para o tratamento de doenças.

No âmbito das feridas, as plantas medicinais desempenham um grande papel no processo de reparação tecidual com atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianas, angiogênicas e aumento na síntese de pró – colágeno. Na literatura, existem vários estudos sobre compostos naturais com potencial para promover a reparação tecidual e que podem ser usados como tratamento eficaz ao longo das várias fases do processo de cicatrização de feridas, como: Papaina, Babosa, Aroeira, Folha da goiaba, Barbatimão, Copaíba, Calêndula, Erva baleeira e outros. Deste ponto de vista, os produtos naturais não só constituem um imenso recurso de drogas bioativas com mecanismos de ação comprovados, mas também como ferramentas moleculares críticas para combater disfunções celulares endoteliais, desequilíbrios celulares, moleculares e bioquímicos, ou outras condições de doença do DM que possam ter efeitos prejudiciais no processo de cicatrização de feridas, impedindo o sucesso da reparação cutânea.

Na desafiadora condição climática do semiárido nordestino onde vivemos, as descobertas de novas drogas despertam ainda mais a atenção de pesquisadores e comunidades locais para o potencial cicatrizante de plantas nativas da região. Em um ambiente marcado pela escassez de recursos hídricos e adversidades climáticas, as plantas mesmo assim têm apresentado importante atividade na cicatrização de feridas. Estudos recentes têm identificado compostos bioativos em espécies que demonstram propriedades curativas notáveis como a aroeira (*Schinus terebinthifolia*), o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), a goiabeira (*Psidium guajava*),

o mandacaru (*Cereus jamacaru*), o mas-truz (*Dysphania ambrosioides*), a babosa (*Aloe vera*) e a canela de velho (*Miconia Albicans*). Uma das mais recentes pesquisas com o sambacaitá ou canudinho (*Hyptis pectinata*), realizadas pelo nosso grupo na UFS, tem revelado resultados positivos para a cicatrização de feridas abertas. À medida que o conhecimento popular se encontra com a ciência moderna, abre-se uma nova perspectiva para o desenvolvimento de produtos naturais e terapias que podem beneficiar não apenas os habitantes locais, mas também aqueles que buscam alternativas sustentáveis na medicina e na indústria cosmética. Este é um exemplo inspirador de como a riqueza da biodiversidade nordestina também pode oferecer soluções inovadoras em meio às adversidades.

Diante disso, embora existam diversas estratégias e metodologias disponíveis para que se possa sintetizar e desenvolver novos produtos através das plantas medicinais, estudos envolvendo a eficácia, segurança e qualidade devem ser realizados com a finalidade de comprovar e garantir o uso seguro na prática clínica. No entanto, são necessários estudos químicos e farmacológicos, visto que, embora sejam produtos de origem natural, o uso indiscriminado pode promover efeitos adversos. Estes compostos podem ainda apresentar algumas substâncias nocivas, ou interação medicamentosa, nas situações de politerapia farmacológica. Além disso, vale ressaltar que em um mundo de constantes mudanças, onde a sociedade está vivenciando a era do conhecimento, o desenvolvimento continua sendo impulsionado pela ciência, tecnologia e inovação, e o financiamento da pesquisa científica é um importante fator para os avanços tecnológicos, econômicos e sociais de um país.

Profa. Dra. Rosana de Souza Siqueira Barreto – Professora Associada do Departamento de Educação em Saúde Lagarto, Docente do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) e Ciências Aplicadas à Saúde (PPGCAS) da Universidade Federal de Sergipe.

MSc. Mikaela Tunny Bezerra Carvalho – Enfermeira e Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal de Sergipe.

ANEXO J: Menção Honrosa no IX Simpósio Plantas Medicinais do Vale do São Francisco e 3rd France-Brazil Meeting on Natural Product



ANEXO K: Menção Honrosa no IX Simpósio Plantas Medicinais do Vale do São Francisco e 3rd France-Brazil Meeting on Natural Product



ANEXO L: Tabela 1: Visão geral das características dos estudos incluídos.

