



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA**

**EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DA GLICITEÍNA EM
MODELO DE EDEMA DE ORELHA EM CAMUNDONGOS**

MARCIEL ROSA DE SALES

**SÃO CRISTÓVÃO
2025**

MARCIEL ROSA DE SALES

**EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DA GLICITEÍNA EM MODELO
DE EDEMA DE ORELHA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Enilton Aparecido Camargo

Coorientadora: Profa. Dra. Jéssica Maria Dantas
Araújo Aragão

**SÃO CRISTÓVÃO
2025**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S163e Sales, Marciel Rosa de
Efeito anti-inflamatório e antioxidante da gliciteína em modelo de edema de orelha em camundongos / Marciel Rosa de Sales ; orientador Enilton Aparecido Camargo. – São Cristóvão, SE, 2025. 77 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2025.

1. Agentes anti-inflamatórios. 2. Antioxidantes. 3. Edema. 4. Isoflavonas. I. Camargo, Enilton Aparecido, orient. II. Título.

CDU 612:615.262.1

MARCIEL ROSA DE SALES

**EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE DA GLICITEÍNA EM MODELO
DE EDEMA DE ORELHA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Enilton Aparecido Camargo

Coorientadora: Profa. Dra. Jéssica Maria Dantas
Araújo Aragão

Coorientadora: Profa. Dra. Jéssica Maria Dantas Araújo Aragão
Universidade Federal de Sergipe

1º examinador: Profa. Dra. Patrícia Rabelo dos Santos
Universidade Federal de Rondônia

2º examinador: Prof. Dr. Saulo Euclides Silva Filho
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

**SÃO CRISTÓVÃO
2025**

RESUMO

Efeito anti-inflamatório e antioxidante da gliciteína em modelo de edema de orelha em camundongos. Marciel Rosa de Sales, 2025

A inflamação é um evento protetor do organismo, mas pode causar danos teciduais quando excessiva. Considerando as doenças inflamatórias da pele e as limitações dos seus tratamentos convencionais, é interessante desenvolver terapias que possam ser administrados por via tópica. Nesse sentido, a gliciteína, uma isoflavona de soja, pode ser uma alternativa promissora. O presente estudo investigou os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes da gliciteína em modelo de inflamação cutânea aguda em camundongos. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe sob o protocolo nº 8947220923. Os animais receberam uma administração tópica de TPA (12-O-tetradecanoilforbol 13-acetato; 1 µg/orelha) na orelha direita, para induzir a inflamação, 5 min após seguiu-se o tratamento com a gliciteína (0,3, 1,0 ou 3,0 mg/orelha), veículo (acetona) ou dexametasona (0,05 mg/orelha). A eutanásia e retirada das orelhas ocorreu 6 h após. As análises das orelhas mostraram que a gliciteína reduziu o edema de orelha (24,2% $p=0,036$; 36,8% $p=0,0002$ e 33,2% $p=0,001$), a atividade de mieloperoxidase (90,1, 87,2 e 72,1%, $p<0,0001$ cada) e as concentrações teciduais de IL-6 (58,5% $p=0,0007$; 56,5% $p=0,0006$; 66,8% $p<0,0001$), IL-1 β (57,3% $p=0,0002$; 54,8% $p=0,0002$; 59,3% $p<0,0001$) e TNF- α (54,9% $p=0,011$; 61,2% $p=0,002$; 61,6% $p=0,002$), para 0,3, 1,0 e 3,0 mg/orelha respectivamente comparado ao grupo veículo. Na avaliação histológica, foram verificados edema e espessura dermo-epidérmica menos intensas no tratamento com as doses de 1,0 e 3,0 mg/orelha ($p<0,0001$, cada), mas não para a dose de 0,3 mg/orelha, em relação ao controle. Além disso, o tratamento com gliciteína diminuiu as concentrações de hidróperóxidos totais em 60,1% ($p=0,014$) e 81,4% ($p=0,0004$) para 1,0 e 3,0 mg/orelha, respectivamente. Ainda, a dose de 1,0 mg/orelha foi testada para atividade antioxidante e promoveu um aumento de 55,8% ($p=0,009$) para a atividade de catalase (CAT) e 76,3% ($p=0,001$) para a superóxido dismutase (SOD). Esses resultados demonstram que a gliciteína tem efeito anti-inflamatório e antioxidante no modelo de edema de orelha induzido por TPA em camundongos e possui potencial para contribuir para o desenvolvimento de novos tratamentos tópicos para doenças inflamatórias cutâneas.

Palavras-chave: anti-inflamatório; antioxidante; edema; isoflavonas.

ABSTRACT

Anti-inflammatory and antioxidant effect of glycitein on a mouse ear edema model. Marciel Rosa de Sales, 2025.

Inflammation is a protective factor for the body, but it can cause tissue damage when excessive. Considering inflammatory skin diseases and the limitations of their conventional treatments, it is interesting to develop therapies that can be administered topically. In this sense, glycitein, a soy isoflavone, may be a promising alternative. The present study investigated the anti-inflammatory and antioxidant effects of glycitein in a mouse model of acute skin inflammation. The study was approved by the Animal Use Ethics Committee (CEUA) of the Federal University of Sergipe under protocol number 8947220923. The animals received a topical administration of TPA (12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate; 1 µg/ear) in the right ear to induce inflammation. 5 min later, they were treated with glycitein (0.3, 1.0, and 3.0 mg/ear), vehicle (acetone), or dexamethasone (0.05 mg/ear). Euthanasia and removal of the ears occurred 6 h later. Ear analyses showed that glycitein reduced ear edema (24.2% $p=0.036$; 36.8% $p=0.0002$ and 33.2% $p=0.001$), myeloperoxidase activity (90.1, 87.2 and 72.1%, $p<0.0001$ each) and tissue concentrations of IL-6 (58.5% $p=0.0007$; 56.5% $p=0.0006$; 66.8% $p<0.0001$), IL-1 β (57.3% $p=0.0002$; 54.8% $p=0.0002$; 59.3% $p<0.0001$) and TNF- α (54.9% $p=0.011$; 61.2% $p=0.002$; 61.6% $p=0.002$), for 0.3, 1.0 and 3.0 mg/ear respectively compared to the vehicle group. In the histological evaluation, less intense edema and dermo-epidermal thickness were observed in the treatment with doses of 1.0 and 3.0 mg/ear ($p<0.0001$, each), but not for 0.3 mg/ear, in relation to the control. In addition, treatment with glycitein decreased the concentrations of total hydroperoxides by 60.1% ($p=0.014$) and 81.4% ($p=0.0004$) for 1.0 and 3.0 mg/ear, respectively. Furthermore, the dose of 1.0 mg/ear was tested for antioxidant activity and promoted a increase of 55.8% ($p=0.009$) for catalase (CAT) activity and 76.3% ($p=0.001$) for superoxide dismutase (SOD). These results demonstrate that glycitein has anti-inflammatory and antioxidant effects in the TPA-induced ear edema model in mice and has the potential to contribute to the development of new topical treatments for inflammatory skin diseases.

Keywords: anti-inflammatory; antioxidant; edema; isoflavones.

RESUMO PARA A COMUNIDADE

A inflamação é uma reação natural do nosso corpo, que acontece para nos proteger quando ocorrem infecções ou lesões nos nossos órgãos. No entanto, quando essa resposta é exagerada, pode ser muito ruim a ponto de não suportamos e precisarmos de tratamento. Diante das dificuldades que ainda existem nos tratamentos atuais para as doenças inflamatórias, os cientistas têm buscado novas alternativas. A gliciteína, por exemplo, é uma substância natural encontra em grãos como a soja. Ela tem propriedades benéficas já conhecidas pela ciência, quando é ingerida. Em nosso trabalho, propusemos que a gliciteína pode ser aplicada diretamente no local da inflamação e isso pode contribuir para o tratamento das doenças de pele. Assim, estudamos se a gliciteína pode ajudar a reduzir a inflamação e o desequilíbrio causado por excesso de radicais livres (substâncias que causam lesão ao organismo) na orelha de camundongos. Para isso, foi aplicada uma substância que causa inflamação (conhecida como TPA) e após cinco minutos, os animais foram tratados com diferentes doses de gliciteína ou com um medicamento anti-inflamatório amplamente utilizado, a dexametasona. Depois de 6 horas, as orelhas dos animais foram coletadas para análise. Os resultados mostraram que o tratamento com gliciteína reduziu a inflamação, pois verificamos a diminuição do inchaço na orelha (edema) e a redução da produção de substâncias produzidas no organismo, que aumentam a inflamação. Também observamos que a gliciteína diminuiu o efeito do excesso de radicais livres na orelha do camundongo, ajudando a proteger contra a inflamação. Em resumo, os dados mostram que a gliciteína tem efeito anti-inflamatório e antioxidante em um experimento de inflamação na pele de curta duração, e futuramente, após a realização de mais estudos, pode ser uma alternativa para o desenvolvimento de novos tratamentos aplicados na pele para doenças inflamatórias.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Processo de migração leucocitária na inflamação	17
Figura 2: Diagrama esquemático das subcamadas da epiderme.....	22
Figura 3: Estrutura química básica dos flavonoides e de suas subclasses.	27
Figura 4: Estrutura química das isoflavonas e do 17- β estradiol.....	28
Figura 5: Estrutura química da gliciteína	29
Figura 6: Delineamento experimental.....	36
Figura 7: Alterações macroscópicas nas orelhas após 6 horas da aplicação do TPA	41
Figura 8: O tratamento com gliciteína diminui o edema de orelha.	42
Figura 9: Análise morfológica das secções histológicas nos diferentes grupos experimentais.	44
Figura 10: Determinação da espessura dermo-epidérmica média nos diferentes grupos experimentais.	45
Figura 11: Mensuração da atividade de MPO nas orelhas.....	45
Figura 12: Concentração de IL-6 (A), IL-1 β (B), TNF- α (C) na orelha.	47
Figura 13: Concentração de hidroperóxidos totais	48
Figura 14: Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes CAT (A) e SOD (B) ...	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

·OH	Radical hidroxila
¹ O ₂	Oxigênio singleto
4-HNE	4-hidroxinonenal
AA	Ácido araquidônico
AINES	Anti-inflamatórios Não Esteróides
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i> (análise de variância)
BHT	<i>Butylated Hydroxytoluene</i> (hidroxitolueno butilado)
CAT	Catalase
CEUA	Comitê de Ética de Uso em Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Cuidados de Experimentação em Animais
COX	Ciclo-oxigenase
DAMPS	<i>Damage-associated Molecular Patterns</i> (padrões moleculares associados a danos)
DEXA	Dexametasona
DP	Desvio padrão
EGCG	Epigallocatequina-3-galato
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> (ensaio de imunoabsorção enzimática)
ERK	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i> (cinase regulada por sinal extracelular)
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HOCL	Ácido hipocloroso

ICAM-1	<i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i> (molécula de adesão intercelular-1)
IFN	Interferon
IL	Interleucina
iNOS	Inducible Nitric Oxide Synthase (óxido nítrico sintase induzível)
JNK	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i> (cinase N-terminal c-Jun)
LOX	Lipo-oxigenase
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i> (proteína quinase ativada por mitógeno)
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
NE	<i>Neutrophil Elastase</i> (elastase de neutrófilos)
NETs	<i>Neutrophil Extracellular Traps</i> (armadilhas extracelulares de neutrófilos)
NFκB	<i>Nuclear Factor Kappa-B</i> (fator nuclear kappa-B)
NO	<i>Nitric Oxide</i> (óxido nítrico)
NOX	NADPH oxidase
Nrf2	<i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i> (fator nuclear eritróide 2)
O ₂ ^{•-}	Ânion superóxido
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PAMPs	<i>Pathogen-associated Molecular Pattern</i> (padrões moleculares associados a patógenos)
PECAM-1	<i>Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1</i> (molécula de adesão endotelial plaquetária-1)
PGE2	Prostaglandina E2
PKC	<i>Protein Kinase C</i> (proteína quinase C)

PLA ₂	<i>Phospholipase A2</i> (fosfolipase A ₂)
ROO·	Radical peroxil
ROOH	Peróxidos orgânicos
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (espécies reativas de oxigênio)
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Species</i> (espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico)
TLR	<i>Toll-like Receptor</i> (receptor tipo toll)
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i> (fator de necrose tumoral)
TPA	12-O-tetradecanoilforbol 13-acetato
UVB	Ultravioleta B
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i> (molécula de adesão de célula vascular-1)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Inflamação	14
2.2 Estresse Oxidativo	18
2.3 Pele e inflamação cutânea	21
2.4 Produtos naturais no tratamento de condições inflamatórias	25
2.5 Gliciteína	29
3. OBJETIVOS	33
3.1 Objetivos Gerais	33
3.2 Objetivos Específicos	33
4. METODOLOGIA	34
4.1 Drogas	34
4.2 Animais	34
4.3 Procedimentos	35
4.3.2 Edema de orelha induzida por TPA	35
4.3.3 Avaliação das alterações macroscópicas nas orelhas	36
4.3.4 Quantificação da concentração de mieloperoxidase (MPO)	37
4.3.5 Determinação das concentrações de citocinas em orelhas inflamadas com TPA	37
4.3.6 Avaliação histopatológica das orelhas	38
4.3.7 Avaliação do estresse oxidativo em orelhas inflamadas com TPA	39
4.3.8 Avaliação da atividade de enzimas antioxidantes em orelha inflamada por TPA	39
4.4 Análise estatística	40
5. RESULTADOS	41
6. DISCUSSÃO	50
7. CONCLUSÃO	56
8. REFERÊNCIAS	57

1. INTRODUÇÃO

A inflamação ocorre a partir de diferentes estímulos exógenos ou endógenos, que envolvem distintos mecanismos de indução, regulação e resolução (Nasef; Mehta; Ferguson, 2017). Esse processo depende dos agentes inflamatórios envolvidos, dos tecidos alvo afetados, dos sensores que os detectam nestes tecidos e dos mediadores inflamatórios formados (Medzhitov, 2010). Contudo, ainda que a inflamação seja uma resposta inata que visa restabelecer a homeostase e permitir a adaptação fisiológica em decorrência de condições nocivas, essa resposta biológica tem alto potencial de causar dano tecidual, quando excessiva (Medzhitov, 2021).

Doenças dermatológicas inflamatórias tais como psoríase, rosácea e as dermatites atópica, seborreica e alérgica de contato são as principais doenças cutâneas que afetam a população (Tong *et al.*, 2024). Tais dermatoses impactam negativamente a qualidade de vida dos pacientes, comprometendo o sono e causando distúrbios funcionais devido ao prurido intenso (Christensen; Jafferany, 2023). Além disso, afetam o estado emocional, as relações sociais e a autoconfiança (Chen *et al.*, 2022), gerando sintomas depressivos em mais de 50% dos pacientes acometidos (Esposito *et al.*, 2006; Talamonti *et al.*, 2021). Devido à alta prevalência no Brasil, representam um impacto econômico significativo, em virtude da complexidade do tratamento e de elevados custos por paciente (Romiti; Carvalho, Duarte, 2021) (Lopes *et al.*, 2019).

A abordagem convencional para o tratamento dos processos inflamatórios é representada pelos Anti-inflamatórios Não Esteróides (AINEs) que inibem a atividade das enzimas ciclooxigenases (COX) 1, 2 e 3, consequentemente afetando a síntese de prostanóides (Danciu *et al.*, 2018). Outra alternativa terapêutica são os glicocorticóides, que atuam principalmente através da inibição da expressão de genes envolvidos na resposta inflamatória, como de fatores de transcrição, citocinas, receptores e enzimas (Escoter-torres *et al.*, 2019). Contudo, as reações adversas de ambas as terapias são comuns e problemáticas, envolvendo a maior parte dos sistemas orgânicos como o gastrointestinal, cardiovascular, renal, hepático e neural (Fine, 2013; Oray *et al.*, 2016). Além disso, o uso de glicocorticóides por longos períodos por via sistêmica deve ser feito com cautela, pelo risco de supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, (Borresen *et al.*, 2022).

Nesse sentido, pesquisadores e indústrias farmacêuticas vêm estudando o potencial farmacoterapêutico de fitoquímicos, como os flavonoides, devido à necessidade de desenvolvimento de alternativas terapêuticas que apresentem melhor eficácia para os processos inflamatórios, possivelmente associadas a menos reações adversas (Felix *et al.*, 2022). A exemplo, as isoflavonas são compostos naturais descritos na literatura por apresentar potencial anti-inflamatório (Hämäläinen *et al.*, 2007; Derangula; Panati; Narala, 2021), antialérgico (Xu *et al.*, 2021), quimioprotetor (Boutas *et al.*, 2022), cardioprotetor e antioxidante (Khan *et al.*, 2021), antibacteriano (Dong *et al.*, 2024), dentre outros.

A gliciteína é uma isoflavona com grande potencial farmacológico. Demonstrou-se que essa isoflavona tem potencial terapêutico no câncer *in vitro* sobre as células de glioma (Lee *et al.*, 2010), câncer gástrico (Zang *et al.*, 2019) e de mama (Zhang *et al.*, 2015), além de exercer efeitos neuroprotetores em modelo celular da doença de Parkinson (Dong; Yang, 2022; Zhao *et al.*, 2025) e na prevenção da depressão induzida por reserpina (Diksha; Singh, 2023). Além disso, outros estudos *in vitro* demonstraram a atividade anti-inflamatória ao inibir a produção de óxido nítrico (NO) (Sheu; Lai; Yen, 2001), citocinas pró-inflamatórias (Park *et al.*, 2007), espécies reativas de oxigênio (ROS) (Kang *et al.*, 2007), prostaglandina E2 (PGE2) (Yamak *et al.*, 2002), óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e COX-2 (Wongkarn *et al.*, 2025).

Contudo, as evidências sobre a gliciteína se limitam aos estudos *in vitro*. Dessa forma, é relevante explorar este composto em modelos biológicos mais complexos, como os *in vivo*. O interesse por esse composto também é reforçado pelas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes já bem descritas de outras isoflavonas da soja, como a daidzeína (Sakamoto, *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2021) e a genisteína (Messina *et al.*, 2011; Siriviriyakul *et al.*, 2022), que possuem estrutura química semelhante. Com isso, buscou-se caracterizar os efeitos da gliciteína, de modo a reforçar o seu potencial para o tratamento de processos inflamatórios na pele.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Inflamação

A inflamação é um evento natural dos sistemas biológicos que visa proteger o organismo tanto contra perturbações externas, como agentes químicos, físicos e micro-organismos; quanto contra agentes internos, como moléculas endógenas (Nasef; Mehta; Ferguson, 2017). Sendo assim, o processo pode ser caracterizado como uma resposta à desordem causada por infecções ou lesões, que visa remover a fonte de perturbação e preservar a homeostase, funções e estruturas teciduais. Entretanto, ainda que seja um mecanismo de defesa essencial para a sobrevivência, pode se tornar desregulada e trazer consequências nocivas ao indivíduo, estando associada à fisiopatologia de diversas doenças conhecidas (Medzhitov, 2021; Serhan *et al.*, 2007).

Desde a antiguidade a inflamação é reconhecida, tendo seus sintomas clínicos descritos pelo romano Cornelius Celsus, no século I d.C., que definiu 4 sinais cardinais da inflamação: rubor (vermelhidão, devido ao aumento da quantidade de sangue no local); tumor (inchaço, causado pelo aumento da permeabilidade vascular e consequente extravasamento de proteínas para o tecido); calor (aumento da temperatura, decorrente do aumento do fluxo sanguíneo e da atividade metabólica dos mediadores celulares inflamatórios); dor (associada à sensibilização das terminações nervosas). Ainda, Rudolf Virchow incluiu na década de 1850 a perda de função (disfunção dos órgãos envolvidos) como uma quinta característica da inflamação (Libby, 2007; Freire; Van Dyke, 2013).

Tais sinais cardinais surgem como consequência de reações vasculares promovidas pela ação de mediadores químicos liberados por células residentes nos tecidos, que reconhecem a presença de agentes lesivos. Esses mediadores, principalmente a histamina e prostaglandinas, promovem a dilatação de pequenos vasos, levando ao aumento do fluxo sanguíneo e o aumento da permeabilidade capilar a fluidos e macromoléculas, que possibilita o extravasamento do excesso de líquido e proteínas do plasma, caracterizando o exsudato. A presença de exsudato no tecido intersticial caracteriza o edema inflamatório (Kumar; Abbas; Aster, 2016).

A formação de edema tecidual está intimamente relacionada à lesão tecidual e inflamação, principalmente nas primeiras horas após a sua ocorrência (Lund;

Onarheim; Reed, 1992; Qin; Wang, 2016). O acúmulo de fluidos no tecido promove uma expansão anormal no espaço intersticial, que é responsável por aumentar a espessura do tecido, um sintoma característico de edema que é utilizado como um importante parâmetro para determinar o volume do edema e avaliar a gravidade dessa condição (Qin; Wang, 2016).

Ademais, o dano tecidual causado por diferentes estímulos é responsável pela perda de integridade de estruturas celulares e a consequente liberação de moléculas de células e organelas danificadas, o que ativa respostas inflamatórias. Além dos sinais moleculares citados, há outros 3 componentes fundamentais do circuito inflamatório: os receptores, os mediadores e as células imunológicas (Medzhitov, 2021).

No início do processo inflamatório, padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados a danos (DAMPs) sinalizam a presença de patógenos ou lesões às células, respectivamente. Tais padrões moleculares são reconhecidos por receptores específicos, como os receptores tipo Toll (TLR), ativando células endoteliais e células imunes como mastócitos e macrófagos teciduais. Essas células estimulam a secreção de várias citocinas, como a interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF) α , quimiocinas como a CCL2 e CXCL8, assim como prostaglandinas, que ativam vias de sinalização pró-inflamatória (Medzhitov, 2010; Williams *et al.*, 2011; Feeham; Gilroy, 2019).