País/Ano	Flavonoide	Grupo Controle	Subclasse	Dose/ Concentração (via)	Modelo/Método	Espécie animal	Resultados	Mecanismo de ação proposto	Referências
China, 2020	Isoliquiritina	DMSO (Dimetil Sulfóxido) (-)	Isdelavonoide	100, 200 µg/ml (imersão)	Modelo de ferida de espessura total	Ferida em <i>zebrafish</i>	Promoveu resposta inflamatória e angiogênese, que desempenhou papéis importantes na promoção da cicatrização de feridas	Aumento da expressão de VEGF-a, Flk-1, Ang-2, tie-1, TGF-β, IL-1β, MMP-13, MMP-9 e SOD1 Redução de TNF-α	(LIU Y.-Y. et al., 2020)
Irã, 2020	Naringenina	Gaze Estéril (-)	Flavanonas	1%, 10% e 20% (incorporados em adesivo no local da lesão)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos Wistar machos	O grupo alginato + 20% naringenina teve o melhor fechamento da ferida entre os outros grupos	Não Relatado (NR)	(SALEHI M. et al., 2020)
Rússia, 2020	Diidromiricetina e diidroquercetina	Solução Salina (-)	Flavanol	NR	Modelo de infecção purulenta	Ratos Wistar machos	Droga promissora de uso tópico para tratamento de úlceras tróficas e queimaduras	NR	(SHEVELEV A.B. et al., 2020)

Índia, 2020	Quercetina	NR	Flavonol	0,03%, 0,1% e 0,3% (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	Melhora da cicatrização de feridas pela modulação de citocinas e fatores de crescimento	Aumento de IL-10, VEGF e TGF- β 1 e diminuição de TNF- α	(CHOUDHARY A. et al., 2020)
China, 2020	Quercetina	NR	Flavonol	10, 20 e 40 mg/ml (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos (diabéticos)	O tratamento inibiu as reações inflamatórias e acelerou o reparo da ferida diabética	Aumento de macrófagos M2, IL- 10, CD31 e VEGF- α Redução de macrófagos M1, IL-6 e TNF- α	(FU et al., 2020)
Irã, 2020	Hesperidina	Gaze Estéril (-)	Flavanonas	1 e 10% (tópico)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos Wistar machos	O tratamento aumentou a taxa de contração da ferida	NR	(BAGHER et al., 2020)
Paquistão, 2019	Curcumina	Rifampicina (+)	Polifenol	10, 20, 30 mg/ml (tópico)	Queimadura de 2º grau	Coelhos machos	Aumentou a taxa de contração da ferida acelerando o processo de reparação tecidual	NR	(ABBAS et al., 2019)
Turquia, 2019	Kaempferol	NR	Flavonol	0,5 e 1% (tópico)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos Wistar diabéticos e não diabéticos	Mostrou efeitos anti- inflamatórios nas feridas incisionais e excisionais	NR	(OZAY et al., 2019)
Irã, 2019	Crisina	NR	Flavona	Crisina: 5, 10 e 15%; Crisina + Curcumina: 5,7,5 e 10% (tópico)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos Wistar	O tratamento apresentou propriedades anti- inflamatórias em várias etapas do processo de cicatrização de feridas	Aumento de IL-6, MMP-2, TIMP-1 e TIMP-2 Redução de iNOS	(MOHAMMADI et al., 2019)

Índia, 2019	EGCG (Epigallocatequina- galato)	NEOskin (+)	Flavanol	(tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar	O tratamento mostrou aumento da taxa de contração da ferida, aceleração do processo de cicatrização e efeitos anti-inflamatórios	Aumento do KI67 e VEGF Nenhuma alteração significativa foi observada nos níveis de ALT, AST, uréia e creatinina Redução de TNF- α e IL-6	(KAR et al., 2019b)
China, 2019	Puerarina	PBS (Tampão Fosfato Salino) (-)	Isoflavona	0, 5 e 10 mg/mL (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	O tratamento mostrou efeitos antioxidantes e aceleração do processo de cicatrização	Aumento SOD e GPx Redução de MDA	(ZHANG et al., 2019)
Taiwan, 2019	NR	Solução Salina (-)	Proantocianidinas	10% (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Sprague Dawley (SD)	Hidrogéis contendo proantocianidinas são materiais de curativos promissores para o tratamento de feridas cutâneas	NR	(LIU et al., 2019)
Índia, 2019	Quercetina	Gaze Estéril (-)	Flavonol	(tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	Validou a aplicação de nanofibras contendo ciprofloxacina HCl e quercetina como um potente curativo para feridas	Restaurou os níveis de SOD e CAT	(AJMAL et al., 2019)