Entre as citocinas pró-inflamatórias, o TNF- α , produzido principalmente por monócitos, macrófagos e mastócitos, desencadeia suas propriedades através da ativação do NF- κ B, que promove a ativação de neutrófilos, a estimulação de moléculas de adesão leucocitária, além do aumento da migração transendotelial e da permeabilidade e vazamento vascular (Bradley, 2008; Boshtam *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2021), além de induzir a expressão de IL-6 e IL-8 (Gerritsen, 1998). A IL-1 β , produzida principalmente por monócitos e macrófagos em resposta a PAMPs e/ou DAMPs, coordena diversos aspectos da inflamação local (Weber; Wasiliew; Kracht, 2010), principalmente por induzir o recrutamento de neutrófilos, ao atrair e ativar essas células nos locais da injúria (Marzano *et al.*, 2018). A IL-6, que tem os monócitos, fibroblastos e células endoteliais como suas principais fontes de produção, é uma

indutora da resposta de fase aguda e promove a estimulação da secreção de IL-1 (Boshtam *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2020).

Sendo assim, as citocinas desempenham um papel crucial em diversas funções do sistema imunológico, sendo um grupo amplo de proteínas sinalizadoras que regulam a inflamação (Smith *et al.*, 2022). As quimiocinas, por sua vez, são um subconjunto específico de citocinas que têm como principal função a quimiotaxia, sendo fundamental para o processo de migração celular ao formar um gradiente quimiotático para atrair outras células (Smith *et al.*, 2022). Então, quimiocinas e citocinas como o TNF- α e a IL-1 β induzem o aumento da expressão de moléculas de adesão endotelial, que promovem o recrutamento e influxo de leucócitos e células fagocíticas para o tecido. Este processo de recrutamento leucocitário abrange uma sequência de etapas: rolamento, ativação, adesão e transmigração (Muller, 2014; Timmerman *et al.*, 2016).

Estas etapas ocorrem nos vasos sanguíneos, principalmente nas arteríolas, e estão demonstradas na Figura 1 para os neutrófilos. A fase de rolamento inicial ocorre através de interações de baixa afinidade entre os neutrófilos e o endotélio, que são mediadas por proteínas chamadas selectinas, presente no endotélio (E-selectinas e P-selectinas) e nos leucócitos (L-selectinas). Adicionalmente, a adesão firme ao endotélio é mediada por proteínas integrinas, presentes na superfície dos leucócitos. Tais proteínas interagem com ligantes endoteliais como a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) em um estado de alta afinidade, por ter sido ativado por quimiocinas produzidas no local da lesão (Kumar; Abbas; Aster, 2016; Timmerman *et al.*, 2016).

Uma vez aderidos ao endotélio, os neutrófilos migram principalmente através de junções entre células endoteliais (via paracelular) ao se ligarem à molécula de adesão celular endotelial plaquetária (PECAM-1 - CD31), em direção ao local da lesão/infecção no sítio extravascular. Nesse processo, são atraídos pelo gradiente de moléculas quimioatraentes como produtos bacterianos, citocinas, componentes do sistema complemento e metabólitos (Kumar; Abbas; Aster, 2016; Timmerman *et al.*, 2016).

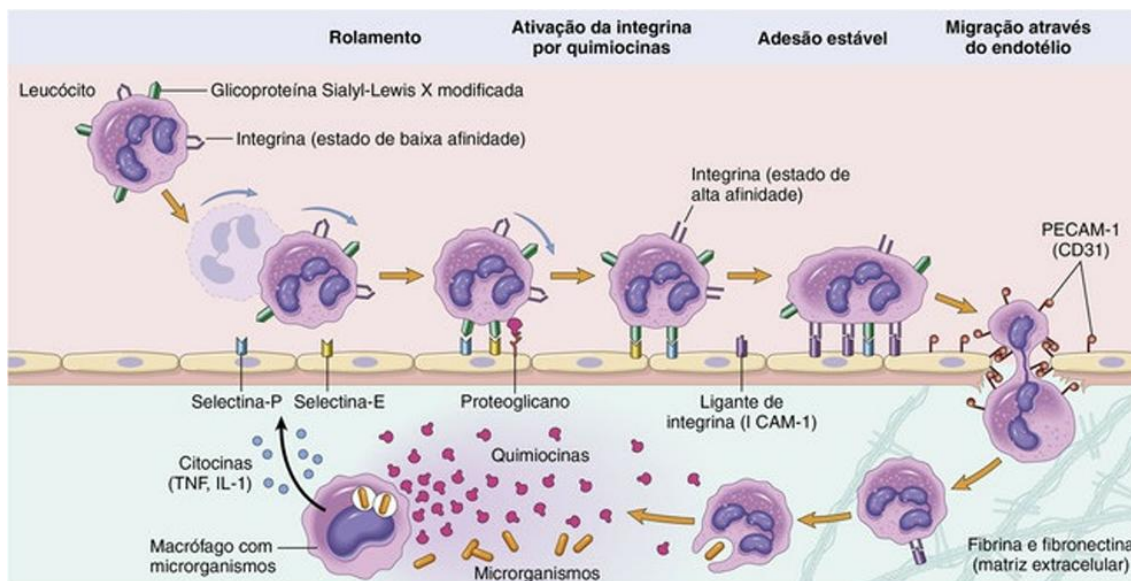


Figura 1: Processo de migração leucocitária na inflamação

(Kumar; Abbas; Aster, 2016).

Dentre as células que constituem o infiltrado inflamatório destacam-se os neutrófilos, que são tradicionalmente os primeiros leucócitos a serem atraídos para o local inflamado em razão de serem os leucócitos mais abundantes no sangue, responderem mais rapidamente às quimiocinas e se ligarem mais fortemente às moléculas de adesão (Kumar; Abbas; Aster, 2016).

Apesar de serem considerados células de vida curta, tendo meia-vida de aproximadamente 8 horas em humanos, os neutrófilos têm capacidade de eliminar micro-organismos e resíduos do tecido por diversos mecanismos intracelulares. Dentre esses mecanismos destacam-se a sua atividade fagocítica, a produção de ROS, a liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (Kolaczowska; Kubes, 2013; Feeham; Gilroy, 2019). Além disso, o citoplasma dos neutrófilos contém vesículas e grânulos azurófilos, onde ficam armazenados enzimas como a elastase de neutrófilos (NE) e a mieloperoxidase (MPO) (Damascena *et al.*, 2022), a qual possui as propriedades bactericidas e pró-inflamatórias mais eficientes dos neutrófilos (Kolaczowska; Kubes, 2013; Feeham; Gilroy, 2019).

Além disso, entre os reguladores da inflamação estão os eicosanoides, mediadores lipídicos que modulam a intensidade e duração da resposta inflamatória, associando-se principalmente ao início da inflamação, mas também sendo importantes para a sua resolução. Esses mediadores são derivados de fosfolípídeos de membrana, tendo o ácido araquidônico (AA) como molécula precursora. Desse

modo, pela ação das enzimas fosfolipases, principalmente a fosfolipase A₂ (PLA₂), o AA pode ser mobilizado das membranas plasmáticas e então ser metabolizado pela via da lipo-oxigenase (LOX) e pela via da ciclo-oxigenase (COX) para biossintetizar os eicosanoides (Calder, 2006; Lei *et al.*, 2015).

A via da COX gera prostaglandinas e tromboxanos. É mediada pela atividade de três isoformas enzimáticas: a COX-1, a COX-2 e a COX-3. A COX-1 é expressa constitutivamente, estando envolvida na regulação das funções homeostáticas do organismo. A COX-2, por sua vez, é induzível, sendo ativada principalmente na presença de estímulos patológicos, como por produtos bacterianos e citocinas inflamatórias ou pelo estresse de cisalhamento vascular (Calder, 2020). Dessa forma, quando gerados a partir da COX-2, alguns eicosanoides são conhecidos por mediar os sinais cardinais da inflamação, ao aumentar a permeabilidade vascular, promover vasodilatação, hiperalgesia, calor local e edema, além de contribuir para o recrutamento de leucócitos (Serhan *et al.*, 2007). Já a COX-3, uma variante da COX-1 encontrada em maior abundância no córtex cerebral, é considerada um alvo central de inibição por drogas analgésicas e antipiréticas, como paracetamol e dipirona, o que leva à redução da dor e da febre (Chandrasekharan *et al.*, 2002).

A via da LOX é responsável pela formação de leucotrienos, os quais também têm efeitos pró-inflamatórios como o aumento da permeabilidade vascular, a produção de citocinas inflamatórias, a indução da liberação de ROS e a quimiotaxia, principalmente no tecido pulmonar, mas não se restringindo a este (Calder, 2006).

Contudo, as mesmas vias envolvidas na destruição de agentes agressores podem facilmente danificar os tecidos saudáveis adjacentes, visto que moléculas citotóxicas podem ser liberadas no meio extracelular pelos leucócitos após a exposição aos estímulos inflamatórios (Shim; Deniset; Kubes, 2022). Nesse contexto, destacam-se as ROS, que são radicais livres derivados do oxigênio (Sun *et al.*, 2020).

2.2 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo foi conceituado pela primeira vez em 1985, sendo definido como um desequilíbrio na geração de moléculas oxidantes e antioxidantes, em favor dos oxidantes, com potencial de causar danos celulares (Sies, 1985). Então, quando

o sistema antioxidante fica sobrecarregado pelo crescimento exacerbado da produção de ROS em detrimento da sua neutralização, o equilíbrio redox fica comprometido, impactando negativamente as funções celulares (Herrman; Dick, 2012; Łuczaj; Gęgotek; Skrzydlewska, 2017).

As ROS são produzidas endogenamente nas membranas plasmáticas, mitocôndrias, retículo endoplasmático e peroxissomos (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014). Elas compreendem o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ($\cdot OH$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), óxido nítrico (NO), ácido hipocloroso (HOCl), além de derivados de peroxidação lipídica como o oxigênio singleto (1O_2), peroxinitrito ($ONOO^{\cdot-}$), radical peroxil ($ROO^{\cdot}$) e peróxidos orgânicos (ROOH) (Tretter *et al.*, 2021). Essas moléculas são geradas em processos fisiológicos normais do metabolismo e em baixas concentrações desempenham funções essenciais nas vias de sinalização celular (Tretter *et al.*, 2021).

Entretanto, quando em altas concentrações, essas ROS promovem lesões oxidativas responsáveis pela clivagem de peptídeos, deleções e mutações de DNA, danos às membranas através de peroxidação lipídica, dentre outros, afetando por exemplo, a atividade de enzimas intracelulares importantes e a transcrição gênica (Carocho; Ferreira, 2013; Sies; Berndt; Jones, 2017). Assim, as ROS estão envolvidas no desenvolvimento de diversas condições patológicas como doenças cardiovasculares, cânceres, obesidade, distúrbios neurológicos e doenças de pele (Carocho; Ferreira, 2013; Magnani *et al.*, 2020).

No processo de peroxidação lipídica, os radicais livres, como o $\cdot OH$, promovem a oxidação de lipídios, principalmente dos ácidos graxos poli-insaturados presentes nas membranas celulares, mas também inclui a peroxidação de glicolipídios, fosfolipídios e colesterol (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014). Os radicais livres podem remover um hidrogênio de um carbono em ligação dupla em um ácido graxo, gerando um radical lipídico ($L^{\cdot}$) que, por sua vez, irá reagir com O_2 , formando um radical peroxila lipídico ($LOO^{\cdot}$). Então, o $LOO^{\cdot}$ reage com outro lipídio (LH), removendo outro hidrogênio para gerar um hidroperóxido lipídico ($LOOH$) e um novo radical lipídico ($L^{\cdot}$). Dessa forma, os hidroperóxidos são os principais produtos primários do processo de peroxidação lipídica, sendo considerado um mediador central no desenvolvimento de doenças e morte celular por apoptose ou necrose (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014).

Além disso, a peroxidação lipídica também gera produtos secundários na forma de aldeídos, como o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxinonenal (4-HNE) (Grotto *et al.*, 2009). O MDA é um produto altamente mutagênico, sendo um importante biomarcador da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo. Além disso, uma das formas de detectá-lo é através do teste com ácido tiobarbitúrico (TBA), devido à sua alta reatividade com esse composto (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014). O 4-HNE funciona como um produto citotóxico e como molécula sinalizadora, participando da regulação de diversos fatores de transcrição associados ao estresse oxidativo (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014).

Por outro lado, o organismo possui um complexo mecanismo de defesa que visa proteger os tecidos contra os efeitos oxidativos das ROS, o qual é conhecido como sistema antioxidante e envolve mecanismos enzimáticos e não enzimáticos na tentativa de neutralizar e regular as ROS para concentrações fisiológicas a fim de garantir a preservação da homeostase redox (Finkel; Holbrook, 2000). As enzimas antioxidantes atuam como sistemas coordenados de remoção de radicais livres e incluem principalmente a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), entre outras (Mittal *et al.*, 2014). Há também antioxidantes não enzimáticos como a vitamina C (ácido ascórbico), α -tocoferol (vitamina E), glutathione, bilirrubina e ácido úrico (Touyz, 2012).

Existem três isoformas de SOD em mamíferos: a SOD1 é expressa no citosol, a SOD2 na matriz mitocondrial e a SOD3 no meio extracelular. Todas as isoformas da SOD catalisam a conversão do radical $O_2^{\cdot-}$ em moléculas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2). Para que isso ocorra, esse processo se inicia pela transferência de elétrons do NADPH para o O_2 pela NADPH oxidase (NOX) presente na membrana plasmática, formando o $O_2^{\cdot-}$. Esse superóxido formado é altamente reativo e é convertido pelas SODs através da reação: $O_2^{\cdot-} + 2H \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Além do H_2O_2 gerado dentro da célula pela SOD1 e SOD2, o H_2O_2 produzido fora da célula pela SOD3 pode atravessar a membrana plasmática por meio de proteínas aquaporinas. Dentro da célula, o H_2O_2 é convertido em água pela CAT e GPx (Nguyen; Tran; Nguyen, 2020).

Já a catalase, presente nos peroxissomos, possui um grupo heme na sua estrutura que é fundamental para que ocorra reação antioxidante, pois esse ferro (Fe)

pode atuar como um intermediário na reação química. Assim, a decomposição do H_2O_2 ocorre por um processo de duas etapas envolvendo a oxidação e redução alternada do ferro no sítio ativo. Então, inicialmente, o H_2O_2 atua como um agente oxidante, ao oxidar o ferro Fe(III) para o Fe(IV) . Em seguida, uma segunda molécula de H_2O_2 atua como agente redutor, que reduz o ferro Fe(IV) de volta para Fe(III) . Esse mecanismo permite que a catalase neutralize o H_2O_2 através da sua conversão em água e oxigênio molecular ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$) (Goyal; Basak, 2010).

Por possuir alta seletividade para atuar sobre o H_2O_2 , a catalase é considerada a principal enzima antioxidante, ao decompor milhões de moléculas de H_2O_2 por segundo. Dessa forma, essa enzima contribui para o controle da concentração de H_2O_2 intracelular e, conseqüentemente, atua na proteção celular contra os efeitos tóxicos desse agente oxidante (Goyal; Basak, 2010). Além disso, outro importante desintoxicador de H_2O_2 é a enzima GPx, porém ela catalisa a redução de H_2O_2 utilizando a glutatona reduzida (GSH) como doador de elétrons (Mittal *et al.*, 2014).

Na pele, a presença de agente agressores ocasiona resposta inflamatória cutânea, com indução de estresse oxidativo e produção ROS (Rahman *et al.*, 2008). Nessa perspectiva, a atividade de enzimas antioxidantes como SOD e CAT é fundamental, por proteger a pele contra esses danos (Fu; Chen; Guob, 2020). Em doenças cutâneas como psoríase e dermatite atópica, por exemplo, a SOD tem grande relevância, ao promover a eliminação das ROS e inibir mediadores inflamatórios (Nguyen; Tran; Nguyen, 2020). Sendo assim, a inibição de vias inflamatórias, associada ao fortalecimento das defesas antioxidantes da pele é crucial na prevenção de condições inflamatórias cutâneas (Li; Wu; Zhang, 2025).

2.3 Pele e inflamação cutânea

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano e mantém funções cruciais para o sistema fisiológico, funcionando como uma barreira física do organismo contra microrganismos externos e outros corpos estranhos, de modo a representar a primeira linha de defesa do sistema imune inato (Tamagawa-Mineoka, 2023; Yamamura; Kim; Kim, 2024). Além disso, a pele é essencial para a preservação

da homeostase ao impedir a perda de fluidos, funcionar como termorregulador e transmitir percepções sensoriais (Nguyen; Soulika, 2019).

A pele é constituída por três camadas distintas: epiderme, derme e hipoderme. A epiderme é a camada mais superficial, tendo 90% das células composta por queratinócitos e é subdividida em 4 camadas (Figura 2). A subcamada mais interna é a camada basal, que é responsável pela renovação da epiderme, por conter queratinócitos proliferativos, e está conectada à membrana basal, que promove a firme aderência da epiderme à derme. Nas camadas subjacentes (camada espinhosa e camada granular), os queratinócitos perdem a sua capacidade proliferativa, iniciando o processo de diferenciação, etapa importante para o desenvolvimento de propriedades mecânicas celulares e de adesão intercelular. A subcamada mais externa é o estrato córneo, composto por corneócitos em uma matriz lipídica, fundamental para a função de barreira física da pele. Ainda, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel são outros tipos celulares presentes na epiderme (Van Smeden *et al.*, 2014; Wong, *et al.*, 2015; Shutova; Boehncke, 2022).

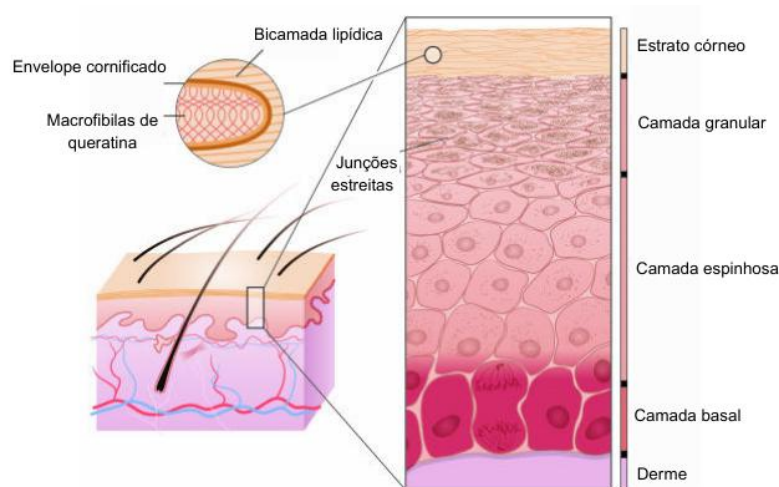


Figura 2: Diagrama esquemático das subcamadas da epiderme

(Adaptado de Segre, 2006).

Abaixo da epiderme se encontra a derme, composta por uma matriz extracelular que é sintetizada por fibroblastos e contém colágeno, fibras elásticas e proteoglicanos que proporcionam a estabilidade, elasticidade e integridade estrutural da pele. Ademais, a derme também contém vasos sanguíneos, receptores sensoriais, glândulas sudoríparas e sebáceas, folículos pilosos, além de células imunes residentes, como mastócitos, macrófagos e linfócitos, que agem como sentinelas e

podem dar início a respostas imunes na presença de infecções ou lesões. A camada mais profunda é a hipoderme, ou camada subcutânea, constituída por adipócitos e tecido conjuntivo, tendo a função de isolamento térmico, armazenamento de gordura e proteção dos órgãos corporais (Nguyen; Soulika, 2019; Shutova; Boehncke, 2022).

A barreira lipídica, células epiteliais, flora bacteriana, terminações nervosas e células imunológicas da pele compõem o microambiente epitelial-imune, sendo que a interação entre esses componentes é indispensável para a proteção da pele contra agentes exógenos (Dainichi; Iwata, 2023). A desregulação desses elementos, como pela presença de micro-organismos patológicos ou lesões na pele, pode estimular a sinalização de receptores TLR e suceder em respostas imunes e no desenvolvimento de doenças inflamatórias cutâneas como psoríase, dermatite atópica, lúpus eritematoso sistêmico e acne vulgar (Dainichi; Iwata, 2023; Tamagawa-Mineoka, 2023).

Diversos tipos celulares expressam TLRs na pele como os queratinócitos, as células de Langerhans, os melanócitos e as células residentes. Esses receptores induzem a inflamação através do reconhecimento tanto de PAMPs quanto de DAMPs (Tamagawa-Mineoka, 2023). Os queratinócitos estão intimamente associados à patogênese de doenças inflamatórias cutâneas ao funcionarem como células sensoras e estarem envolvidas no reconhecimento e liberação de diversas citocinas pró-inflamatórias, como as da família de interleucinas (ILs), IL-1, IL-4, IL-17, IL-20, IL-6; também citocinas da família dos interferons (IFNs), como IFN- α , IFN- β e IFN- γ ; além de TNF- α (Morizane *et al.*, 2023).

Um evento de sinalização habitual dos receptores TLRs, após o reconhecimento de PAMPs e/ou DAMPs na pele, é a ativação da via do fator nuclear kappa B (NF- κ B), um fator de transcrição que induz a expressão de diversos genes pró-inflamatórios envolvidos diretamente no desenvolvimento e evolução da inflamação (Liu, *et al.*, 2017). Então, após estimulação, ocorre a ativação do NF- κ B citoplasmático pela cinase I κ B (IKK). Posteriormente, o NF- κ B livre é translocado para o núcleo, onde induz a transcrição de genes-alvo, como os de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, além das enzimas iNOS e COX-2 (Yu *et al.*, 2016). Ainda, essa via de transdução de sinal é responsável por estimular moléculas de adesão em diferentes células imunológicas, além de ser crucial para a regulação da sobrevivência, ativação, apoptose e diferenciação celular (Liu, *et al.*, 2017).

Nessa perspectiva, modelos experimentais de indução de inflamação cutânea aguda no intuito de investigar compostos com potencial anti-inflamatório vem sendo amplamente utilizados. O 12-O-tetradecanoilforbol 13-acetato (TPA), por exemplo, pertencente à família dos ésteres de forbol, é descrito como um agente flogístico que promove o rápido desenvolvimento de edema, eritema e infiltração de neutrófilos, atingindo o nível máximo de resposta edematosa em 6 horas após a aplicação de uma única dose tópica (Young; Wagner; Spires, 1983; De Young *et al.*, 1989; Stanley *et al.*, 1991).

Entre os mecanismos envolvidos na patogênese da inflamação causada pelo TPA está a capacidade de se ligar e ativar a proteína quinase C (PKC) (Isonishi *et al.*, 2000; Gorzalczany *et al.*, 2009). Assim, vias de transdução de sinais levam à estimulação da PLA2 e, conseqüentemente, a liberação de ácido araquidônico e a produção de eicosanoides como as prostaglandinas (Furstenberger *et al.*, 1981). Além disso, estudos também correlacionaram o TPA com a modulação de outros fatores pró-inflamatórios como o aumento da peroxidação lipídica; da produção de citocinas pró-inflamatórias (Oliveira *et al.*, 2017; Xian *et al.*, 2018); e de produtos da via das lipoxigenases (Nakadate, 1989).

Estudos sugerem que os neutrófilos podem ser uma célula-alvo fundamental para os efeitos inflamatórios do TPA, de modo que, o dano celular induzido pelo TPA pode ser alterado na presença de neutrófilos (Ward; Rosin, 1994) e baixas concentrações desse agente indutor são suficientes para estimulá-los e provocar eventos patológicos nas células epidérmicas (Gabrielson *et al.*, 1992). Sendo assim, a indução com o TPA resulta em aumento do influxo e ativação de neutrófilos na derme, que podem ocorrer através de mecanismos que envolvem a atividade da proteína quinase C α (PKC α), a liberação de quimioatraentes por queratinócitos (Xu *et al.*, 2024), além da regulação positiva da expressão da molécula de adesão endotelial plaquetária-1 (PECAM-1) nos vasos sanguíneos (Zeng *et al.* 2018).

É sabido que os neutrófilos são as primeiras células do sistema imunológico a se infiltrar em áreas inflamadas e participar na patogênese de doenças inflamatórias da pele (Xu *et al.*, 2024). Essas células imunes sintetizam e secretam grânulos contendo peroxidases, como a enzima MPO, que é uma fonte de geração de ROS importante para combater patógenos invasores, mas que potencialmente podem

danificar os tecidos saudáveis circundantes ao local da inflamação (Zhang *et al.*, 2002; Osawa, 2018).

Por funcionar como um órgão de barreira entre o meio externo e interno, a pele está constantemente exposta ao desenvolvimento de doenças que, através de uma variedade de células e mediadores inflamatórios, como histamina e citocinas, atuam em receptores cutâneos e desencadeiam os sintomas físicos (Trier; Kim, 2018). Sintomas como a aparência anormal da pele e o prurido intenso estão associados ao surgimento de disfunções pessoais, sociais e psicológicas e têm grande impacto negativo na qualidade de vida da população (Chen *et al.*, 2022).

Há relatos de que aproximadamente 57% de pacientes com dermatite atópica (Talamonti *et al.*, 2021) e 62% dos pacientes com psoríase (Esposito *et al.*, 2006) possuem sintomas depressivos. No Brasil, estima-se a prevalência da psoríase em 1,31% da população (Romiti; Carvalho, Duarte, 2021), com custo anual estimado em US\$ 4034 por paciente (Lopes *et al.*, 2019), além de 20,1% de crianças (Silverberg *et al.*, 2021) e 7% de adultos com dermatite atópica (Mesquita *et al.*, 2019), com custos anuais em torno de US\$ 1239 por paciente (Pérez *et al.*, 2025).

Diante do exposto, o tratamento de condições inflamatórias na pele ainda é um desafio ao envolver complexos mecanismos, custos elevados, efeitos adversos dos medicamentos e diferenças individuais na resposta ao tratamento (Lee; Kim, 2023). Sendo assim, há um crescente interesse na realização de pesquisas com moléculas pouco exploradas na perspectiva da prevenção de danos inflamatórios na pele nos últimos anos, especialmente com produtos naturais, em razão da sua grande variabilidade e complexidade de estruturas (Fernandes *et al.*, 2023).

2.4 Produtos naturais no tratamento de condições inflamatórias

Desde a antiguidade, plantas medicinais e produtos de origem mineral e animal, são utilizados na cura de diversas enfermidades, sendo os primeiros recursos terapêuticos empregados pelos povos antigos (Dutra *et al.*, 2016). Atualmente, os produtos naturais representam um recurso indispensável para as empresas farmacêuticas globais, contribuindo significativamente para o desenvolvimento de novos fármacos, de modo que, em torno de 35% dos medicamentos atuais têm origem

direta ou indiretamente de produtos de origem natural, como plantas, microrganismos e animais (Calixto, 2019).

Nessa perspectiva, os compostos naturais têm se tornado uma fundamental fonte de descobertas terapêuticas na pesquisa científica devido ao seu importante potencial farmacológico. Além disso, comumente estão associados a baixo custo, maior acessibilidade e redução de efeitos adversos em comparação aos medicamentos convencionais (Ribeiro *et al.*, 2018; Felix *et al.*, 2022) embora ainda há carência de estudos toxicológicos para muitos destes produtos.

Assim, os compostos naturais surgem como uma possível alternativa terapêutica em relação às terapias convencionais para condições inflamatórias. Medicamentos como os AINES e corticosteroides, embora eficazes, são responsáveis pela geração de reações adversas envolvendo diversos sistemas fisiológicos, como o gastrointestinal, cardiovascular, renal, hepático e neural (Kapugi; Cunningham, 2019; Bindu; Mazumder; Bandyopadhyay, 2020). Em contrapartida, os produtos naturais apresentam uma ampla variedade fitoquímica, possuindo uma multiplicidade de compostos com atividades farmacológicas promissoras, possivelmente associadas a menos reações adversas (De Matos *et al.*, 2024).

Dentre as classes de compostos naturais, compostos fenólicos como flavonoides, ácidos fenólicos e terpenoides são evidenciados como metabólitos derivados de plantas com grande ação anti-inflamatória. Tal efeito deriva de diversos mecanismos de ação, incluindo o bloqueio da liberação de mediadores pró-inflamatórios; a imunomodulação de citocinas, ao inibir vias de citocinas pró-inflamatórias e aumentar citocinas pró-resolutivas; inibição enzimática das ciclooxigenases; além do aumento de enzimas antioxidantes (Dutra *et al.*, 2016; De Matos *et al.*, 2024).

Os fitoestrógenos também são um grupo de substâncias derivadas de produtos naturais, sendo chamadas dessa forma em virtude da sua estrutura química semelhante à do hormônio sexual feminino 17- β estradiol e, por isso, atuam fisiologicamente como estrogênios fracos (Ko, 2014). Os fitoestrógenos incluem os flavonoides (isoflavonas, coumestans e flavonóides prenilícos) e compostos não flavonoides, como as lignanas (Cot, 2003).

Os flavonoides possuem mais de 6000 estruturas químicas descritas. Sua estrutura básica é composta por quinze carbonos organizados em dois anéis benzênicos (A e B) ligados por um anel heterocíclico de pirano contendo três carbonos (C), formando assim um esqueleto central conhecido como difenilpropano (C6-C3-C6). Estas substâncias são divididas em diferentes subfamílias, baseadas nos grupos substituintes ligados à estrutura básica (Figura 3) (Jomova *et al.*, 2025).

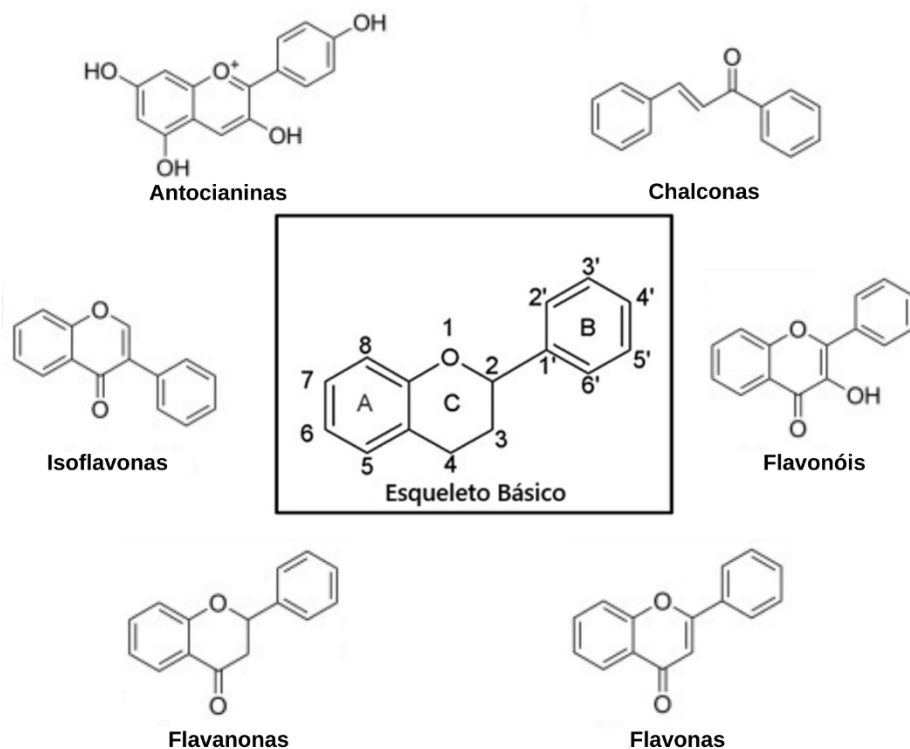


Figura 3: Estrutura química básica dos flavonoides e de suas subclasses.

(Adaptado de Panche; Diwan; Chandra, 2016).

Entre as diversas ações biológicas dos flavonoides, a sua atividade antioxidante e de neutralização dos radicais livres é a que mais se destaca. Essa propriedade está diretamente relacionada à sua estrutura química, principalmente pela presença, quantidade e posição dos grupos hidroxila no anel B e no anel C do pirano (Dias; Pinto; Silva, 2021). Nesse sentido, quanto maior o número de hidroxilas presentes na molécula, maior é a tendência de atividade antioxidante, apesar de haver exceções (Lago *et al.*, 2014). Isso ocorre pelo fato de que o grupo hidroxila da estrutura permite a doação de átomos de hidrogênio a um radical, o que neutraliza os radicais livres por meio da transferência de elétron. Após essa doação, a estrutura é

estabilizada através de ressonância, o que contribui para a ação antioxidante (Lago *et al.*, 2014; Dias; Pinto; Silva, 2021).

Entre as subclasses dos flavonoides estão as isoflavonas, que possuem um esqueleto de 3-fenil-cromeno-4-ona, e suas estruturas químicas diferem umas das outras pela presença de grupos hidroxí ou metoxi em diferentes locais do esqueleto, importantes para a sua função biológica (Figura 4) (Jomova *et al.*, 2025).

A literatura relata a existência de mais de 300 plantas ricas em isoflavonas, estando localizadas principalmente em raízes e sementes (Danciu *et al.*, 2018). Um dos mecanismos mais importantes pelos quais as isoflavonas diminuem os mediadores inflamatórios é através da inibição do sistema transcricional do NF- κ B. Ainda, reduzem também o metabolismo do AA e a produção de NO, inibindo a atividade de enzimas pró-inflamatórias, como a PLA2, LOX, COX-2 e iNOS, além de reduzir citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (Yu *et al.*, 2016).

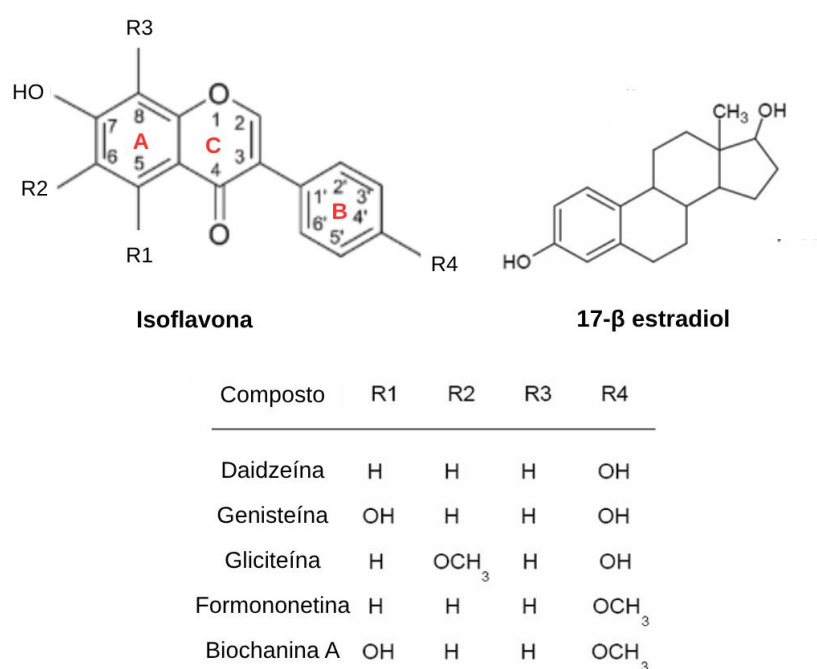


Figura 4: Estrutura química das isoflavonas e do 17- β estradiol

(Adaptado de Mortensen *et al.*, 2009).

As principais fontes alimentares de isoflavonas para humanos são Leguminosas da família *Fabaceae*, como a soja e seus derivados, que contém genisteína, daidzeína e gliciteína na proporção de 58:37:5 respectivamente, dependendo dos locais de cultivo e condições climáticas (Zaheer; Humayoun; Akhtar,

2015). Por outro lado, as isoflavonas biochanina A e formononetina têm o trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) como fonte majoritária (Křížová *et al.*, 2019).

Vale ressaltar que essa subclasse de flavonoides é descrita na literatura por apresentar potencial anti-inflamatório (Hämäläinen *et al.*, 2007; Derangula; Panati; Narala, 2021), antialérgico (Xu *et al.*, 2021), quimioprotetor (Boutas *et al.*, 2022), cardioprotetor e antioxidante (Khan *et al.*, 2021), antibacteriano (Dong *et al.*, 2024), etc. Embora algumas isoflavonas tenham sido extensivamente exploradas na literatura por estas propriedades, como a genisteína (Sharifi-Rad *et al.*, 2021), daidzeína (Ahmad *et al.*, 2024) e biochanina A (Felix *et al.*, 2022), outras ainda permanecem com seu potencial menos investigado, provavelmente devido a sua menor proporção nos grãos de soja, como é o caso da gliciteína.

2.5 Gliciteína

A gliciteína ($C_{16}H_{12}O_5$ - 7,4'-dihidroxi-6-metoxiisoflavona) (Figura 5) é um exemplo de metabólito secundário de plantas pertencentes à classe dos isoflavonoides que é encontrada em vegetais como soja e feijão verde, sendo responsável por 5-10% do total de isoflavonas da soja (Danciu *et al.*, 2018). Sua estrutura é composta por dois anéis fenílicos e um anel heterocíclico, além de possuir alguns grupos funcionais: $-OCH_3$, $-OH$ e $-C=O$ (Zhao *et al.*, 2019). Por ser um composto fenólico, está associado à atividade antioxidante, devido a sua capacidade de doar átomos de hidrogênio do grupo fenólico. Após esse processo, passa a conter um elétron não pareado no anel aromático, que é estabilizado por ressonância (Lago *et al.*, 2014).

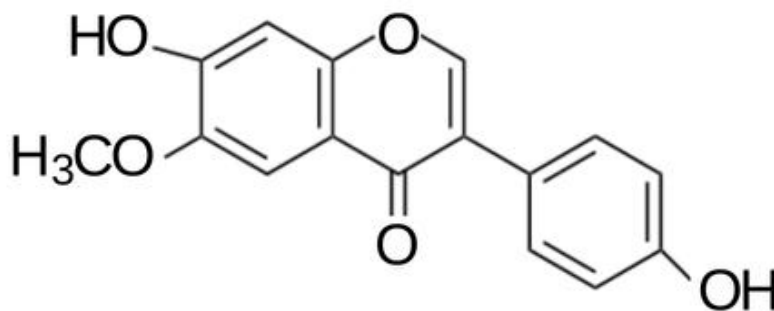


Figura 5: Estrutura química da gliciteína

(Adaptado de Stephens; Bomser, 2013).

Em um estudo para avaliar a biodisponibilidade da gliciteína em humanos, foi verificado que, quando administrada por via oral, é um dos flavonoides com melhor absorção, tendo o duodeno-jejuno como primeiro local de absorção e um segundo local no cólon. Ainda, leva em torno de 8 horas após a sua ingestão para atingir a concentração máxima no plasma, de modo a atingir uma estabilidade na concentração plasmática quando ingerida duas ou três vezes ao dia (Shinkaruk *et al.*, 2012). Ademais, possui tempo de meia-vida de 3,4 horas em mulheres pós-menopausa (Bloedon *et al.*, 2002).

Em um estudo sobre o metabolismo *in vitro* e *in vivo* da gliciteína em ratos, foi observado que esse composto passa por intensa metabolização, tanto por via por hepática de fase I, quanto pela atividade da microbiota intestinal, ao produzir uma diversidade de metabólitos. Nessa perspectiva, o principal metabólito identificado foi a 6-OH-daidezina, um produto da desmetilação da gliciteína, em que o grupo metoxi da gliciteína é substituído por uma hidroxila na posição 6 (Rufer *et al.*, 2007). Sendo assim, essa hidroxilação extra pode conferir um aumento na capacidade antioxidante da gliciteína (Lago *et al.*, 2014). Contudo, pode haver uma grande variabilidade interindividual na produção dos metabólitos a depender de microflora intestinal, refeições anteriores e fatores genéticos (Shinkaruk *et al.*, 2012).

Além disso, a excreção urinária da gliciteína após 24 h da sua ingestão é de cerca de 66% da porção ingerida. Em comparação com a genisteína, outra isoflavona de soja, a gliciteína apresenta maior taxa de excreção urinária e menor tempo de meia vida. Por outro lado, os parâmetros farmacocinéticos entre a gliciteína e a daidezina são semelhantes, apresentando biodisponibilidade, excreção urinária e tempo de meia vida similares (Shinkaruk *et al.*, 2012).

Estudos demonstraram que gliciteína é um composto com atividade estrogênica relativamente baixa *in vitro*, mas relativamente potente *in vivo*, possivelmente pelo fato de que *in vivo* ela é metabolizada em compostos com maior potência estrogênica (Song; Hendrich; Murphy, 1999). De fato, a conversão de gliciteína no metabólito di-hidrogliciteína está associado ao aumento significativo da ação estrogênica em virtude da sua atividade como agonista parcial do receptor de estrogênio ER β (Tchoumtchoua *et al.*, 2016).

Atualmente a gliciteína é investigada para alguns efeitos terapêuticos, sendo considerada um flavonóide com grande potencial farmacológico. No tratamento do câncer, essa isoflavona demonstrou ter potencial de controlar a invasividade de gliomas malignos através de regulação negativa da expressão gênica de MMP-3 ou MMP-9 após a inibição da atividade transcricional de AP-1 e NF- κ B (Lee *et al.*, 2010). A gliciteína também induziu apoptose e a parada do ciclo celular em G0/G1 através da via MAPK/STAT3/NF- κ B, em células de câncer gástrico humano (Zang *et al.*, 2019). Além disso, mostrou ter efeito inibitório sobre a proliferação de células de câncer de mama de maneira dose-dependente (Zhang *et al.*, 2015).

No contexto da neuroproteção, foi demonstrado que a gliciteína exerce efeitos neuroprotetores antioxidantes, na doença de Parkinson, ao diminuir as concentrações aumentadas de ROS e prevenir a morte celular por apoptose em células SK-N-SH humanas induzidas por rotenona (Dong; Yang, 2022). Em outro estudo *in vitro*, a gliciteína preveniu a neurotoxicidade causada por agregados de α -sinucleína, protegendo as células contra a produção de ROS e da ativação da caspase-3 (Zhao *et al.*, 2025). Além disso, esse fitoquímico tem o potencial de prevenir a depressão e a memória prejudicada em um modelo de indução por reserpina em camundongos, ao reduzir a peroxidação lipídica e o estresse inflamatório através da redução das concentrações de substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e do TNF- α no cérebro (Diksha; Singh, 2023).