Índia, 2019	Icariina	NR	Flavonol	0.004%, 0.02%, 0.1% e 0.5% (tópico)	Modelo de ferida excisional	Ratos Wistar machos	Tem potencial para acelerar a cicatrização de feridas cutâneas em ratos	Aumento da expressão de IL-10 e diminuição da expressão de NF- κ B e TNF- α Aumento da expressão de CD-31 Redução de MMP-2 e MMP-9	(SINGH et al., 2019)
China, 2019	EGCG	NR	Flavanol	10 mg/ml (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos diabéticos machos	O tratamento apresentou propriedades anti- inflamatórias	Redução de IL-6, IL-1 β e TNF- α	(HUANG Y.- W. et al., 2019)
Irã, 2018	Hesperidina	NR	Flavanona	100 mg/kg (oral)	Irradiação da pele usando cobalto-60	Ratos SD	Aceleração da cicatrização de feridas, em particular, de lesões cutâneas induzidas por radiação	Superexpressão de VEGF	(HADDADI et al., 2018)
China, 2018	Apigenina	PBS (-) Aquaphor (+) Mupirocina (+)	Flavona	0.1 g (tópico)	Modelo de lesão cutânea com fita de autoclave	Camundongos BALB/c fêmeas livres de patógenos específicos	Potencial para utilização como agente antimicrobiano tópico contra <i>S. aureus</i> e cicatrização de feridas	Redução dos níveis de TNF- α , IL-1 β , e IFN- γ	(CHENG et al., 2018)
Turquia, 2018	Luteolina	NR	Flavona	0.5 % e 1 % (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	Melhora do processo de cicatrização do tecido cutâneo, tanto em feridas diabéticas como nas não diabéticas	NR	(OZAY et al., 2018)

China, 2018	Hesperidina	Água Destilada (-)	Flavanona	25, 50 e 100 mg/kg (oral)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos SD	Aceleração da angiogênese e vasculogênese e melhora da cicatrização de feridas	Regulação positiva de VEGF-c, Ang-1/Tie-2, TGF- β e expressão do mRNA de SMAD-2/3	(LI et al., 2018)
China, 2018	Icariina	PBS (-)	Flavonol	30 μ M (injetado no tecido circundante)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos SD	Pode ser um fármaco promissor para promover a migração e proliferação de queratinócitos, acelerando o processo de cicatrização de feridas	Ativação de AKT e ERK Inibição de IL-6 e TNF- α e indução de IL-10	(MI B. et al., 2018)
Índia, 2018	Morina	Gaze de algodão (-)	Flavonol	0,5% e 1% (tópico)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos diabéticos machos	Reduziu o tempo de reepitelização e aumentou a taxa de contração da ferida acelerando a síntese de colágeno	NR	(PONRASU et al., 2018)
Irã, 2018	Naringina	Gaze estéril (-)	Flavanona	1.50 %, 3 % e 6 % (tópico)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos Wistar machos	Aumentou a taxa de contração da ferida, acelerando a síntese de colágeno	NR	(SALEHI et al., 2018)
Egito, 2018	Quercetina	NR	Flavonol	25 mg/kg (oral)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos diabéticos machos	Promoveu melhorias nas citocinas envolvidas na inflamação e no sistema de defesa antioxidante, bem como na melhoria da cicatrização de feridas	Aumento de IL-10 e GSH Redução de IL-1 β , TNF- α , PGE-2, LTB-4 e LPO	(AHMED et al., 2018)