Alguns estudos também demonstraram o potencial anti-inflamatório da gliciteína. Um estudo realizado em linhagem de células de microglia (BV2) demonstrou que a gliciteína inibiu a liberação de NO, TNF- α e IL-1 β e suprimiu a expressão de mRNA de iNOS, TNF- α e IL-1 β (Park *et al.*, 2007). Ademais, a gliciteína exerceu efeitos protetores sobre o dano celular induzido pelo peróxido de hidrogênio ao inibir a geração de ROS em células de fibroblastos de pulmão de hamster (Kang *et al.*, 2007). Foi descrito ainda, leve atividade inibitória da gliciteína na produção de PGE2 em macrófagos peritoneais de ratos estimulados com TPA (Yamak *et al.*, 2002), e a supressão da produção de NO em macrófagos RAW 264.7 induzida por lipopolissacarídeo (LPS) (Sheu; Lai; Yen, 2001). A gliciteína também suprimiu danos e inflamação de queratinócitos cutâneos induzidos por UVB, ao inibir a expressão de iNOS e COX-2, além de ter aumentado a ativação da via pró-sobrevivência cinase 1/2 regulada por sinal extracelular (ERK1/2) e reduzido a fosforilação das vias pró-

inflamatórias cinase N-terminal c-Jun (JNK) e proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) p38 (Wongkarn *et al.*, 2025).

Diante do exposto, o potencial farmacológico da gliciteína sobre parâmetros anti-inflamatórios e antioxidantes foi destacado na literatura, principalmente em modelos *in vitro*. Considerando os efeitos previamente relatados, entendemos que este composto tem potencial para controlar a resposta inflamatória e deve ser investigado em modelos *in vivo*. Assim, pesquisas com a administração tópica dessa substância podem abrir novas possibilidades de estudo para a sua aplicação no tratamento de doenças inflamatórias da pele.

Sendo assim, a hipótese desse estudo é que a gliciteína, quando aplicada topicamente, pode modular mecanismos anti-inflamatórios e antioxidantes no modelo de inflamação cutânea aguda em camundongos, contribuindo para a redução da resposta inflamatória e de danos oxidativos no tecido. Para tanto, sugere-se a sua capacidade de interferir em parâmetros vasculares, como o acúmulo de fluidos no tecido, e celulares, como o infiltrado de neutrófilos, a liberação de mediadores pró-inflamatórios e o estresse oxidativo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos Gerais

Investigar os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes da gliciteína em modelo de inflamação cutânea aguda em camundongos.

3.2 Objetivos Específicos

Avaliar se a aplicação tópica da gliciteína em modelo de inflamação aguda de pele modula os seguintes efeitos no tecido:

- Edema de orelha;
- Infiltração de neutrófilos;
- Modificações histopatológicas;
- Concentrações de citocinas pró-inflamatórias;
- Estresse oxidativo.

4. METODOLOGIA

4.1 Drogas

A gliciteína utilizada neste estudo foi adquirida da Sigma-Aldrich®, em forma de pó, com pureza $\geq 97\%$, conforme especificado pelo fabricante. Foi diluída em propilenoglicol (Dow Inc®) e acetona (Avantor®). Além disso, foram utilizados o agente indutor TPA (Sigma-Aldrich®), o controle positivo dexametasona (Decadron®) e o anestésico isoflurano (BioChimico®).

4.2 Animais

Para a realização dos experimentos foram usados camundongos machos da espécie *Mus musculus*, linhagem Swiss, pesando entre 25 e 30 g. Os animais foram obtidos do biotério do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe. Os animais permaneceram no laboratório de Farmacologia do Processo Inflamatório (LAFAPI) com temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro/escuro (12/12 h) controlados, recebendo água e ração à vontade.

Todas as etapas experimentais foram realizadas de acordo com as normas sobre cuidados com animais para uso em pesquisa do Conselho Nacional de Cuidados de Experimentação em Animais (CONCEA) e pela Lei Arouca, nº 11.794/2008. Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe sob o protocolo nº 8947220923 (Anexo A).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos grupos experimentais, sendo os animais de cada grupo mantidos juntos na mesma caixa, contendo maravalha para acomodação e conforto. Ao final do experimento, a eutanásia foi realizada por deslocamento cervical em animais anestesiados com isoflurano inalatório. Todos os esforços foram realizados para minimizar o sofrimento e o número de animais utilizados neste estudo.

4.3 Procedimentos

4.3.1 Grupos experimentais

O presente trabalho utilizou o modelo de edema de orelha induzido por TPA para investigar o potencial terapêutico da gliciteína. As doses de gliciteína foram baseadas em estudo prévio do nosso grupo de pesquisa com um composto isolado (Bonfim *et al.*, 2014), pois não foi encontrado na literatura estudos com a utilização tópica da gliciteína em modelos experimentais de inflamação cutânea. Os experimentos foram realizados com os seguintes grupos experimentais:

1. Veículo (acetona);
2. TPA + veículo (grupo sem tratamento farmacológico);
3. TPA + gliciteína (0,3 mg/orelha);
4. TPA + gliciteína (1,0 mg/orelha);
5. TPA + gliciteína (3,0 mg/orelha);
6. TPA + dexametasona (0,05 mg/orelha).

Em cada grupo foram alocados entre 5 e 7 animais, dependendo do protocolo experimental. Em alguns experimentos, certos animais foram excluídos por serem considerados estatisticamente como *outliers*.

4.3.2 Edema de orelha induzida por TPA

A avaliação do edema foi feita com base na metodologia descrita por De Young *et al.* (1989) e adaptada ao contexto do laboratorial atual por Bonfim *et al.* (2014). Os camundongos (n=6), foram anestesiados por inalação com isoflurano. Em seguida, como ilustrado na Figura 6, foi aplicado o agente promotor da inflamação, o TPA (1 µg/orelha em 20 µL de acetona), na orelha direita dos animais. Na orelha esquerda, foram aplicados 20 µL de acetona de forma tópica em todos os grupos experimentais, de modo que cada animal foi seu próprio controle.

Depois de 5 minutos da aplicação do TPA, as orelhas direitas dos animais foram tratadas topicamente com gliciteína (dissolvido em uma solução com 20 µL de acetona, água e propilenoglicol na proporção 60/20/20 respectivamente), nas

diferentes doses ou apenas com veículo. A dexametasona (20 μ L), na dose 0,05 mg/orelha, foi utilizada como controle positivo.

Seis horas depois da indução do edema os animais foram anestesiados e os sítios das orelhas foram removidos em formato circular utilizando um *punch* metálico de 8 mm de diâmetro, e a massa dos sítios foi medida. Os valores foram representados em gramas, indicando a subtração da massa entre as orelhas direita e esquerda para cada animal, apresentado pelo delta (Δ).

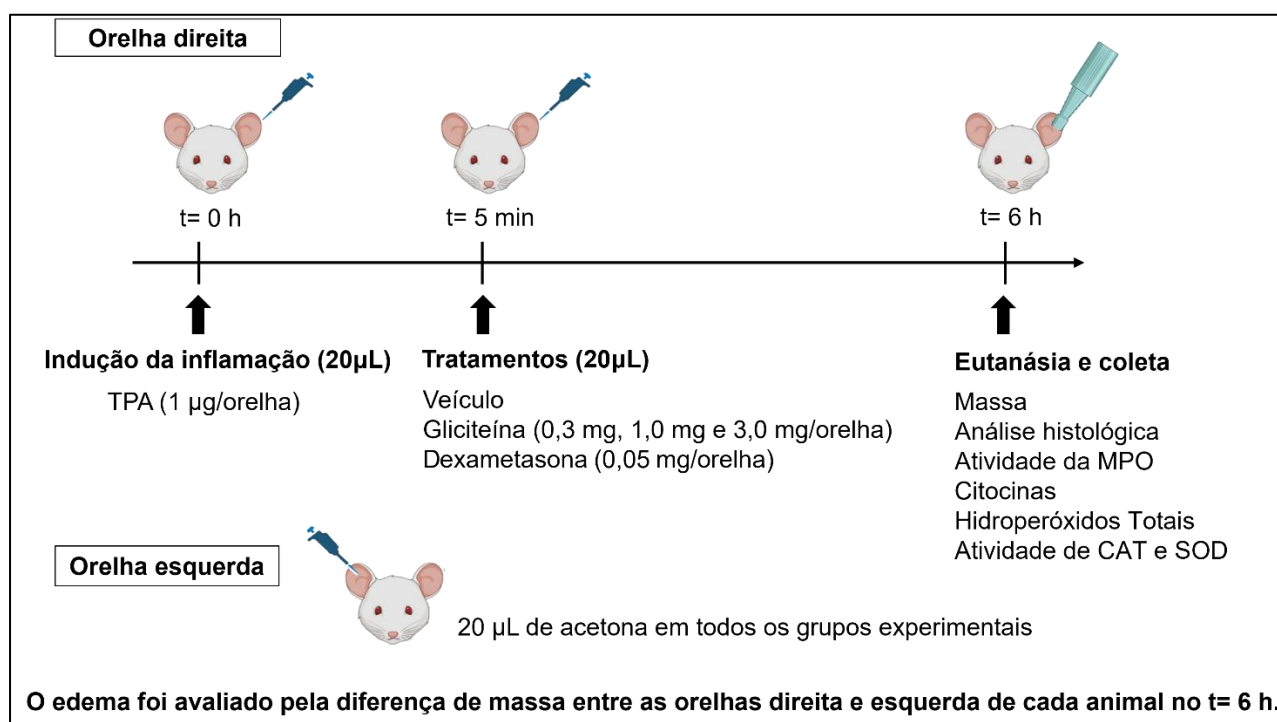


Figura 6: Delineamento experimental

4.3.3 Avaliação das alterações macroscópicas nas orelhas

As imagens das orelhas dos camundongos foram obtidas 6 horas após a indução inflamatória, enquanto os animais ainda estavam anestesiados e antes da realização do deslocamento cervical. As fotografias foram feitas com uma câmera, sob iluminação padronizada e distância fixa, no intuito de garantir a padronização para comparação entre os grupos. Para cada grupo foi apresentada uma fotografia do animal que representou a média na avaliação do edema.

4.3.4 Quantificação da concentração de mieloperoxidase (MPO)

A infiltração de neutrófilos para as orelhas inflamadas foi avaliada por meio da concentração da enzima MPO. Os sítios de 8 mm diâmetro recortados das orelhas foram picotados em pequenos pedaços e colocados em tubos contendo tampão de fosfato de potássio na concentração de 50 mmol/L e pH 6,0, acrescido de 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB). Em seguida, as amostras foram homogeneizadas e o homogenato obtido foi centrifugado a 8.000 *g*. Os sobrenadantes resultantes foram utilizados para o ensaio da mensuração da MPO. Resumidamente, os sobrenadantes foram misturados a uma solução contendo di-hidrocloreto de o-dianisidina (0,167 mg/mL, preparada em tampão fosfato de potássio 50 mmol/L, pH 6,0, possuindo 0,005% de H₂O₂). Os valores da absorbância foram monitorados por 5 minutos. Os resultados foram representados em unidades de atividade de MPO (UMPO/mg de tecido), sendo que uma unidade de MPO corresponde à quantidade de enzima necessária para degradar 1 μ mol de H₂O₂ na temperatura de 25 °C, assim como na metodologia proposta por Bradley et al. (1982).

4.3.5 Determinação das concentrações de citocinas em orelhas inflamadas com TPA

Inicialmente, a concentração de proteínas totais dos homogenatos foi quantificada pelo método de Bradford (1976), utilizando o reagente de Bradford (Sigma-Aldrich®, St. Louis, E.U.A). Dessa forma, uma curva de calibração foi realizada, a partir das concentrações de 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 μ g/mL de albumina sérica bovina (BSA). As concentrações nos sobrenadantes foram expressas em mg/mL e utilizadas para a normalização das proteínas totais (1 mg/mL) e cálculo da concentração de citocinas.

As amostras normalizadas para proteínas totais foram imediatamente utilizadas para quantificação das citocinas TNF- α , IL1- β e IL-6 utilizando kits para ensaio imunoenzimático sanduíche (ELISA, Invitrogen®). Os sobrenadantes dos tecidos das orelhas, adquiridos no processamento das amostras tiveram sua concentração de proteína normalizada. O volume de 50 μ L de cada amostra foi colocado em placa de alta ligação com 96 poços e o ensaio foi conduzido de acordo com as instruções do fabricante. Ao final, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro, utilizando

o comprimento de onda específico para cada citocina testada. Os resultados foram calculados de acordo com a curva padrão e expressos em pg/mg de proteína.

4.3.6 Avaliação histopatológica das orelhas

A avaliação histopatológica das orelhas (n=6) foi conduzida a partir de amostras de tecido cuidadosamente coletadas, que foram fixadas e armazenadas em formol a 10% até o momento da preparação dos cortes histológicos. Em seguida, as orelhas foram submetidas ao processo de desidratação, incluídas em parafina e, posteriormente, cortados transversalmente em micrótomo, com 5 µm de espessura. As lâminas contendo os cortes foram coradas com hematoxilina e eosina (HE) para posterior análise ao microscópio.

Foi realizada uma análise morfológica dos grupos, considerando as seguintes variáveis: edema intersticial, hiperemia e infiltrado inflamatório. Em seguida, foi realizada a análise da espessura dermo-epidérmica média para estimativa indireta da intensidade do edema intersticial inflamatório. Para tanto, foram utilizados três cortes histológicos de cada espécime. Em cada um deles, três áreas de interesse (*hot spots*, 400×), isentas de artefatos histotécnicos, foram selecionadas para posterior mensuração da espessura dermo-epidérmica. Os campos foram fotomicrografados utilizando sistema de captura de imagens, composto por fotomicroscópio trinocular modelo 0500R (Opticam) e câmera OPTUHD 20.3MP (Opticam), e armazenados em formato *.tiff*, previamente calibrado para assegurar a conversão precisa da escala de pixels para micrômetros. Todas as medições foram feitas com o auxílio do *software ImageJ*, versão 1.44. As medidas foram feitas em 6 animais e para cada animal foram fotomicrografados entre 3 a 5 campos histológicos definidos aleatoriamente, com três medidas de comprimento em cada campo. O avaliador tem ampla experiência na área, assegurando a precisão e a confiabilidade da avaliação. Além disso, o avaliador foi mantido encoberto quanto à identificação dos grupos experimentais, garantindo imparcialidade na análise e obtenção dos resultados.

4.3.7 Avaliação do estresse oxidativo em orelhas inflamadas com TPA

Os hidroperóxidos totais foram quantificados de acordo com o método de Jiang et al. (1992). Essa técnica está baseada na capacidade dos hidroperóxidos lipídicos de oxidar íons ferroso (Fe^{2+}) para íons férricos (Fe^{3+}) em meio ácido. Para isso, foi utilizado o corante xilenol orange, que reage com o Fe^{3+} , formando um complexo de coloração azul, que pode ser medida na absorbância 560 nm. Para o ensaio, foi utilizado o reagente FOX, que é composto por xilenol orange a 0,25 mmol/L, além de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 0,25 mmol/L com hidroxitolueno butilado (BHT) a 4,4 mmol/L, em uma solução contendo ácido sulfúrico a 97% e metanol. Esse reagente foi acrescentado aos homogenatos obtidos das orelhas, e então as amostras passaram por incubação por 30 minutos, protegida da luz. Posteriormente, foi realizado a centrifugação das amostras, e os sobrenadantes foram analisados por espectrofotometria com leitura a 560 nm. Os resultados foram representados em $\mu\text{mol/L}$, utilizando um coeficiente de extinção molar de $4,3 \times 10^{-4} \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$.

4.3.8 Avaliação da atividade de enzimas antioxidantes em orelha inflamada por TPA

A análise da ação enzimática da catalase (CAT) foi realizada de acordo com a metodologia de Nelson; Kiesow, 1972 e Gioda *et al.*, 2010. Os tecidos foram homogeneizados em PBS e posteriormente os homogenatos foram submetidos a centrifugação a 8000xg por 30 minutos a 4°C. As amostras normalizadas, como previamente descrito, foram adicionadas à microplaca de 96 poços juntamente com a adição de H_2O_2 (0,3 mol/L). As medidas foram realizadas em espectrofotômetro (240 nm), em intervalos de 15 segundos por 5 minutos, a 25° C. A atividade da enzima foi expressa pela diferença da variação das absorbâncias ($\Delta E/\text{minuto}/\text{mg}$ de proteínas), representando o decaimento de H_2O_2 nos 5 minutos.

A ação enzimática da superóxido dismutase (SOD) foi realizada seguindo o método de Misra e Fridovich (1972), adaptado para microplaca de 96 poços. O ensaio baseia-se na inibição da autooxidação da adrenalina em pH 10,2, que resulta na formação de adrenocromo, mensurada a 480 nm. A presença de SOD reduz a formação de adrenocromo ao neutralizar ânions superóxidos ($\text{O}_2^{\bullet-}$), permitindo a quantificação da ação enzimática. O ensaio foi conduzido com 200 μL por poço,

contendo tampão carbonato, EDTA, amostra e adrenalina. A leitura cinética foi realizada a cada 30 segundos por até 5 minutos. A atividade foi expressa em porcentagem de inibição da formação de adrenocromo, sendo uma unidade de SOD definida como a quantidade capaz de inibir 50% da reação. Todos os reagentes foram mantidos sob refrigeração e o pH rigorosamente controlado.

4.4 Análise estatística

Os dados foram expressos como média $\pm$ DP e foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados que possuíam distribuição normal foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste para comparações múltiplas de Tukey. Se não apresentaram distribuição normal, foram avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis seguidos pelo teste para comparações múltiplas de Dunn.

Para análise estatística dos resultados obtidos na análise morfométrica, os conjuntos de dados foram submetidos à análise de normalidade de distribuição de dados (teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Bartlett). Constatada a existência de distribuição gaussiana e homocedasticidade, os conjuntos de dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) e comparados entre si por meio do teste de Análise de variância (ANOVA de uma via), seguido de teste de comparações múltiplas de Tukey (quando pertinente).

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism, versão 8.0. Resultados com valor de $p < 0,05$ indicaram diferenças significativas.

5. RESULTADOS

A atividade anti-inflamatória tópica da gliciteína foi avaliada no modelo de edema de orelha induzido por TPA. Na Figura 7 podem ser visualizadas as alterações macroscópicas nas orelhas após 6 horas da indução. A orelha direita do grupo veículo (A) (TPA + veículo) e a do grupo que recebeu a gliciteína na dose de 0,3 mg/orelha (B), está visivelmente espessa, com aspecto avermelhado e com mais capilares aparentes do que a orelha esquerda, que recebeu apenas aplicação da acetona. Nos animais tratados com a gliciteína nas doses de 1,0 (C) ou 3,0 mg/orelha (D), bem como com a dexametasona (E), as orelhas direitas apresentaram-se com menor vermelhidão, vascularização aparente e inchaço, quando comparadas às orelhas induzidas com TPA e tratadas com veículo.

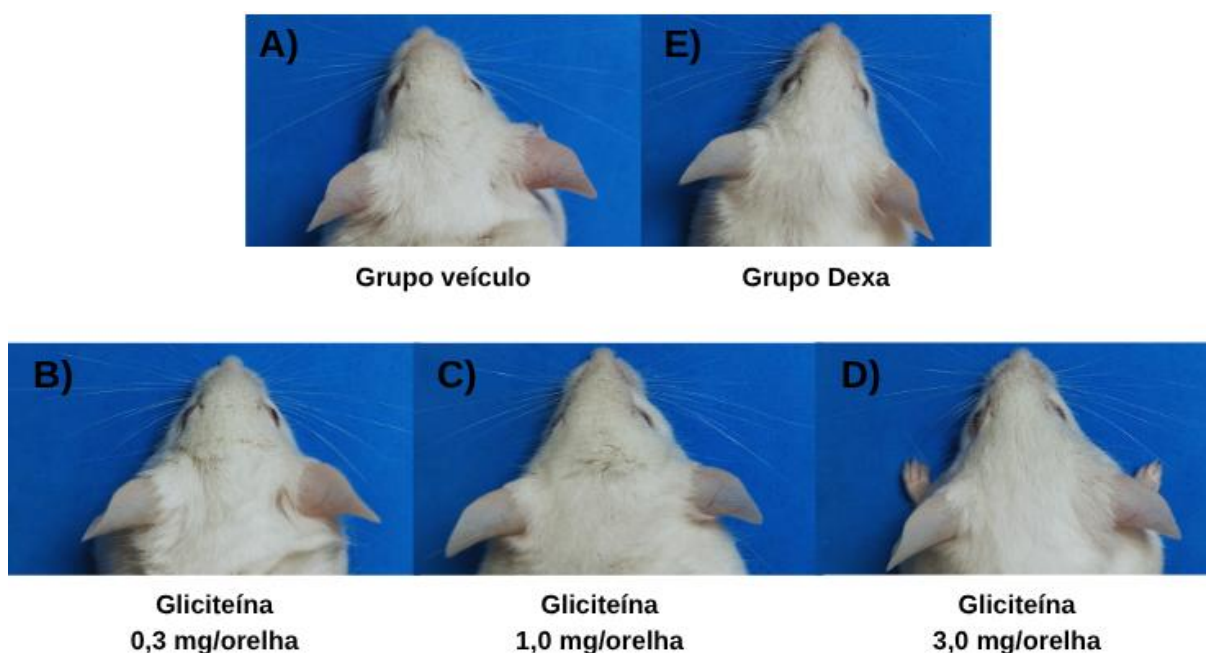


Figura 7: Alterações macroscópicas nas orelhas após 6 horas da aplicação do TPA

O edema foi avaliado pela subtração entre a massa dos sítios das orelhas direita e esquerda de cada animal. Nos grupos que receberam o tratamento com a administração tópica da gliciteína nas doses de 0,3, 1,0 ou 3,0 mg/orelha e nos que receberam a dexametasona (0,05 mg/orelha), foi constatado menos edema quando comparado aos animais que foram submetidos ao TPA (tratados apenas com o veículo), representado na Figura 8. Para as doses de 0,3, 1,0 e 3,0 mg/orelha, foi observado edema reduzido em 24,2, 36,8 e 33,2% ($p=0,036$; $p=0,0002$ e $p=0,001$,

respectivamente) e para a dexametasona foi reduzido em 65,2% ($p<0,0001$). A figura 8 mostra o resultado de 3 experimentos independentes com $n=5-6$ cada grupo em cada experimento, uma vez que a medida do edema foi realizada em diferentes experimentos em que as orelhas foram direcionadas para as distintas etapas experimentais (atividade de MPO, citocinas, histologia e estresse oxidativo).

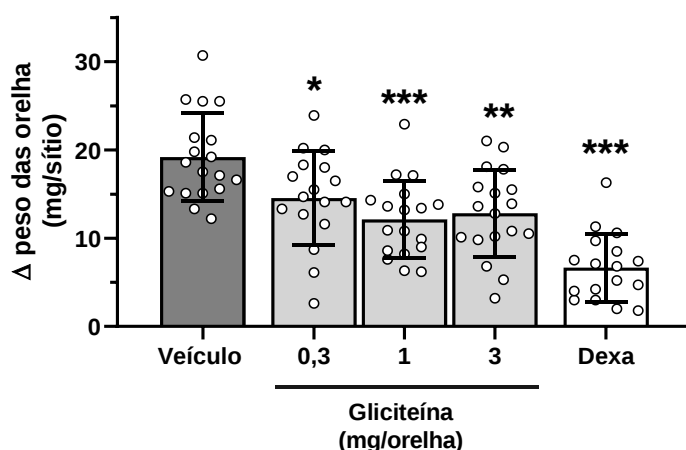


Figura 8: O tratamento com gliciteína diminui o edema de orelha.

A inflamação tópica foi induzida em todos os animais pela aplicação de TPA (1 μ g/orelha, $n=18$) nas orelhas direitas. O tratamento incluiu a gliciteína nas doses de 0,3 ($n=17$); 1,0 ($n=18$) ou 3,0 mg/orelha ($n=18$), ou com dexametasona (0,05 mg/orelha; Dexa, $n=17$). Os dados são mostrados como a variação da massa dos sítios das orelhas direitas (inflamadas) dos quais foi subtraída a massa da orelha contralateral. Média $\pm$ DP; ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey (* $p<0,05$, ** $p<0,01$ e *** $p<0,001$ vs grupo veículo).

Ao realizar a análise morfológica das secções histológicas coradas em HE das orelhas (Figura 9), foi observado que os grupos veículo e 0,3 mg/orelha de gliciteína exibiram características morfológicas muito semelhantes entre si. No entanto, esses dois grupos claramente se diferenciaram dos outros grupos analisados. Neles, a epiderme apresentou-se composta por epitélio pavimentoso estratificado delgado, ortoqueratinizado, com a presença ocasional de anexos cutâneos, como folículos pilosos e glândulas sebáceas. Na derme, foram identificadas áreas marcadas por perda acentuada da eosinofilia do tecido conjuntivo fibroso, além de expressivo aumento do espaço entre as fibrilas colágenas, alterações compatíveis com um quadro de edema intersticial severo. Observou-se ainda uma densa rede capilar, com vênulas hiperemiadas que participam da sustentação do tecido conjuntivo. O tecido conjuntivo edemaciado encontrava-se infiltrado por um intenso componente

inflamatório, composto por linfócitos, plasmócitos, histiócitos e polimorfonucleares, especialmente concentrados nas proximidades da epiderme (Figura 9B e C).

A análise morfológica dos grupos 1,0 e 3,0 mg/orelha mostrou quadros histológicos semelhantes, caracterizados pelo discreto espaçamento entre as fibras colágenas, sugerindo edema intersticial leve. Além disso, foi possível evidenciar a presença de infiltrado inflamatório, mas de leve intensidade e esparsamente distribuído. A hiperemia capilar-venular também se mostrou presente em algumas regiões dos espécimes (Figura 9D e E).

Os grupos acetona e dexta exibiram características histológicas mais próximas da normalidade (Figuras 9A e F). Nesse grupo, a epiderme estava formada por epitélio pavimentoso estratificado delgado, com superfície ortoqueratinizada e discreta camada granulosa. Anexos cutâneos, como glândulas sebáceas de morfologia habitual foram facilmente observados. A derme papilar apresenta tecido conjuntivo fibroso moderadamente colagenizado, com feixes de fibras paralelos à epiderme, acompanhados por fibroblastos maduros. Na derme reticular, há tecido fibroso menos compacto, áreas com células adiposas irregulares e presença eventual de tecido muscular estriado esquelético, em cortes transversais e longitudinais. Uma fina rede de vasos capilares completa a sustentação dérmica. Não foi evidenciada infiltração inflamatória conspícua nesses dois grupos, não sendo possível diferenciá-los apenas com base na análise histológica.

A análise da espessura dermo-epidérmica foi utilizada como medida indireta da intensidade do edema intersticial induzido na orelha dos animais experimentais. Foi observada espessura maior ($p < 0,0001$) no grupo veículo comparado ao grupo acetona. Além disso, nos grupos tratados com dexametasona e gliciteína 1,0 e 3,0 mg/orelha a espessura foi menor do que no grupo veículo ($p < 0,0001$ cada). Não houve diferença entre os grupos veículo e 0,3 mg/orelha, como demonstrado na Figura 10.

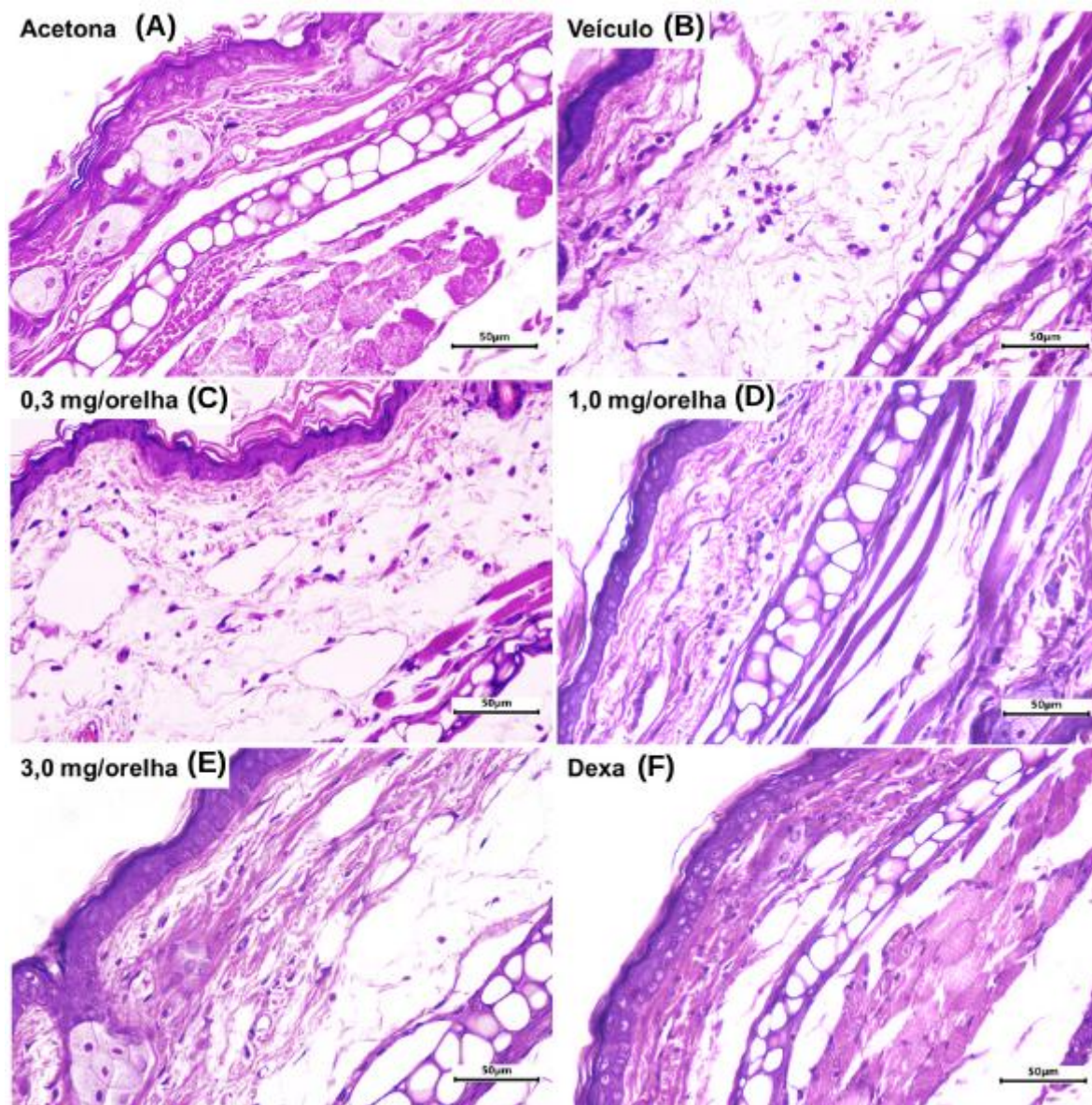


Figura 9: Análise morfológica das secções histológicas nos diferentes grupos experimentais.

Fotomicrografias de secções histológicas coradas em HE (200 ×) representativas dos principais aspectos histomorfológicos observados nos diferentes grupos experimentais.

Para estimar a infiltração de neutrófilos para o sítio da inflamação foi utilizada a análise da atividade de MPO. Dessa forma foi possível observar que o tratamento com gliciteína reduziu a atividade de MPO nas orelhas para todas as doses testadas em relação ao grupo veículo. Em comparação ao grupo veículo, as doses de 0,3, 1,0 e 3,0 mg/orelha reduziram em 90,1% ($p < 0,0001$), 87,3% ($p < 0,0001$) e 72,1% ($p < 0,0001$) a atividade da MPO. A aplicação da dexametasona também resultou na redução de 86,7% dessa enzima em relação ao grupo veículo ($p < 0,0001$), conforme mostra a Figura 11.

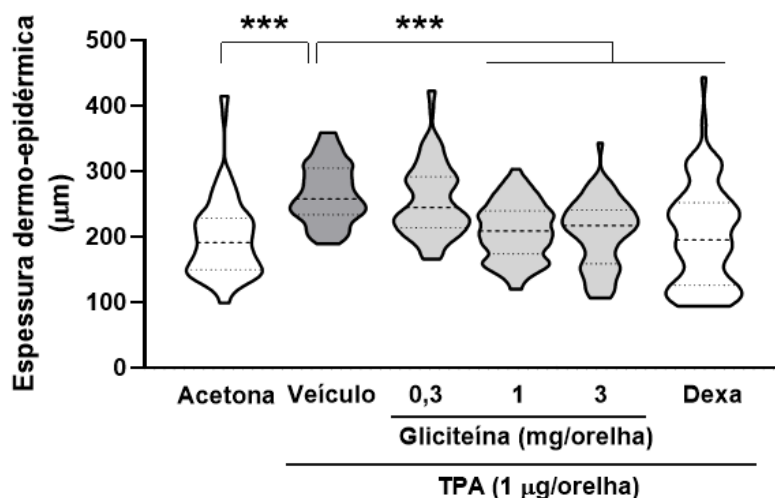


Figura 10: Determinação da espessura dermo-epidérmica média nos diferentes grupos experimentais.

Dados apresentados em gráficos violino mostrando a mediana e o intervalo interquartil (n= 6 animais, de 3 a 5 campos analisados por animal e 3 medidas cada campo). Teste de Kruskal-Wallis seguindo do teste de Dunn (**p<0,001).

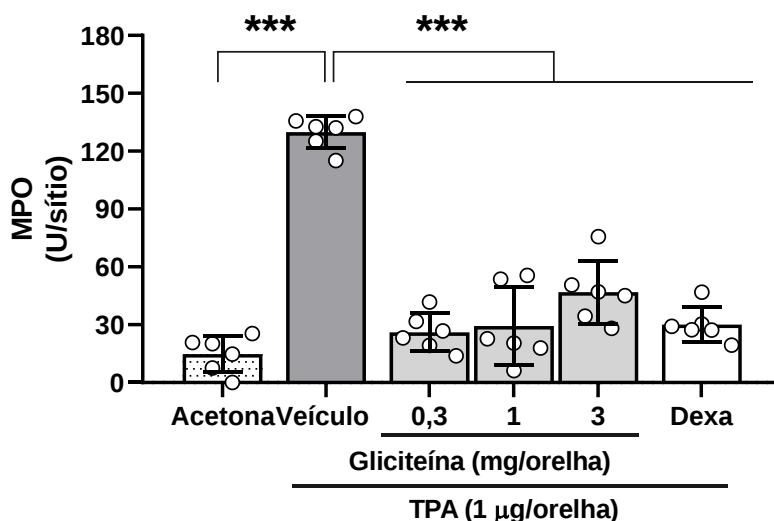


Figura 11: Mensuração da atividade de MPO nas orelhas

A inflamação tópica foi induzida em todos os animais pela aplicação de TPA (1 µg/orelha, n=6) nas orelhas direitas. O tratamento incluiu a gliciteína nas doses de 0,3 (n=6); 1,0 (n=6) ou 3,0 mg/orelha (n=6), ou com dexametasona (0,05 mg/orelha; Dexa, n=6). O grupo acetona (n=6) não recebeu tratamento com TPA. Os dados são mostrados como a concentração da MPO no tecido (em U/sítio). Média ± DP; ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey (**p<0,001).

Outro parâmetro utilizado para verificar a atividade anti-inflamatória da gliciteína foi a dosagem das concentrações teciduais de IL-6, IL-1β e TNF-α. Os animais que

receberam TPA + acetona (grupo veículo) apresentaram maiores concentrações de todas as citocinas analisadas quando comparadas aos animais que foram submetidos apenas a acetona ($p < 0,0001$, Figura 12). Ainda, foi verificada a redução para todas as citocinas e nas três doses de gliciteína, quando comparadas ao grupo veículo.

Para a IL-6 foram verificadas concentrações 58,5% ($p = 0,0007$), 56,5% ($p = 0,0006$), 66,8% ($p < 0,0001$) e 42,2% ($p = 0,019$) menores com o tratamento com as doses de gliciteína de 0,3, 1,0 e 3,0 mg/orelha e para o tratamento com dexametasona, respectivamente, em relação ao grupo veículo (Figura 12A).

Para a IL-1 β foram medidas concentrações 57,3% ($p = 0,0002$), 54,8% ($p = 0,0002$), 59,3% ($p < 0,0001$) e 55,9% ($p = 0,0002$) menores com as doses de gliciteína de 0,3, 1,0 e 3,0 mg/orelha e no grupo dexametasona, respectivamente, em relação ao grupo veículo (Figura 12B).

Para o TNF- α , foram detectadas concentrações 54,9% ($p = 0,011$), 61,2% ($p = 0,002$), 61,6% ($p = 0,002$) e 48,7% ($p = 0,014$) menores com as doses de gliciteína de 0,3, 1,0 e 3,0 mg/orelha e no grupo dexametasona, respectivamente, em relação ao grupo veículo (Figura 12C).

Para avaliar a ação antioxidante da gliciteína no modelo experimental de edema induzido por TPA nas orelhas, foi mensurado a concentração de hidroperóxidos totais no tecido das orelhas dos camundongos, como demonstrado na Figura 13. Foi constatado que, quando comparado à orelha que foi submetida apenas à aplicação de acetona, a aplicação de TPA aumentou a concentração de hidroperóxidos totais ($p < 0,0001$). No grupo que recebeu o tratamento tópico com a gliciteína nas doses de 1,0 ou 3,0 mg/orelha, a concentração desses hidroperóxidos foi menor em 60,15% ($p = 0,014$) e 81,4% ($p = 0,0004$) em comparação à ação indutora observada no grupo veículo. No grupo que recebeu dexametasona, a concentração dos hidroperóxidos foi bastante semelhante ao grupo acetona ($p < 0,0001$). Não houve diferença entre as orelhas tratadas com a dose de 0,3 mg/orelha de gliciteína e o grupo veículo.

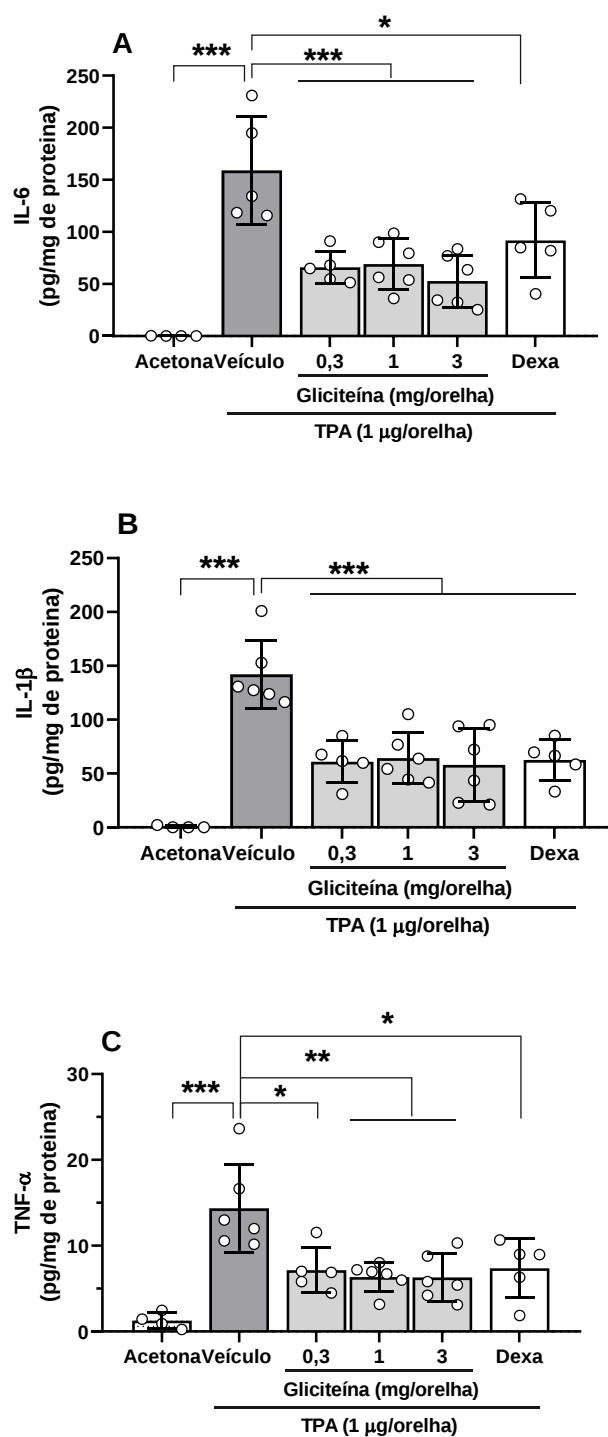


Figura 12: Concentração de IL-6 (A), IL-1β (B), TNF-α (C) na orelha.

A inflamação tópica foi induzida em todos os animais pela aplicação de TPA (1 µg/orelha, n=5-6) nas orelhas direitas. O tratamento incluiu a gliciteína nas doses de 0,3 (n=5); 1,0 (n=6) ou 3,0 mg/orelha (n=6), ou com dexametasona (0,05 mg/orelha; Dexa, n=5). O grupo acetona (n=4) não recebeu tratamento com TPA. A concentração das citocinas está mostrada em pg/mg de proteína. Média ± DP (n=4-6). ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey. * (p<0,05), ** (p<0,01) e *** (p<0,001).

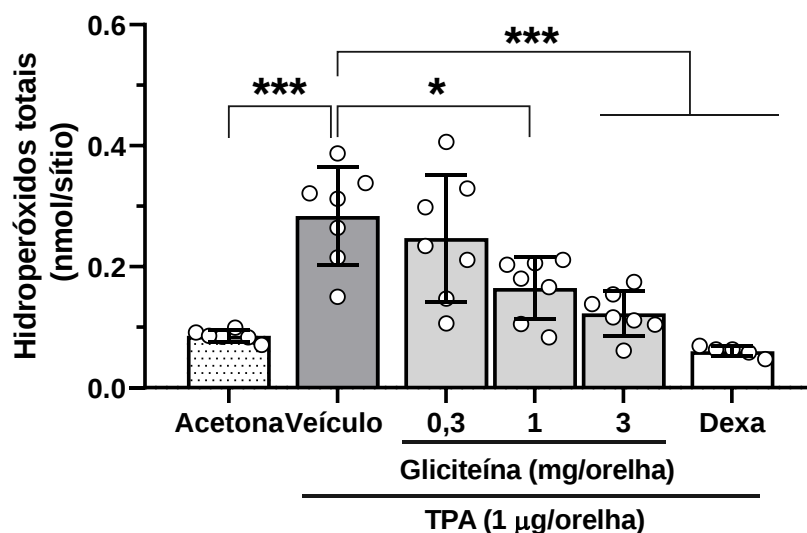


Figura 13: Concentração de hidroperóxidos totais

A inflamação tópica foi induzida em todos os animais pela aplicação de TPA (1 µg/orelha, n=7) nas orelhas direitas. O tratamento incluiu a gliciteína nas doses de 0,3 (n=7); 1,0 (n=7) ou 3,0 mg/orelha (n=7), ou com dexametasona (0,05 mg/orelha; Dexa, n=5). O grupo acetona (n=6) não recebeu tratamento com TPA. A concentração de hidroperóxidos está mostrada em nmol/sítio. Média ± DP (n=5-7). ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey. * (p<0,05) e *** (p<0,001).