Coreia, 2017	Glicitina	DMSO (-) Madecassol (+) Fucidine (+)	Isoflavonas	200 µl (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Camundongos machos e fêmeas	O tratamento promoveu regeneração epidérmica e ativação dérmica	Aumento da expressão de KRT5, KRT14, KRT10, KRT1, e TGF-β1	(SEO et al., 2017)
Irã, 2017	Crisina	NR	Flavona	Crisina: 5, 10 e 15% (tópico)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos Wistar	O tratamento apresentou propriedades anti-inflamatórias em várias fases do processo de cicatrização da ferida	Aumento de IL-6, MMP-2, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2 Redução de iNOS e p53	(MOHAMM ADI et al., 2017)
Índia, 2017	Quercetina	Solução Salina (-)	Flavonol	(tópico)	Modelo de ferida excisional de espessura total	Ratos Wistar	Aumento da taxa de contração da ferida, acelerando a síntese de colágeno	NR	(VEDAKUM ARI et al., 2017)
Arábia Saudita, 2017	Naringenina	NR	Flavanona	25, 50 e 100 mg/kg/dia (suplementação oral)	Queimadura de primeiro grau	Ratos Wistar machos	O tratamento mostrou efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes	Redução de, TNF-α, IL-6, NO, IL-1β, PGE2, caspase-3, LTB4 e NF-κB Restaurou os níveis de TBARS e GSH Aumento de GST, GPx, SOD e CAT	(AL- ROUJAYEE, 2017)
Índia, 2017	Quercetina	DMSO (-)	Flavonol	0.1, 1.0 e 10.0 % (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	A quercetina a 0,1% apresenta propriedades cicatrizantes	Não há diferenças significativas para os valores de SOD, tióis totais, radicais O2- e níveis de MDA	(KANT V. et al., 2017)

Egito, 2017	Rutina	NR	Flavonol	0.5 ml - 0.025% p/v (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar albinos machos	A liberação sustentada de rutina numa forma solubilizada pode ter um potencial efeito de cicatrização de feridas	Redução do nível de MDA e aumento de GSH e CAT	(ASFLOUR et al., 2017)
República da Coreia, 2016	Genisteína	NR	Isoflavona	0.025% e 0.1% (via oral)	Modelo de ferida de espessura total	Camundongos ICR fêmea diabéticas	Potencial terapêutico na prevenção e tratamento de feridas crônicas pela modulação da inflamação e estresse oxidativo durante a fase inflamatória	Redução de TNF- α , iNOS, COX2 e NF κ B Aumento de Nrf2, HO-1, GPx, e CAT Restabelecimento de NLRP3, ASC e caspase-1 ao nível basal	(EO; LEE; LIM, 2016)
China, 2016	EGCG	NR	Flavanol	10 mg/kg (intraperitoneal)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	Promoveu a cicatrização de feridas cutâneas provavelmente através de seus efeitos combinados na modulação da inflamação crônica.	Redução dos níveis de TNF- α , IL-1 β e IL-6	(LI et al., 2016)
Grécia, 2016	Quercetina	NR	Flavonol	0.30ml/4 cm ² (tópico)	Modelo de queimadura de 2º grau	Ratos Wistar fêmeas	Pode ser um tratamento alternativo para queimaduras	NR	(GOUMA F. et al., 2016)

Índia, 2016	Quercetina	NR	Flavonol	0.1% (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	Promoveu a cicatrização de feridas modulando as citocinas, os fatores de crescimento e as células envolvidas nas fases inflamatória e proliferativa da cicatrização	Aumento de VEGF, TGF- β 1, IL-10 e CD31 Redução de TNF- α	(GOPALAK RISHNAN et al., 2016)
Índia, 2016	Naringina	Sulfato de Framicetina (+)	Flavanona	1, 2 e 4% (tópico)	Modelo de ferida excisional e incisional	Ratos Wistar machos	O tratamento exerce potencial para cicatrização de feridas através da expressão regulada da fase inflamatória,	Níveis restaurados de SOD, GSH, MDA, MPO, NO Aumento da regulação de mRNA de SMAD-3, VEGF e TGF- β e colágeno tipo1 Redução de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, NF- κ B, SMAD-7 e Bax	(KANDHAR E A.D. et al., 2016)
Índia, 2016	Apigenina	Betadine (+)	Flavona	NR	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar diabéticos	O tratamento apresentou propriedades antioxidantes	Aumento da regulação de SOD, GSH e CAT	(SHUKLA et al., 2016)
Japão, 2015	Cinamtanina B-1	PBS (-)	Proantocianidinas	1.2 e 2.4 μ g/ferida (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Camundongos C57BLKS/JLepr ^{db} fêmeas	Promoveu a migração de células-tronco mesenquimais in vivo e melhorou a cicatrização de feridas em camundongos	NR	(FUJITA et al., 2015)