A partir destes resultados, a dose de 1,0 mg de gliciteína/orelha foi escolhida para o próximo experimento, uma vez que na dose de 0,3 mg/orelha não houve efeito em alguns parâmetros avaliados e a dose de 1,0 foi a menor dose a reduzir todos os parâmetros mensurados no estudo. Dessa forma, foram avaliadas a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). O experimento para avaliação da atividade dessas enzimas seguiu-se apenas com uma dose para respeitando os princípios dos 3Rs (*Replacement* - substituição, *Reduction* – redução e *Refinement* – refinamento), sendo aplicado o princípio da redução, de modo a utilizar o menor número possível de animais sem comprometer a qualidade científica do resultado. Assim, a dose de 1,0 mg/orelha foi testada e promoveu um aumento de 55,8% (p=0,009) para a atividade de catalase (CAT) e 76,3% (p=0,001) para a superóxido dismutase (SOD).

A atividade de CAT e a SOD foi reduzida no grupo em que foi aplicado o TPA (grupo veículo) em comparação ao grupo que recebeu apenas acetona (p<0,0001, Figura 14). Nessa perspectiva, no grupo tratado com gliciteína na dose de 1 mg/orelha, a atividade da CAT e da SOD foram respectivamente 55,8% (p=0,009) e 76,3%

($p=0,001$) maiores em comparação ao grupo veículo. Nos animais que receberam o tratamento com a dexametasona também foi verificado aumento da atividade da enzima CAT e SOD, em 75,6% ($p=0,0006$) e 67,5% ($p=0,004$), respectivamente (Figura 14).

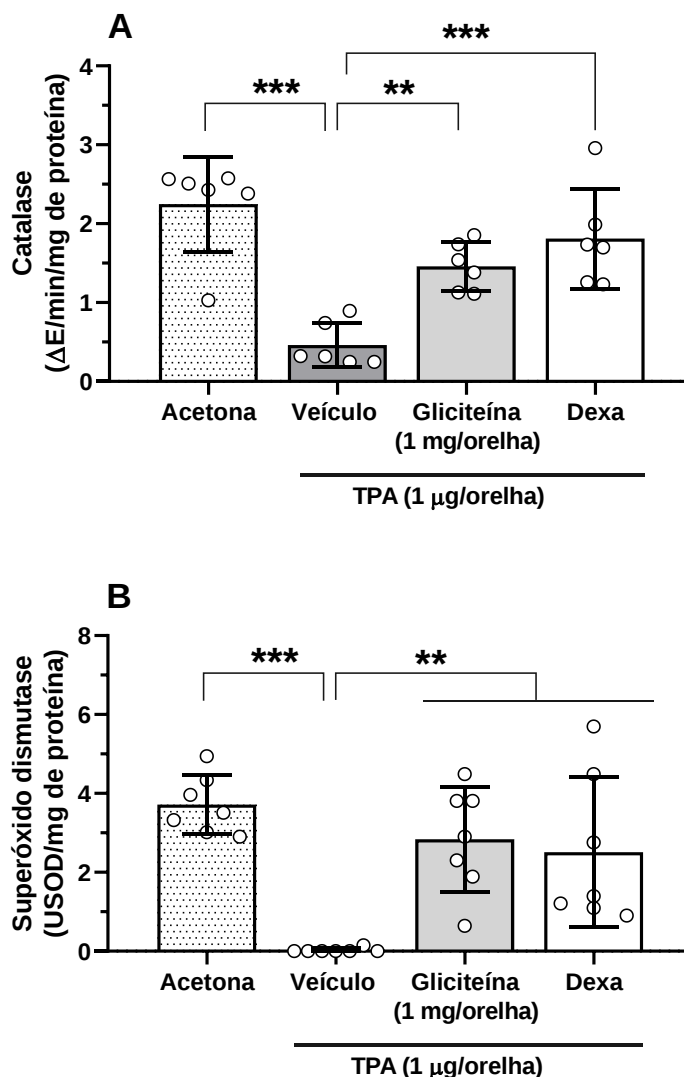


Figura 14: Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes CAT (A) e SOD (B)

A inflamação tópica foi induzida em todos os animais pela aplicação de TPA (1 $\mu\text{g/orelha}$, $n=6-7$) nas orelhas direitas. O tratamento incluiu a gliciteína na dose de 1,0 ($n=6-7$) mg/orelha ou com dexametasona (Dexa, 0,05 mg/orelha; $n=6-7$). O grupo acetona ($n=6-7$) não recebeu tratamento com TPA. A concentração de SOD está mostrada em USOD/mg de proteína. Média $\pm$ DP ($n=6-7$). ANOVA de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey. ** ($p < 0,01$) e *** ($p < 0,001$).

6. DISCUSSÃO

Neste estudo, foi avaliado a atividade anti-inflamatória e antioxidante da gliciteína, utilizando o modelo de edema de orelha induzido por TPA em camundongos. Os efeitos anti-inflamatórios dessa isoflavona já foram demonstrados *in vitro*, ao inibir a produção de NO em macrófagos RAW 264.7 (Sheu; Lai; Yen, 2001), TNF- α , IL-1 β em células BV2 de microglia (Park *et al.*, 2007), PGE2 em macrófagos peritoneais (Yamak *et al.*, 2002) e a expressão de iNOS e COX-2, além de ativar a via ERK1/2 e inibir as vias JNK e MAPKs p38 em queratinócitos (Wongkarn *et al.*, 2025). Ademais, a gliciteína apresentou ação antitumoral ao inibir a via AP-1/NF- κ B em gliomas (Lee *et al.*, 2010) e a via MAPK/STAT3/NF- κ B em células de câncer gástrico (Zang *et al.*, 2019), além de exercer efeitos neuroprotetores, ao reduzir a produção de ROS em células SK-N-SH e PC12 (Dong; Yang, 2022; Zhao *et al.*, 2025) e inibir a peroxidação lipídica e a concentração de TNF- α em camundongos (Diksha; Singh, 2023). Esses achados reforçam o potencial terapêutico da gliciteína em condições inflamatórias.

O presente estudo representa a primeira investigação experimental *in vivo* sobre o potencial terapêutico da gliciteína de forma tópica. A partir de um modelo de inflamação de pele em camundongos, foram analisados parâmetros que demonstram atividades anti-inflamatórias e antioxidantes deste composto.

Verificamos que a aplicação tópica com a gliciteína foi efetiva para a redução da inflamação, avaliada inicialmente pelo Δ da massa dos sítios da orelha. Esses achados corroboram aos obtidos na análise histológica, uma vez que a intensidade do edema intersticial foi reduzida nas doses de 1,0 mg/orelha e 3,0 mg/orelha, o que também foi verificado pela espessura dermo-epidérmica. É interessante observar que a dose de 0,3 mg/orelha, embora tenha reduzido o Δ do sítio da orelha e a atividade de MPO, não foi suficiente para afetar a espessura dermo-epidérmica do tecido. O edema induzido por lesão tecidual provoca a perda de líquido da circulação para o tecido, principalmente nas primeiras horas, estando associado à lesão tecidual e à inflamação. Esse acúmulo de fluidos promove uma expansão anormal do tecido, aumentando a sua espessura e massa, o que serve como parâmetro para avaliar o volume e a gravidade do edema (Qin; Wang, 2016).

A ação anti-inflamatória da gliciteína também foi constatada ao avaliarmos a infiltração de neutrófilos para o tecido, representada pela atividade da MPO. Foi verificado que todas as doses da gliciteína testadas promoveram a diminuição da MPO. Esses achados também concordam com os resultados obtidos na análise histológica, uma vez que, o infiltrado inflamatório (mono e polimorfonuclear) visualizado no tecido foi mais discreto nas doses de 1,0 mg/orelha e 3,0 mg/orelha quando comparado encontrado nos grupos veículo. Contudo, a dose 0,3 mg/orelha apresentou características de infiltrado semelhantes às do grupo veículo, o que gera questionamentos relacionados à atividade anti-inflamatória nesta dose. Apesar das diferenças de resultados observados entre o dado histológico e os dados de edema e atividade de MPO para a dose de 0,3 mg/orelha e uma aparente imprecisão quanto ao seu efeito nesta dose, a ação anti-inflamatória da gliciteína está garantida a partir da dose de 1 mg/orelha.

Um estudo anterior verificou que ensaios bioquímicos como a MPO e a concentração de citocinas como a IL-6 são considerados métodos sensíveis para detectar alterações inflamatórias (Faith *et al.*, 2008). Embora a avaliação histopatológica seja um método confiável, quando baixas doses de um agente são aplicadas, a análise pode ser menos sensível (Elmore, 2012). Assim, é possível sugerir que a dose de 0,3 mg/orelha promoveu uma redução parcial no recrutamento e ativação de neutrófilos, detectado pela atividade de MPO, mas não tão evidente quando avaliado o infiltrado de células ou a espessura do tecido na análise histopatológica.

Ademais, a atividade da MPO é amplamente utilizada para avaliar indiretamente o número de neutrófilos, refletindo a quantidade de enzima presente e o grau de ativação funcional dos neutrófilos. A produção de ROS pela MPO, por exemplo, oxida biomoléculas e gera produtos que atuam como quimioatrativos e ativadores celulares (Hawkins; Davies, 2021). Além disso, foi relatado que a atividade da MPO pode aumentar mesmo sem aumento proporcional da quantidade de MPO presente (Hanning; De Man; De Winter, 2023), o que destaca a importância de considerar não só as concentrações da enzima no tecido, mas também a atividade funcional dos neutrófilos no contexto da inflamação. Esse achado sugere que o potencial da dose de 0,3 mg/orelha em reduzir a atividade da MPO pode estar associado à atividade funcional dos neutrófilos, reduzindo seu potencial oxidativo,

apesar de não reduzir o número de células infiltradas e as alterações estruturais no tecido, que necessitam de uma supressão inflamatória mais robusta para serem detectáveis. É importante destacar que as concentrações de citocinas também foram reduzidas nessa dose, possivelmente devido a utilização de um método mais sensível para detectar essas alterações inflamatórias (Faith *et al.*, 2008).

A liberação das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 está diretamente associada ao recrutamento de células imunes, como monócitos e neutrófilos, ao local da lesão (Saha *et al.*, 2020). A aplicação tópica do TPA, por sua vez, é amplamente descrita na literatura por estimular a liberação de citocinas (Sharma *et al.*, 2014; Zeng *et al.* 2018; Kong; Xu, 2018; Bustos-Salgado *et al.*, 2021), que possuem diversas funções biológicas envolvidas na indução da resposta inflamatória de fase aguda (Liu *et al.*, 2021). Assim, juntamente com a redução na atividade da MPO encontramos o mesmo para a concentração das citocinas pró-inflamatórias, TNF- α , IL-1 β e IL-6, no tecido inflamado tratado com a gliciteína tópica.

De fato, os achados do atual estudo condizem com os resultados relatados na literatura, em que foi demonstrado que a utilização da gliciteína em linhagem celular de micróglia (BV2), provocou a inibição da liberação de TNF- α e da expressão de mRNA de IL-1 β (Park *et al.*, 2007), além de reduzir a produção das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e IL-8 em modelo de inflamação de queratinócitos cutâneos induzidos por UVB (Wongkarn *et al.*, 2025). É relevante destacar que um dos mecanismos de ação do controle positivo, a dexametasona, é através da redução da transcrição de genes pró-inflamatórios, levando à supressão de citocinas como IL-1, IL-6, TNF- α , entre outras (Noreen; Maqbool; Madni, 2021).

É conhecido que os flavonoides são descritos como inibidores de diversos mediadores pró-inflamatórios. Isso ocorre devido à inibição de enzimas-chave envolvidas na síntese de prostaglandinas, como a COX, além da diminuição da produção de citocinas inflamatórias, que promovem ativação celular e estimulam moléculas de adesão (Manthey, 2000). Além disso, a inibição MAPK e do NF- κ B e a sua atuação em receptores TLRs são alvos bem relatados para compostos flavonoides (Owona; Abia; Moundipa, 2020). Sendo que, a produção de citocinas pró-inflamatórias está intimamente relacionada à ativação da via de sinalização do NF- κ B após o reconhecimento de PAMPs ou DAMPs pelos receptores TLR na pele (Liu, *et al.*, 2017).

Baseado na literatura, um dos principais mecanismos das isoflavonas na redução de mediadores inflamatórios é o bloqueio da via transcricional do NF- κ B (Yu *et al.*, 2016). Este mecanismo parece estar de acordo com o nosso estudo e nos permite sugerir que o efeito anti-inflamatório tópico da gliciteína pode estar associado à inibição da via do NF- κ B (Lee *et al.*, 2010; Zang *et al.*, 2019). Contudo, estudos anteriores apontam que a supressão de outras vias como a MAPK (Wongkarn *et al.*, 2025; Zang *et al.*, 2019) e JNK, e a ativação da via ERK1/2 (Wongkarn *et al.*, 2025), também podem estar associados à redução de mediadores inflamatórios observada.

É sabido que a fase inicial do estresse oxidativo está associada à ativação da via do NF- κ B (Lingappan, 2018), que é induzida pela ação de enzimas como iNOS, COX-2 e contribui para a amplificação dos danos celulares causados por ROS (Morgan; Liu, 2011). Sendo assim, a possível inibição da via do NF- κ B pela gliciteína pode ser o mecanismo envolvido tanto na diminuição da liberação das citocinas pró-inflamatórias, quanto na redução do estresse oxidativo, considerando a ação da gliciteína em suprimir a expressão de iNOS (Park *et al.*, 2007; Wongkarn *et al.*, 2025) e de COX-2 (Wongkarn *et al.*, 2025).

A aplicação tópica de TPA é bastante relatada como sendo um agente indutor direto da peroxidação lipídica e da geração de ROS em camundongos (Perchellet; Perchellet, 1989; Nakamura *et al.*, 1998; Ho *et al.*, 2007; Rahman *et al.*, 2008; Li; Wu; Zhang, 2025). A peroxidação lipídica é um indicador clássico de dano oxidativo celular, de modo que a oxidação excessiva de lipídios provoca alterações na organização e em propriedades físicas das estruturas das membranas, sendo um mediador central de várias condições patológicas (Gaschler; Stockwell, 2017; Scanavachi *et al.*, 2021).

Esse potencial protetor contra o estresse oxidativo induzido por TPA foi relatado no presente estudo, no qual, ao tratarmos as orelhas com a gliciteína, a concentração de hidroperóxidos totais foi reduzida. Os hidroperóxidos são formados principalmente a partir do processo de peroxidação lipídica, em que fosfolipídios da membrana entram em contato com agentes oxidantes de ROS (Juan *et al.*, 2021), estando associados também à indução de danos e mutações em proteínas e DNA (Termini, 2000). O resultado encontrado no presente trabalho está em consonância com estudos encontrados na literatura em que a gliciteína foi utilizada *in vitro*. Os autores demonstraram os efeitos inibitórios desse composto sobre a geração de ROS (Kang

et al., 2007; Dong; Yang, 2022; Zhao *et al.*, 2025), e pela da inibição da peroxidação lipídica (Diksha; Singh, 2023), exercendo efeitos protetores sobre o dano celular.

A MPO é um catalisador enzimático que executa um importante papel para o início da peroxidação lipídica em processos inflamatórios (Zhang *et al.*, 2002). Assim, através da utilização do H_2O_2 , esta enzima promove a ruptura de biomembranas e disfunção celular, bem como a produção de quimioatraentes, eicosanóides e moléculas de sinalização, sendo um potencial agente em doenças inflamatórias ao alterar proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (Zhang *et al.*, 2002; Osawa, 2018). Dessa maneira, a diminuição da atividade da MPO pela gliciteína pode estar associada à inibição do dano oxidativo e consequente redução das concentrações de hidroperóxidos totais constatada no presente trabalho (Ayala; Muñoz; Argüelles, 2014).

Diante do exposto, sabendo que peroxidação de lipídios pode causar danos consideráveis ao tecido se não for devidamente controlada, o aumento de agentes antioxidantes, como enzimas, é fundamental para a preservação da homeostase redox (Tretter *et al.*, 2021; Sies; Mailloux; Jakob, 2024). As enzimas antioxidantes desempenham um papel protetor contra alterações oxidativas devido a sua capacidade de decompor ROS, altamente reativas, em compostos mais estáveis, no intuito de conservar a integridade dos componentes celulares (He *et al.*, 2017).

Neste estudo, foi analisado o efeito da gliciteína sobre a modulação das enzimas CAT e SOD, que são consideradas as enzimas mais importantes para a atividade antioxidantes *in vivo* (He *et al.*, 2017). Sabe-se que aplicação tópica do TPA em camundongos reduz a atividade da SOD e CAT na epiderme (Solanki; Rana; Slaga, 1981; Chaudhary *et al.*, 2009; Fu *et al.*, 2013; Fu; Chen; Guo, 2020). Os flavonoides, por sua vez, estão associados ao aumento da atividade dessas enzimas (Chen; Long; Guo, 2016; Wang *et al.*, 2020). Assim, verificamos que o tratamento com a gliciteína aumentou tanto a atividade da CAT, quanto da SOD. A SOD é responsável por converter o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) em oxigênio e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Por sua vez, a CAT, utiliza o H_2O_2 como substrato, neutralizando-o através da sua decomposição em água e O_2 (He *et al.*, 2017).

De modo oposto à via do NF- κ B, a ativação da cascata de sinalização do fator nuclear eritróide 2 (Nrf2) é conhecida por reduzir o estresse oxidativo e a inflamação

ao neutralizar a resposta inflamatória induzida pelo NF- κ B (Saha *et al.*, 2020). Ainda, essa via inibe a ativação do NF- κ B mediada pelo estresse oxidativo, além de controlar a concentração de ROS por meio da indução de enzimas antioxidantes (Saha *et al.*, 2020). Estudos anteriores indicam que a ativação da via ERK1/2 está diretamente associada à indução da via Nrf2, a qual regula a expressão de enzimas antioxidantes (Piao *et al.*, 2024). A gliciteína demonstrou estar associada à ativação da via de sinalização ERK1/2 (Wongkarn *et al.*, 2025). Dessa forma, é possível sugerir que a gliciteína promove a ativação da via Nrf2 e estimula a expressão de enzimas antioxidantes por meio da ativação da via.

Diante do exposto, os achados do presente trabalho demonstraram que a aplicação tópica da gliciteína reduziu a inflamação e o estresse oxidativo. Contudo, apesar dos importantes resultados obtidos, o estudo apresenta limitações que envolvem a não realização de análises que poderiam complementar os dados existentes, como a identificação dos mecanismos moleculares e vias de sinalização associadas aos efeitos encontrados.

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados analisados em conjunto mostraram que a gliciteína possui potencial de reduzir a atividade inflamatória e pró-oxidante no modelo de edema de orelha induzido por TPA em camundongos. Tal potencial é evidenciado pela redução do edema das orelhas, do infiltrado de neutrófilos no tecido, das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 e de hidroperóxidos totais, além do aumento das enzimas antioxidantes CAT e SOD. Sendo assim, a gliciteína apresenta efeito promissor na atenuação de processos inflamatórios na pele e os resultados obtidos podem fomentar pesquisas sobre o desenvolvimento de novos tratamentos tópicos para doenças inflamatórias cutâneas. No entanto, essa pesquisa representa o passo inicial para estabelecer sua aplicação terapêutica com segurança e eficácia.

8. REFERÊNCIAS

- AHMAD, S.; AHSAN, F.; ANSARI, J. A.; MAHMOOD, T.; BANO, S.; SHAHANAWAZ, M. Bioflavonoid daidzein: therapeutic insights, formulation advances, and future directions. **Drug Research**, 2024.
- AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, n. 1, p. 360438, 2014.
- BINDU, S.; MAZUMDER, S.; BANDYOPADHYAY, U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. **Biochemical pharmacology**, v. 180, p. 114147, 2020.
- BLOEDON, L. T.; JEFFCOAT, A. R.; LOPACZYNSKI, W.; SCHELL, M. J.; BLACK, T. M.; DIX, K. J.; THOMAS, B. F.; ALBRIGHT, C.; BUSBY, M. G.; CROWELL, J. A.; ZEISEL, S. H. Safety and pharmacokinetics of purified soy isoflavones: single-dose administration to postmenopausal women. **The American journal of clinical nutrition**, v. 76, n. 5, p. 1126-1137, 2002.
- BONFIM, R. R.; PAIVA-SOUZA, I. O.; MORAES, J. P.; PEREIRA, D. S.; SANTOS, C. A.; SANTANA, D. G.; CAMARGO, E. A. Isopropoxy-carvacrol, a derivative obtained from carvacrol, reduces acute inflammation and nociception in rodents. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 115, n. 3, p. 237-243, 2014.
- BORRESEN, S. W.; KLOSE, M.; GLINTBORG, D.; WATT, T.; ANDERSEN, M. S.; FELDT-RASMUSSEN, U. Approach to the patient with glucocorticoid-induced adrenal insufficiency. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 107, n. 7, p. 2065-2076, 2022.
- BOSHTAM, M.; ASGARY, S.; KOUHPAYEH, S.; SHARIATI, L.; KHANAHMAD, H. Aptamers against pro-and anti-inflammatory cytokines: a review. **Inflammation**, v. 40, p. 340-349, 2017.
- BOUTAS, I.; KONTOGEORGI, A.; DIMITRAKAKIS, C.; KALANTARIDOU, S. N. Soy isoflavones and breast cancer risk: a meta-analysis. **in vivo**, v. 36, n. 2, p. 556-562, 2022.

BRADLEY, J. R. TNF-mediated inflammatory disease. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 214, n. 2, p. 149-160, 2008.

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of Cutaneous Inflammation: Estimation of Neutrophil Content with an Enzyme Marker. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 78, n. 3, p. 206-209, 1982.

BUSTOS-SALGADO, P.; ANDRADE-CARRERA, B.; DOMÍNGUEZ-VILLEGAS, V.; DÍAZ-GARRIDO, N.; RODRÍGUEZ-LAGUNAS, M. J.; BADÍA, J.; BALDOMÀ, L.; MALLANDRICH, M.; CALPENA-CAMPMANY, A.; GARDUÑO-RAMÍREZ, M. L. Screening anti-inflammatory effects of flavanones solutions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8878, 2021.

CALDER, P. C. Eicosanoids. **Essays in Biochemistry**, v. 64, n. 3, p. 423-441, 2020.

CALDER, P. C. n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 6, p. 1505S–1519S, 2006.

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

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15–25, 2013.

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L. T.; EVANSON, N. K.; TOMSIK, J.; ELTON, T. S.; SIMMONS, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 21, p. 13926-13931, 2002.

CHAUDHARY, S. C.; ALAM, M. S.; 'SIDDIQUI, M. S.; ATHAR, M. Chemopreventive effect of farnesol on DMBA/TPA-induced skin tumorigenesis: involvement of inflammation, Ras-ERK pathway and apoptosis. **Life sciences**, v. 85, n. 5-6, p. 196-205, 2009.

CHEN, W. Y.; CHEN, S. C.; HSU, S. Y.; LIN, Y. A.; SHIH, C. M.; HUANG, C. Y.; WANG, K. H.; LEE, A. W. Annoying psoriasis and atopic dermatitis: a narrative review. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 9, p. 4898, 2022.

CHRISTENSEN, R. E.; JAFFERANY, M. Psychiatric and psychologic aspects of chronic skin diseases. **Clinics in Dermatology**, v. 41, n. 1, p. 75-81, 2023.

COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment). Phytoestrogens and Health, **Food Standards Agency**, 2003.

DAINICHI, T.; IWATA, M. Inflammatory loops in the epithelial-immune microenvironment of the skin and skin appendages in chronic inflammatory diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1274270, 2023.

DAMASCENA, H. L.; SILVEIRA, W. A. A.; CASTRO, M. S.; FONTES, W. Neutrophil activated by the famous and potent PMA (phorbol myristate acetate). **Cells**, v. 11, n. 18, p. 2889, 2022.

DANCIU, C.; AVRAM, S.; PAVEL, I. Z.; GHIULAI, R.; DEHELEAN, C. A.; ERSILIA, A.; MINDA, D.; PETRESCU, C.; MOACA, E. A.; SOICA, C. Main isoflavones found in dietary sources as natural anti-inflammatory agents. **Current drug targets**, v.19, n. 7, p. 841-853, 2018.

DE MATOS, R. C.; BITENCOURT, A. F.; DE OLIVEIRA, A. D.; PRADO, V. R.; MACHADO, R. R.; SCOPEL, M. Evidence for the efficacy of anti-inflammatory plants used in Brazilian traditional medicine with ethnopharmacological relevance. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 118137, 2024.

DE YOUNG, L. M.; KHEIFETS, J. B.; BALLARON, S. J.; YOUNG, J. M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents and actions**, v. 26, p. 335-341, 1989.

DERANGULA, M.; PANATI, K.; NARALA, V. R. Biochanin A ameliorates ovalbumin-induced airway inflammation through peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in a mouse model. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets**, v. 21, n. 1, p. 145-155, 2021.

DIAS, M. C.; PINTO, D. C. G. A.; SILVA, A. M. S. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5377, 2021.

DIKSHA; SINGH, L. Glycitein prevents reserpine-induced depression and associated comorbidities in mice: modulation of lipid peroxidation and TNF- α levels. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, p. 1-11, 2024.

DONG, H.; CHE, Y.; ZHU, X.; ZHONG, Y.; LIN, J.; WANG, J.; DU, W.; SONG, T. (2024). Total syntheses and antibacterial studies of natural isoflavones: Scandone, osajin, and 6, 8-diprenylgenistein. **Molecules**, v. 29, n. 11, p. 2574, 2024.

DONG, N.; YANG, Z. Glycitein exerts neuroprotective effects in Rotenone-triggered oxidative stress and apoptotic cell death in the cellular model of Parkinson's disease. **Acta Biochimica Polonica**, v. 69, n. 2, p. 447-452, 2022.

Dutra, R. C.; Campos, M. M.; Santos, A. R.; Calixto, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

ELMORE, S. A. Enhanced histopathology of the immune system: a review and update. **Toxicologic pathology**, v. 40, n. 2, p. 148-156, 2012.

ESCOTER-TORRES, L.; CARATTI, G.; MECHTIDOU, A.; TUCKERMANN, J.; UHLENHAUT, N. H.; VETTORAZZI, S. Fighting the fire: mechanisms of inflammatory gene regulation by the glucocorticoid receptor. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1859, 2019.

ESPOSITO, M.; SARACENO, R.; GIUNTA, A.; MACCARONE, M.; CHIMENTI, S. An Italian study on psoriasis and depression. **Dermatology**, v. 212, n. 2, p. 123-127, 2006.

FAITH, M.; SUKUMARAN, A.; PULIMOOD, A. B.; JACOB, M. How reliable an indicator of inflammation is myeloperoxidase activity?. **Clinica Chimica Acta**, v. 396, n. 1-2, p. 23-25, 2008.

FEEHAN, K. T.; GILROY, D. W. Is Resolution the End of Inflammation? **Trends in Molecular Medicine**, v. 25, n.3, p. 198-214, 2019.

FELIX, F. B.; VAGO, J. P.; BELTRAMI, V. A.; ARAUJO, J. M. D.; GRESPAN, R.; TEIXEIRA, M. M.; PINHO, V. Biochanin A as a modulator of the inflammatory

response: An updated overview and therapeutic potential. **Pharmacological Research**, v. 180, p. 106246, 2022.

FELIX, F. B.; VAGO, J. P.; BELTRAMI, V. A.; ARAUJO, J. M. D.; GRESPAN, R.; TEIXEIRA, M. M.; PINHO, V. Biochanin A as a modulator of the inflammatory response: an updated overview and therapeutic potential. **Pharmacological Research**, v. 180, p. 106246, 2022.

FERNANDES, A.; RODRIGUES, P. M.; PINTADO, M.; TAVARIA, F. K. A systematic review of natural products for skin applications: Targeting inflammation, wound healing, and photo-aging. **Phytomedicine**, v. 115, p. 154824, 2023.

FINE, M. Quantifying the impact of NSAID-associated adverse events. **Am J Manag Care**, v. 19, n. 14 Suppl, p. s267-72, 2013.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239-247, 2000.

FREIRE, M. O.; VAN DYKE, T. E. Natural resolution of inflammation. **Periodontology** **2000**, v. 63, n. 1, p. 149-164, 2013.

FU, R.; CHEN, F.; GUO, Y. Anti-inflammatory mechanism and active ingredients of the Chinese tallow tree. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 250, p. 112497, 2020.

FU, R.; ZHANG, Y. T.; GUO, Y. R.; HUANG, Q. L.; PENG, T.; XU, Y.; TANG, L.; CHEN, F. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the phenolic extracts of *Sapium sebiferum* (L.) Roxb. leaves. **Journal of ethnopharmacology**, v. 147, n. 2, p. 517-524, 2013.

FÜRSTENBERGER, G.; RICHTER, H.; FUSENIG, N. E.; MARKS, F. Arachidonic acid and prostaglandin E2 release and enhanced cell proliferation induced by the phorbol ester TPA in a murine epidermal cell line. **Cancer Letters**, v. 11, n. 3, p. 191-198, 1981.

GABRIELSON, E. W.; KUPPUSAMY, P.; POVEY, A. C.; ZWEIER, J. L.; HARRIS, C. C. Measurement of neutrophil activation and epidermal cell toxicity by palytoxin and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. **Carcinogenesis**, v. 13, n. 9, p. 1671-1674, 1992.

GASCHLER, M. M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 482, n. 3, p. 419-425, 2017.

GERRITSEN, M. E. Flavonoids: inhibitors of cytokine induced gene expression. **Flavonoids in the living system**, p. 183-190, 1998.

GIODA, C.R.; DE OLIVEIRA, B. T.; PRÍMOLA-GOMES, T.N.; DE LIMA, D.C.; CAMPOS, P.P.; CAPETTINI, L. S.; LAUTON-SANTOS, S.; VASCONCELOS, A.C.; COIMBRA, C.C.; LEMOS, V.S.; PESQUERO, J.L.; CRUZ, J.S. Cardiac oxidative stress is involved in heart failure induced by thiamine deprivation in rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 298, n. 6, p. H2039-H2045, 2010.

GORZALCZANY, S.; ROSELLA, M. A.; SPEGAZZINI, E. D.; ACEVEDO, C.; DEBENEDETTI, S. L. Anti-inflammatory activity of *Heterotheca subaxillaris* var. *latifolia* (Buckley) Gandhi & RD Thomas, Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 876-879, 2009.

GOYAL, M. M.; BASAK, A. Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell*, v. 1, n. 10, p. 888–897, 2010.

GROTTO, D.; MARIA, L. S.; VALENTINI, J.; PANIZ, C.; SCHMITT, G.; GARCIA, S. C.; POMBLUM, V. J.; ROCHA, J. B. T.; FARINA, M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. **Quimica Nova**, v. 32, p. 169-174, 2009.

HÄMÄLÄINEN, M.; NIEMINEN, R.; VUORELA, P.; HEINONEN, M.; MOILANEN, E. Anti-inflammatory effects of flavonoids: Genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF- κ B activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF- κ B activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. **Mediators of inflammation**, v. 2007, n. 1, p. 045673, 2007.

HANNING, N.; DE MAN, J. G.; DE WINTER, B. Y. Measuring myeloperoxidase activity as a marker of inflammation in gut tissue samples of mice and rat. **Bio-protocol**, v. 13, n. 13, p. e4758, 2023.

HAWKINS, C. L.; DAVIES, M. J. Role of myeloperoxidase and oxidant formation in the extracellular environment in inflammation-induced tissue damage. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 172, p. 633-651, 2021.

HE, L.; HE, T.; FARRAR, S.; JI, L.; LIU, T.; MA, X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 532-553, 2017.

HERRMANN, J. M.; DICK, T. P. Redox biology on the rise. **Biological chemistry**, v. 393, n. 9, p. 999-1004, 2012.

HO, Y. S.; LAI, C. S.; LIU, H. I.; HO, S. Y.; TAI, C.; PAN, M. H.; WANG, Y. J. Dihydrolipoic acid inhibits skin tumor promotion through anti-inflammation and anti-oxidation. **Biochemical pharmacology**, v. 73, n. 11, p. 1786-1795, 2007.

ISONISHI, S.; OHKAWA, K.; TANAKA, T.; HOWELL, S. B. Depletion of protein kinase C (PKC) by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) enhances platinum drug sensitivity in human ovarian carcinoma cells. **British journal of cancer**, v. 82, n. 1, p. 34-38, 2000.

JIANG, Z. Y.; HUNT, J. V.; WOLFF, S. P. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. **Analytical biochemistry**, v. 202, n. 2, p. 384-389, 1992.

JOMOVA, K.; ALOMAR, S. Y.; VALKO, R.; LISKA, J.; NEPOVIMOVA, E.; KUČA, K.; VALKO, M. Flavonoids and their role in oxidative stress, inflammation, and human diseases. **Chemico-Biological Interactions**, p. 111489, 2025.

JUAN, C. A.; PÉREZ DE LA LASTRA, J. M.; PLOU, F. J.; PÉREZ-LEBEÑA, E. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 9, p. 4642, 2021.

KANG, K. A.; ZHANG, R.; PIAO, M. J.; LEE, K. H.; KIM, B. J.; KIM, S. Y.; KIM, H.S.; KIM, D.H.; YOU, H.J.; HYUN, J. W. Inhibitory effects of glycitein on hydrogen peroxide induced cell damage by scavenging reactive oxygen species and inhibiting c-Jun N-terminal kinase. **Free Radic Res**, v. 41, p. 720–729, 2007.

KANG, S.; NARAZAKI, M.; METWALLY, H.; KISHIMOTO, T. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. **Journal of Experimental Medicine**, v. 217, n. 5, p. e20190347, 2020.

KAPUGI, M.; CUNNINGHAM, K. Corticosteroids. **Orthopaedic Nursing**, v. 38, n. 5, p. 336-339, 2019.

KHAN, J.; DEB, P. K.; PRIYA, S.; MEDINA, K. D.; DEVI, R.; WALODE, S. G.; RUDRAPAL, M. Dietary flavonoids: Cardioprotective potential with antioxidant effects and their pharmacokinetic, toxicological and therapeutic concerns. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 4021, 2021.

KO, K. P. Isoflavonas: química, análise, funções e efeitos na saúde e no câncer. **Jornal de Prevenção do Câncer da Ásia-Pacífico**, v. 15, n. 17, p. 7001-7010, 2014.

KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature reviews immunology**, v. 13, n. 3, p. 159-175, 2013.

KONG, Y. H.; XU, S. P. Salidroside prevents skin carcinogenesis induced by DMBA/TPA in a mouse model through suppression of inflammation and promotion of apoptosis. **Oncology reports**, v. 39, n. 6, p. 2513-2526, 2018.

KŘÍŽOVÁ, L.; DADÁKOVÁ, K.; KAŠPAROVSKÁ, J.; KAŠPAROVSKÝ, T. Isoflavones. **Molecules**, v. 24, n. 6, p. 1076, 2019.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J.C. **Robbins and Cotran Pathologic - Basis of Disease**. Elsevier, 9ª ed., 2016.

LAGO, J. H. G.; TOLEDO-ARRUDA, A. C.; MERNAK, M.; BARROSA, K. H.; MARTINS, M. A.; TIBÉRIO, I. F.; PRADO, C. M. Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3570-3595, 2014.s

LEE, E.J.; KIM, S.Y.; HYUN, J.W.; MIN, S.W.; KIM, D.H.; KIM, H.S. Glycitein inhibits glioma cell invasion through down-regulation of MMP-3 and MMP-9 gene expression. **Chem Biol Interact**, v. 185, p. 18–24, 2010.

LEE, H. J.; KIM, M. Challenges and future trends in the treatment of psoriasis. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 17, p. 13313, 2023.

LEI, Y.; WANG, K.; DENG, L.; CHEN, Y.; NICE, E. C.; HUANG, C. Redox regulation of inflammation: old elements, a new story. **Medicinal research reviews**, v. 35, n. 2, p. 306-340, 2015.

LI, Z.; WU, F.; ZHANG, Q. Zinc oxide nanoparticles derived from *Penicillium griseofulvum* mitigate DMBA/TPA-promoted mice skin carcinogenesis by modulating NF- κ B associated signalling. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 398, n. 1, p. 891-902, 2025.

LIBBY, P. M. D. Inflammatory Mechanisms: the Molecular Basis of Inflammation and Disease. **Nutrition Reviews**, v. 65, n. 3, p. S140-146, 2007.

LINGAPPAN, K. NF- κ B in oxidative stress. **Current opinion in toxicology**, v. 7, p. 81-86, 2018.

LIU, C.; CHU, D.; KALANTAR-ZADEH, K.; GEORGE, J.; YOUNG, H. A.; LIU, G. Cytokines: from clinical significance to quantification. **Advanced Science**, v. 8, n. 15, p. 2004433, 2021.

LIU, T.; ZHANG, L.; JOO, D.; SUN, S. C. NF- κ B signaling in inflammation. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2017.

LOPES, N.; DIAS, L. L. S.; AZULAY-ABULAFIA, L.; OYAFUSO, L. K. M.; SUAREZ, M. V.; FABRICIO, L.; KOBATA, C. M.; CESTARI, T.; GONTIJO, B.; SABBAG, C. Y.; ANTONIO, J. R.; ROMITI, R.; PERTEL, P. C. Humanistic and economic impact of moderate to severe plaque psoriasis in Brazil. **Advances in therapy**, v. 36, n. 10, p. 2849-2865, 2019.

ŁUCZAJ, W.; GĘGOTEK, A.; SKRZYDLEWSKA, E. Antioxidants and HNE in redox homeostasis. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 111, p. 87–101, 2017.

LUND, T.; ONARHEIM, H.; REED, R.K. Pathogenesis of edema formation in burn injuries. **World journal of surgery**, v. 16, n. 1, p. 2-9, 1992.

MAGNANI, N. D.; MARCHINI, T.; CALABRÓ, V.; ALVAREZ, S.; EVELSON, P. Role of mitochondria in the redox signaling network and its outcomes in high impact inflammatory syndromes. **Frontiers in endocrinology**, v. 11, p. 568305, 2020.

MANTHEY, J. A. Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation. **Microcirculation**, v. 7, n. sup1, p. S29-S34, 2000.

MARZANO, A. V.; DAMIANI, G.; GENOVESE, G.; GATTORNO, M. A dermatologic perspective on autoinflammatory diseases. **Clin Exp Rheumatol**, v. 36, n. Suppl 110, p. 32-38, 2018.

MEDZHITOV, R. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 771–776, 2010.

MEDZHITOV, R. The spectrum of inflammatory responses. **Science**, v. 374, n. 6571, p. 1070–1075, 2021.

MESQUITA, K.; COLOMBINI, M.; DUARTE, G.; FERREIRA, S. B.; YANG, A.; MALLOZI, M.; LUPI, O.; GUIDACCI, M.; ABREU, D.; PAIVA, H. Unveiling atopic dermatitis burden in Brazil: a report from clinical assistance perspective. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 11, n. 2, p. 153-160, 2019.

MESSINA, S.; BITTO, A.; AGUENNOUZ, M.; VITA, G. L.; POLITO, F.; IRRERA, N.; ALTAVILLA, D.; MARINI, H.; MIGLIORATO, A.; SQUADRITO, F.; VITA, G. The soy isoflavone genistein blunts nuclear factor kappa-B, MAPKs and TNF- α activation and ameliorates muscle function and morphology in mdx mice. **Neuromuscular Disorders**, v. 21, n. 8, p. 579-589, 2011.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

MITTAL, M.; SIDDIQUI, M. R.; TRAN, K.; REDDY, S. P.; MALIK, A. B. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 20, n. 7, p.1126-1167, 2014.

MORGAN, M. J.; LIU, Z. G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. **Cell research**, v. 21, n. 1, p. 103-115, 2011.

MORIZANE, S.; MUKAI, T.; SUNAGAWA, K.; TACHIBANA, K.; KAWAKAMI, Y.; OUCHIDA, M. "Input/output cytokines" in epidermal keratinocytes and the involvement in inflammatory skin diseases. **Frontiers in immunology**, v. 14, p. 1239598, 2023.

MORTENSEN, A.; KULLING, S. E.; SCHWARTZ, H.; ROWLAND, I.; RUEFER, C. E.; RIMBACH, G.; CASSIDY, A.; MAGEE, P.; MILLAR, J.; HALL, W. L.; KRAMER B., F.; SORENSEN, I. K.; SONTAG, G. Analytical and compositional aspects of isoflavones

in food and their biological effects. **Molecular nutrition & food research**, v. 53, p. S266-S309, 2009.

MULLER, W. A. How endothelial cells regulate transmigration of leukocytes in the inflammatory response. **The American Journal of Pathology**, v. 184, n. 4, p. 886–896, abr. 2014.

NAKADATE, T. The mechanism of skin tumor promotion caused by phorbol esters: possible involvement of arachidonic acid cascade/lipoxygenase, protein kinase C and calcium/calmodulin systems. **Japanese journal of pharmacology**, v. 49, n. 1, p. 1-9, 1989.

NAKAMURA, Y.; OHTO, Y.; MURAKAMI, A.; OSAWA, T.; OHIGASHI, H. Inhibitory effects of curcumin and tetrahydrocurcuminoids on the tumor promoter-induced reactive oxygen species generation in leukocytes in vitro and in vivo. **Japanese Journal of Cancer Research**, v. 89, n. 4, p. 361-370, 1998.

NASEF, N. A.; MEHTA, S.; FERGUSON, L. R. Susceptibility to chronic inflammation: an update. **Archives of Toxicology**, v. 91, n. 3, p.1131–1141. 2017.

NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical biochemistry**, v. 49, n. 2, p. 474-478, 1972.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The dynamics of the skin's immune system. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 8, p. 1811, 2019.

NGUYEN, N. H.; TRAN, G.-B.; NGUYEN, C. T. Anti-oxidative effects of superoxide dismutase 3 on inflammatory diseases. **Journal of Molecular Medicine**, v. 98, n. 1, p. 59-69, 2020.

NOREEN, S.; MAQBOOL, I.; MADNI, A. Dexamethasone: Therapeutic potential, risks, and future projection during COVID-19 pandemic. **European journal of pharmacology**, v. 894, p. 173854, 2021.

OLIVEIRA, A. S.; CERCATO, L. M.; DE SANTANA, S. M. T.; DE OLIVEIRA, M. A. J.; DOS SANTOS, L. B.; DUARTE, M. C.; ARAUJO, A. A. S.; DE OLIVEIRA E SILVA, A. M.; CAMARGO, E. A. The ethanol extract of *Leonurus sibiricus* L. induces antioxidant,

antinociceptive and topical anti-inflammatory effects. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 206, p. 144-151, 2017.

ORAY, M.; ABU SAMRA, K.; EBRAHIMIADIB, N.; MEESE, H.; FOSTER, C. S. Long-term side effects of glucocorticoids. **Expert opinion on drug safety**, v. 15, n. 4, p. 457-465, 2016.

OSAWA, T. Development and application of oxidative stress biomarkers. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 82, n. 4, p. 564-572, 2018.

OWONA, B. A.; ABIA, W. A.; MOUNDIPA, P. F. Natural compounds flavonoids as modulators of inflammasomes in chronic diseases. **International immunopharmacology**, v. 84, p. 106498, 2020.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of nutritional science**, v. 5, p. e47, 2016.