Italia, 2014	Quercetina	NR	Flavonol	20 µl (tópico)	TPA dissolvido em acetona	Camundongo Hsd: ICR (CD-1)	Preveniu a formação de lesões cutâneas anulando os vários processos bioquímicos que causam perda epitelial e danos a pele	A atividade da MPO foi inibida.	(CASTANGI A et al., 2014)
Índia, 2014	Naringina	Água destilada (-)	Flavanona	20, 40 e 80 mg/kg (oral)	Modelo úlcera do pé diabético	Ratos Wistar machos diabéticos	Diminuição do atraso na cicatrização de úlceras diabéticas crônicas	Diminuição da expressão de TNF- α , IL-1 β e IL-6 Aumento da expressão de IGF-1, VEGF-c, Ang-1, TGF- β Aumento de SOD e GSH Redução de MDA e MPO	(KANDHAR E; GHOSH; BODHANK AR, 2014)
Espanha, 2014	Apigenina	Gaze estéril (-)	Flavona	5 mg/dia (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos SKH- 1/CRL machos	Evidenciou uma reepitelização mais rápida no 7º dia pós lesão	NR	(LOPEZ- JORNET et al., 2014)
Índia, 2013	Luteolina	Iodopovidona (+)	Flavona	0,2 e 0,5% (tópico)	Irritação dérmica	Ratos Wistar diabéticos	O tratamento apresentou propriedades antioxidantes	Aumento da regulação de SOD, GSH e CAT	(LODHI; SINGHAI, 2013)

China, 2013	Genisteína	NR	Isoflavona	0.2, 1 e 5mg/kg/dia (subcutâneo)	Modelo de ferida de espessura total	Camundongos C57BL/6 machos	Recuperou a cicatrização retardada da ferida e melhorou a angiogênese	Supressão de FoxO1, da atividade de iNOS e do estresse oxidativo	(TIE et al., 2013)
Índia, 2013	Quercetina	Novobiocina (+) Cloranfenicol (+)	Flavonol	200 µg /ml e 100 µg /ml (tópico)	Ferida tipo excisão aberta	Ratos Albinos Wistar	Tem uma atividade cicatrizante e antibacteriana significativa	NR	(RAJAMANI CKAM; KALAIVAN AN; SIVAGNAN AM, 2013)
Índia, 2013	EGCG	Solução Salina (-)	Flavanol	~120 g/ml e ~160 g/ml	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	Proporcionou condições ideais para a cicatrização ininterrupta de feridas	Aumento da expressão de MMPs – 2 e 9	(JAISWAL M. et al., 2013)
Nova Zelândia, 2012	ECG	NR	Flavanol	0.8 mg/ml (intradérmica)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar recém-nascidos machos	Melhora da cicatrização de feridas e redução da formação de cicatrices	Aumento da atividade total de NOS e iNOS	(MCKELVE Y; APPLETON, 2012)
Irã, 2012	Silimarina	NR	Flavolignanas	6, 12 mg/ml (tópico)	Modelo de defeito cutâneo de espessura total	Ratos Wistar	Modulou os processos inflamatórios e celularidade total e melhorou a maturidade celular e tecidual	NR	(ORYAN et al., 2012)