PARK, J. S.; WOO, M. S.; KIM, D. H.; HYUN, J. W.; KIM, W. K.; LEE, J. C.; KIM, H. S. Anti-inflammatory mechanisms of isoflavone metabolites in lipopolysaccharide-stimulated microglial cells. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 320, n. 3, p.1237-1245, 2007.

PERCHELLET, E. M.; PERCHELLET, J. P. Characterization of the hydroperoxide response observed in mouse skin treated with tumor promoters in vivo. **Cancer research**, v. 49, n. 22, p. 6193-6201, 1989.

PÉREZ, C. R.; AOKI, V.; CRIADO, R. F.; ANTILA, M.; ANGLES, M. V.; CESTARI, T. F.; QUINTERO, D. G. V.; MAGARIÑOS, G.; CASTRO, C.; LÓPEZ T.S., A.; WEBER, M.; LORENZINI, D.; CASTRO, C. C. S.; MASPERO, J.; GARCÍA-HIDALGO, L.; ZHOU, L.; HAMMAD, S.; CAMPOS, L.; RODRIGUES, T. C.; ARZELÁN, C.; LUNA, P. C. The real-world burden of atopic dermatitis: MEASURE-AD results from Brazil, Mexico, and Argentina. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 100, n. 3, p. 470–486, 2025.

PIAO, M. J.; FERNANDO, P. M. D. J.; KANG, K. A.; FERNANDO, P. D. S. M.; HERATH, H. M. U. L.; KIM, Y. R.; HYUN, J. W. Rosmarinic acid inhibits ultraviolet b-mediated oxidative damage via the AKT/ERK-NRF2-GSH pathway in vitro and in vivo. **Biomolecules & Therapeutics**, v. 32, n. 1, p. 84, 2024.

QIN, W.; WANG, R. K. Assessment of edema volume in skin upon injury in a mouse ear model with optical coherence tomography. **Lasers in medical science**, v. 31, p. 1351-1361, 2016.

RAHMAN, S.; BHATIA, K.; KHAN, A.Q.; KAUR, M.; AHMAD, F.; RASHID, H.; ATHAR, M.; ISLAM, F.; RAISUDDIN, S. Topically applied vitamin E prevents massive cutaneous inflammatory and oxidative stress responses induced by double application of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 172, n. 3, p. 195-205, 2008.

RIBEIRO, V. P.; ARRUDA, C.; ABD EL-SALAM, M.; BASTOS, J. K. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical biology**, v. 56, n. 1, p. 253-268, 2018.

ROMITI, R.; CARVALHO, A. V. E.; DUARTE, G. V. Consenso Brasileiro de Psoríase 2020 e Algoritmo de Tratamento da Sociedade Brasileira de Dermatologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia (Portuguese)**, v. 96, n. 6, p. 778-781, 2021.

RUFER, C. E.; MAUL, R.; DONAUER, E.; FABIAN, E. J.; KULLING, S. E. et al. In vitro and in vivo metabolism of the soy isoflavone glycitein. **Molecular nutrition & food research**, v. 51, n. 7, p. 813-823, 2007.

SAHA, S.; BUTTARI, B.; PANIERI, E.; PROFUMO, E.; SASO, L. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5474, 2020.

SAKAMOTO, Y.; KANATSU, J.; TOH, M.; NAKA, A.; KONDO, K.; IIDA, K. The dietary isoflavone daidzein reduces expression of pro-inflammatory genes through PPAR α / γ and JNK pathways in adipocyte and macrophage co-cultures. **PLoS One**, v. 11, n. 2, p. e0149676, 2016.

SCANAVACHI, G.; COUTINHO, A.; FEDOROV, A. A.; PRIETO, M.; MELO, A. M.; ITRI, R. Lipid Hydroperoxide compromises the membrane structure organization and softens bending rigidity. **Langmuir**, v. 37, n. 33, p. 9952-9963, 2021.

SEGRE, J. A. *et al.* Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 5, p. 1150-1158, 2006.

SERHAN, C. N. Resolution phase of inflammation: novel endogenous antiinflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. **Annu Rev Immunol**. V. 25, p. 101-137, 2007.

SHAO, Z.; WANG, B.; SHI, Y.; XIE, C.; HUANG, C.; CHEN, B.; ZHANG, H.; ZENG, G.; LIANG, H.; WU, Y.; ZHOU, Y.; TIAN, N.; WU, A.; GAO, W.; WANG, X.; ZHANG, X. Senolytic agent Quercetin ameliorates intervertebral disc degeneration via the Nrf2/NF- κ B axis. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 29, n. 3, p. 413-422, 2021.

SHARIFI-RAD, J.; QUISPE, C.; IMRAN, M.; RAUF, A.; NADEEM, M.; GONDAL, T. A.; AHMAD, B.; ATIF, M.; MUBARAK, M. S.; SYTAR, O.; ZHILINA, O. M.; GARSIIYA, E. R.; SMERIGLIO, A.; TROMBETTA, D.; PONS, D. G.; MARTORELL, M.; CARDOSO, S. M.; RAZIS, A. F. A.; SUNUSI, U.; KAMAL, R. M.; ROTARIU, L. S.; BUTNARIU, M.; DOCEA, A. O.; CALINA, D. Genistein: an integrative overview of its mode of action, pharmacological properties, and health benefits. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2021, n. 1, p. 3268136, 2021.

SHARMA, M.; MOHAPATRA, J.; ARGADE, A.; DESHPANDE, S. S.; SHAH, G. B.; CHATTERJEE, A.; JAIN, M. R. Chemopreventive effect of a novel, selective TACE inhibitor on DMBA-and TPA-induced skin carcinogenesis. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 36, n. 4, p. 282-289, 2014.

SHEU, F.; LAI, H. H.; YEN, G. C. Gow-Chin. Suppression effect of soy isoflavones on nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 4, p. 1767-1772, 2001.

SHIM, H. B.; DENISET, J. F.; KUBES, P. Neutrophils in homeostasis and tissue repair. **International Immunology**, v. 34, n. 8, p. 399-407, 2022.

SHINKARUK, S.; DURAND, M.; LAMOTHE, V.; CARPAYE, A.; MARTINET, A.; CHANTRE, P.; VERGNE, S.; NOGUES, X.; MOORE, N.; BENNETAU-PELISSERO, C. Bioavailability of glycitein relatively to other soy isoflavones in healthy young Caucasian men. **Food chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1104-1111, 2012.

SHUTOVA, M. S.; BOEHNCKE, W. H. Mechanotransduction in skin inflammation. **Cells**, v. 11, n. 13, p. 2026, 2022.

SIES H. Oxidative stress: introductory remarks. **Academic Press Inc. (London) Ltd.**, p. 1-8, 1985.

SIES, H.; BERNDT, C.; JONES, D. P. Oxidative stress. **Annual review of biochemistry**, v. 86, n. 1, p. 715-748, 2017.

SIES, H.; MAILLOUX, R. J.; JAKOB, U. Fundamentals of redox regulation in biology. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 25, n. 9, p. 701-719, 2024.

SILVERBERG, J. I.; BARBAROT, S.; GADKARI, A.; SIMPSON, E. L.; WEIDINGER, S.; MINA-OSORIO, P.; ROSSI, A. B.; BRIGNOLI, L.; SABA, G.; GUILLEMIN, I.; FENTON, M. C.; AUZIERE, S.; ECKERT, L. Atopic dermatitis in the pediatric population: a cross-sectional, international epidemiologic study. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, v. 126, n. 4, p. 417-428. e2, 2021.

SIRIVIRIYAKUL, P.; SRIKO, J.; SOMANAWAT, K.; CHAYANUPATKUL, M.; KLAIKEAW, N.; WERAWATGANON, D. Genistein attenuated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in L-arginine induced acute pancreatitis in mice. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 22, n. 1, p. 208, 2022.

SMITH, J. B.; HERBERT, J. J.; TRUONG, N. R.; CUNNINGHAM, A. L. Cytokines and chemokines: The vital role they play in herpes simplex virus mucosal immunology. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 936235, 2022.

SOLANKI, V.; RANA, R. S.; SLAGA, T. J. Diminution of mouse epidermal superoxide dismutase and catalase activities by tumor promoters. **Carcinogenesis**, v. 2, n. 11, p. 1141-1146, 1981.

SONG, T. T.; HENDRICH, S.; MURPHY, P. A. Patricia A. Estrogenic activity of glycitein, a soy isoflavone. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 4, p. 1607-1610, 1999.

STANLEY, P. L.; STEINER, S.; HAVENS, M.; TRAMPOSCH, K. M. Mouse skin inflammation induced by multiple topical applications of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 4, n. 4, p. 262-271, 1991.

STEPHENS, B. R.; BOMSER, J. A. Glycitein in health. **The Royal Society of Chemistry**, n. 5, p. 465-479, 2013.

SUN, Y.; LU, Y.; SAREDY, J.; WANG, X.; DRUMMER IV, C.; SHAO, Y.; SAAOUD, F.; XU, K.; LIU, M.; YANG, W. Y.; JIANG, X.; WANG, H.; YANG, X. ROS systems are a

new integrated network for sensing homeostasis and alarming stresses in organelle metabolic processes. **Redox biology**, v. 37, p. 101696, 2020.

TALAMONTI, M.; GALLUZZO, M.; SILVAGGIO, D.; LOMBARDO, P.; TARTAGLIA, C.; BIANCHI, L. Quality of life and psychological impact in patients with atopic dermatitis. **Journal of clinical medicine**, v. 10, n. 6, p. 1298, 2021.

TAMAGAWA-MINEOKA, R. Toll-like receptors: their roles in pathomechanisms of atopic dermatitis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1239244, 2023.

TCHOUMTCHOUA, J.; MAKROPOULOU, M.; ATEBA, S. B.; BOULAKA, A.; HALABALAKI, M.; LAMBRINIDIS, G.; MELIGOVA, A. K.; MBANYA, J. C.; MIKROS, E.; SKALTSOUNIS, A.-L.; MITSIOU, D. J.; NJAMEN, D.; ALEXIS, M. N. Estrogenic activity of isoflavonoids from the stem bark of the tropical tree *Amphimas pterocarpoides*, a source of traditional medicines. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 158, p. 138-148, 2016.

TERMINI, J. Hydroperoxide-induced DNA damage and mutations. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 450, n. 1-2, p. 107-124, 2000.

TIMMERMAN, I.; DANIEL, A. E.; KROON, J.; VAN BUUL, J. D. Leukocytes crossing the endothelium: a matter of communication. **International review of cell and molecular biology**, v. 322, p. 281-329, 2016.

TONG, L. Z.; DESAI, R. M.; OLSEN, R.; DAVIS, M. The Pathophysiology, Diagnosis and Management of Chronic Inflammatory Skin Diseases. **Discovery medicine**, v. 36, n. 189, p. 1933-1954, 2024.

TOUYZ, R.M. Reactive oxygen species and oxidative stress. **Primer on the Autonomic Nervous System**. p. 335-338, 2012.

TRETTER, V.; HOCHREITER, B.; ZACH, M. L.; KRENN, K.; KLEIN, K. U. Understanding cellular redox homeostasis: A challenge for precision medicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 1, p. 106, 2021.

TRIER, A. M.; KIM, B. S. Cytokine modulation of atopic itch. **Current opinion in immunology**, v. 54, p. 7-12, 2018.

VAN SMEDEN, J.; JANSSENS, M.; GOORIS, G. S.; BOUWSTRA, J. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1841, n. 3, p. 295-313, 2014.

WANG, Y.; WANG, B.; DU, F.; SU, X.; SOL, G.; ZHOU, G.; BIAN, X.; LIU, N. Epigallocatechin-3-gallate attenuates oxidative stress and inflammation in obstructive nephropathy via NF- κ B and Nrf2/HO-1 signalling pathway regulation. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 117, n. 3, p. 164-172, 2015.

WARD, A. J.; ROSIN, M. P. A protective effect of chromosome 11 against DNA damage by TPA-activated neutrophils but not TPA acting alone. **Carcinogenesis**, v. 15, n. 12, p. 2851-2857, 1994.

WEBER, A.; WASILIEW, P.; KRACHT, M. Interleukin-1beta (IL-1beta) processing pathway. **Science Signaling**, v. 3, n. 105, p. 1-3, 2010.

WILLIAMS, M. R.; AZCUTIA, V.; NEWTON, G.; ALCAIDE, P.; LUSCINSKAS, F. W. Emerging mechanisms of neutrophil recruitment across endothelium. **Trends in immunology**, v. 32, n. 10, p. 461-469, 2011.

WONG, R.; GEYER, S.; WENINGER, W.; GUIMBERTEAU, J. C.; WONG, J. K. The dynamic anatomy and patterning of skin. **Experimental dermatology**, v. 25, n. 2, p. 92-98, 2016.

WONGKARN, S.; CHEWONARIN, T.; RUANGSURIYA, J.; TAYA, S.; DEJKRIENGKRAIKUL, P.; YODKEEREE, S. Biochemical Mechanism of Thai Fermented Soybean Extract on UVB-Induced Skin Keratinocyte Damage and Inflammation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 7, p. 3418, 2025.

XIAN, Y. F.; HU, Z.; IP, S. P.; CHEN, J. N.; SU, Z. R.; LAI, X. P.; LIN, Z. X. Comparison of the anti-inflammatory effects of Sinapis alba and Brassica juncea in mouse models of inflammation. **Phytomedicine**, v. 50, p. 196-204, 2018.

XU, J.; XIONG, H.; ZHAO, Z.; LUO, M.; JU, Y.; YANG, G.; MEI, Z. Genistein suppresses allergic contact dermatitis through regulating the MAP2K2/ERK pathway. **Food & Function**, v. 12, n. 10, p. 4556-4569, 2021.

XU, Y.; COHEN, E.; JOHNSON, C. N.; PARENT, C. A.; COULOMBE, P. A. Repeated stress to the skin amplifies neutrophil infiltration in a keratin 17-and PKC α -dependent manner. **PLoS biology**, v. 22, n. 8, p. e3002779, 2024.

YAMAKI, K.; KIM, D. H.; RYU, N.; KIM, Y. P.; SHIN, K. H.; OHUCHI, K. Effects of naturally occurring isoflavones on prostaglandin E2 production. **Planta Med**, v. 68, n.2, 97-100, 2002.

YAMAMURA, K.; KIM, H. J.; KIM, J. E. Crosstalk: skin cells and immune cells in inflammatory skin diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 15, p. 1472313, 2024.

YOUNG, J. M.; WAGNER, B. M.; SPIRES, D. A. Tachyphylaxis in 12-O-tetradecanoylphorbol acetate-and arachidonic acid-induced ear edema. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 80, n. 1, p. 48-52, 1983.

YU, J.; BI, X.; YU, B.; CHEN, D. Isoflavones: anti-inflammatory benefit and possible caveats. **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 361, 2016.

ZAHEER, K.; HUMAYOUN AKHTAR, M. An updated review of dietary isoflavones: Nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 6, p. 1280-1293, 2017.

ZANG, Y. Q.; FENG, Y. Y.; LUO, Y. H.; ZHAI, Y. Q.; JU, X. Y.; FENG, Y. C.; WANG, J. R.; YU, C. Q.; JIN, C. H. Glycitein Induces reactive oxygen speciesdependent apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest through the MAPK/STAT3/NF- κ B pathway in human gastric cancer cells. **Drug Dev Res**, v. 8, p. 573–584, 2019.

ZENG, W. J.; TAN, Z.; LAI, X. F.; XU, Y. N.; MAI, C. L.; ZHANG, J.; LIN, Z. L.; LIU, X. G.; SUN, S. L.; ZHOU, L. J. Topical delivery of l-theanine ameliorates TPA-induced acute skin inflammation via downregulating endothelial PECAM-1 and neutrophil infiltration and activation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 284, p. 69-79, 2018.

ZHANG, B.; SU, J. P.; BAI, Y.; LI, J.; LIU, Y. H. Inhibitory effects of Omethylated isoflavone glycitein on human breast cancer SKBR-3 cells. **Int J Clin Exp Pathol**, v. 8, n. 7, p. 7809–7817, 2015.

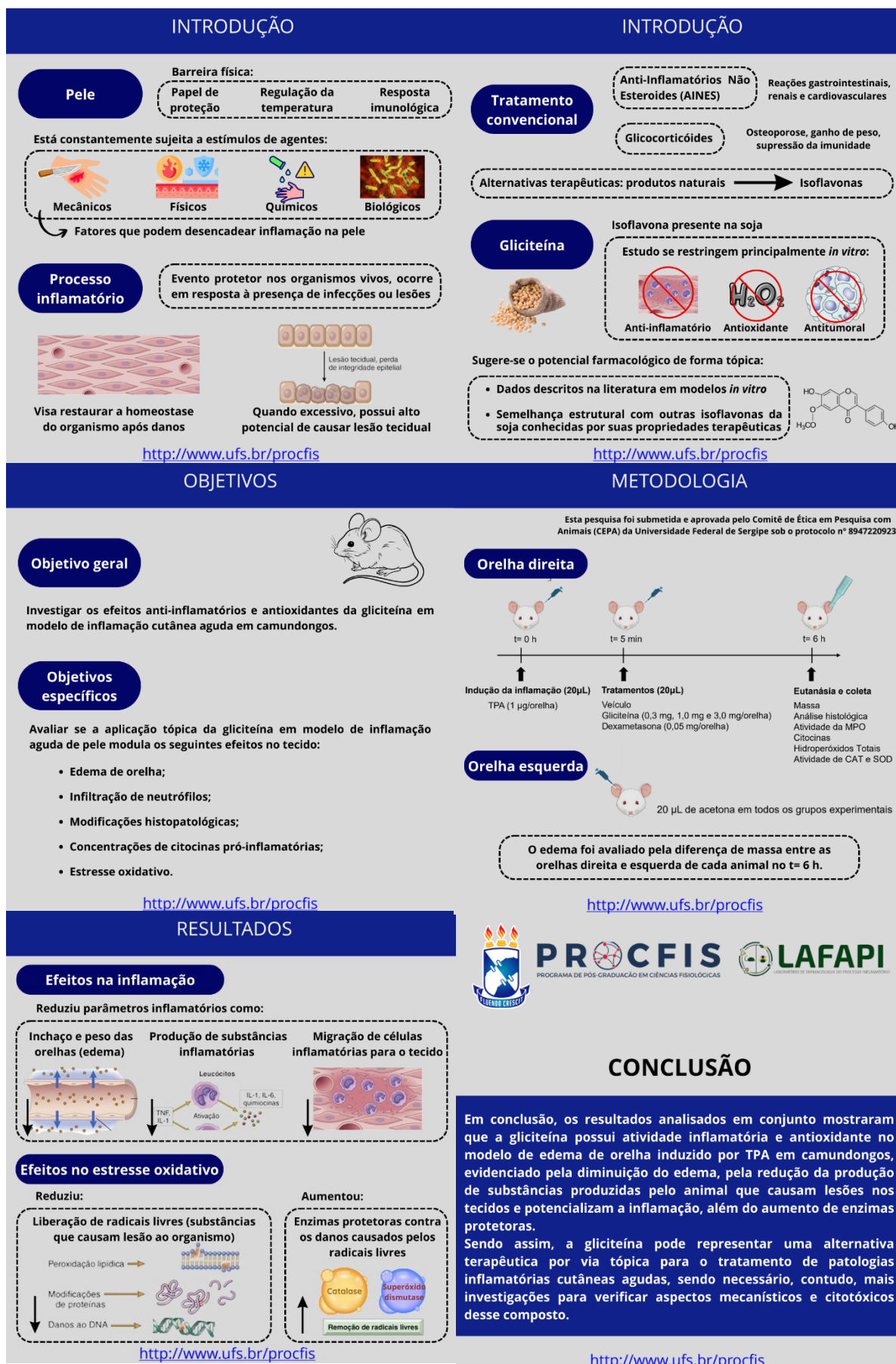
ZHANG, R.; BRENNAN, M. L.; SHEN, Z.; MACPHERSON, J. C.; SCHMITT, D.; MOLEND, C. E.; HAZEN, S. L. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic

catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 48, p. 46116-46122, 2002.

ZHAO, H.; SONG, X.; ZHANG, Y.; SHENG, X.; GU, K. Molecular understanding of solvents and glycitein interaction during extraction. **ACS omega**, v. 4, n. 18, p. 17823-17829, 2019.

ZHAO, J.; XIANG, M.; HAN, Q.; YANG, X.; ZHANG, G.; XIAO, Y.; ZHENG, W.; NIE, S. Hydrophobic interaction of glycitein and α -synuclein inhibits the protein aggregation: A future perspective for modulation of Parkinson's disease. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 296, p. 139436, 2025.

APENDICE A



ANEXO A



Universidade
Federal de
Sergipe

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do potencial anti-inflamatório da gliciteína em modelo de edema de orelha em camundongos", protocolada sob o CEUA nº 8947220923 (ID 000806), sob a responsabilidade de **Enilton Aparecido Camargo e equipe; Marciel Rosa de Sales; Jéssica Maria Dantas Araujo** - 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 31/01/2024.

We certify that the proposal "Evaluation of the anti-inflammatory potential of glycitein in a model of ear edema in mice", utilizing 144 Heterogenics mice (144 males), protocol number CEUA 8947220923 (ID 000806), under the responsibility of **Enilton Aparecido Camargo and team; Marciel Rosa de Sales; Jéssica Maria Dantas Araujo** - 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 01/31/2024.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **02/2024** a **01/2027** Área: **Farmacologia**

Origem: **Laboratório de Farmacologia do Processo Inflamatório**

Espécie: **Camundongos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **6 a 8 semanas**

N: **144**

Linhagem: **Swiss**

Peso: **25 a 30 g**

Local do experimento: Laboratório de Farmacologia do Processo Inflamatório.

São Cristóvão, 09 de abril de 2025

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