Japão, 2012	Daidzeína	NR	Isoflavona	70-75 mg/dia (oral)	Modelo de ferida de espessura total	Camundongos fêmeas	Reduziu a área da ferida durante a fase inflamatória e promoveu a reepitelização	NR	(YAMAGUCHI K. et al., 2012)
Rússia, 2012	Taxifolina	NR	Flavanonol	1ml (tópico)	Queimadura química (ácido acético)	Ratos Wistar machos	Promoveu processos proliferativos na epiderme e diminuição do processo inflamatório	NR	(SHUBINA; SHATALIN, 2012)
Brasil, 2011	Rutina	NR	Flavona	0.5g (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar machos	Melhora da cicatrização de feridas cutâneas	Aumento de CAT	(ALMEIDA et al., 2012)
República da Coreia, 2011	Genisteína	NR	Isoflavona	0.025% e 0.1% (via oral)	Modelo de ferida de espessura total	Camundongos ICR fêmeas	Redução do estresse oxidativo e modulação da expressão de citocinas pró-inflamatórias durante a fase inicial da cicatrização de feridas	Redução da expressão de Cu, Zn-SOD e Mn-SOD e a expressão de CAT não diferiu	(PARK et al., 2011)
Coreia, 2010	EGCG	Água destilada (-)	Flavanol	1 mg/100 g por peso corporal (oral)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Sherman machos	Aumentou a força de ruptura na ferida da incisão e aumentou a porcentagem de contração da ferida	NR	(QIN Y. et al., 2010)

Italia, 2010	Genisteína	NR	Isoflavona	1 e 10 mg·kg ⁻¹ (subcutâneo)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos SD fêmeas	A genisteína foi eficaz em melhorar a cicatrização da pele e resistência à tração da ferida	Aumento da expressão de TGF-β1, TG2 e VEGF	(MARINI et al., 2010)
Japão, 2008	EGCG	NR	Flavanol	0.1 mL (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos BKS geneticamente diabético (Cg-1 Leprdb/1Leprdb /JCL)	Melhora da cicatrização de feridas em camundongos diabéticos pela aceleração da reepitelização e angiogênese	Aumentou a imunoreatividade de Ki-67, CD31 e a- actina de músculo liso	(KIM et al., 2008)
Nova Zelândia, 2004	ECG	Solução Salina (-)	Flavanol	0.8 mg/ml (intradérmica)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos SD machos	O ECG pode melhorar significativamente a qualidade da cicatrização de feridas	Regulação positiva de VEGF, COX e iNOS	(KAPOOR et al., 2004)
Índia, 2003	Quercetina	Colágeno (+)	Flavanol	1 ml (tópico)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos Wistar	Aumento da taxa de contração da ferida	NR	(GOMATHI et al., 2003)
Suiça, 1979	Rutina	NR	Flavanol	300-400 mg/kg (oral)	Modelo de ferida de espessura total	Ratos SD machos	Promoveu a cicatrização de feridas	NR	(WILHELM, 1979)

Fonte: Própria do autor.

SIGLAS: ALT, Alanina aminotransferase; Ang-1, Angiopietina-1; AST, Aspartato aminotransferase; CAT, Catalase; COX, Ciclooxygenase; ECG, Epicatequina galato; EGCG, Galato de epigallocatequina; ERK, quinase regulada por sinal extracelular; GPx, Glutathiona peroxidase; GSH, Glutathiona reduzida; GST, Glutathiona S-transferase;

IFN- γ , Interferon-gama; IGF-1, fator de crescimento semelhante à insulina-1; IL-12, Interleucina-12; IL-1, Interleucina-1; IL-10, Interleucina-10; IL-1 β , Interleucina-1 β ; IL-6, Interleucina-6; iNOS, óxido nítrico sintase induzível; LPO, peroxidação lipídica; LPS, Lipopolissacarídeo; LTB-4, Leucotrieno B4; MAPK, proteína quinase ativada por mitógeno; MDA, Malondialdeído; MMP-13, Metaloproteinase de matriz 13; MMP-2, Metaloproteinase de matriz 2; MMP-8, Metaloproteinase de matriz 8; MMP-9, Metaloproteinase de matriz 9; MPO, Mieloperoxidase; NF κ B, Fator nuclear kappa B; PI3K, Fosfoinosítídeo 3-quinase; ROS, espécies reativas de oxigênio; SOD, Superóxido dismutase; TG2, Transglutaminase 2; TGF- β 1, fator de crescimento transformador β 1; TIE, Tirosina quinase; TIMP-1, Inibidor da metalopeptidase 1; TIMP-2, Inibidor da metalopeptidase 2; TNF- α , Fator de necrose tumoral α ; TPA, 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato; VEGF, Fator de crescimento endotelial vascular; γ -PGA, Poli (ácido γ -glutâmico).