UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

RODRIGO TOZETTO

BIOMEMBRANA DE QUITOSANA INCORPORADA COM PEPTÍDEOS DE PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) PARA TRATAMENTO DE FERIDAS – DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

PONTA GROSSA

2026

RODRIGO TOZETTO

BIOMEMBRANA DE QUITOSANA INCORPORADA COM PEPTÍDEOS DE PELE DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) PARA TRATAMENTO DE FERIDAS - DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

Tese apresentada ao exame de defesa do curso de Doutorado em Ciências Farmacêuticas, do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Ponta Grossa, na área de Fármacos, Medicamentos e Biociências aplicadas à Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Priscileila Colerato Ferrari
Coorientador: Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame

PONTA GROSSA

2026

Tozetto, Rodrigo
T757 Biomembrana de quitosana incorporada com peptídeos de pele de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para tratamento de feridas - desenvolvimento tecnológico e avaliação biológica / Rodrigo Tozetto. Ponta Grossa, 2026.
127 f.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Priscileila Coleratoi Ferrari.
Coorientador: Prof. Dr. Flavio Luiz Beltrame.

1. Reparação tecidual. 2. Citocinas. 3. Colágeno. 4. Biomateriais. I. Ferrari, Priscileila Coleratoi. II. Beltrame, Flavio Luiz. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. IV.T.

CDD: 615

Ficha catalográfica elaborada por Maria Luzia Fernandes Bertholino dos Santos- CRB9/986

RODRIGO TOZETTO

BIOMEMBRANA DE QUITOSANA INCORPORADA COM PEPTÍDEOS DE PELE DE TILÁPIA (Oreochromis niloticus) PARA TRATAMENTO DE FERIDAS – DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

Tese apresentada para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível Doutorado, Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e a Universidade do Centro-Oeste (UNICENTRO).

Ponta Grossa, 08 de outubro de 2026.

Profa. Dra. PRISCILEILA COLERATO FERRARI – UEPG – Presidente

gov.br Documento assinado digitalmente
MEIRE CHRISTINA SEKI
Data: 09/10/2026 14:04:51-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. MEIRE CHRISTINA SEKI – UNICENTRO – Membro titular externo

gov.br Documento assinado digitalmente
VALQUIRIA DE MORAES SILVA RIBEIRO
Data: 09/10/2026 10:18:07-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. VALQUÍRIA DE MORAES SILVA RIBEIRO – UFPR – Membro titular externo

Prof. Dr. LEANDRO CAVALCANTE LIPINSKI – UEPG – Membro titular interno

Profa. Dra. JULIANA BONAMETTI OLIVATO – UEPG – Membro titular interno

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF
Bloco M Sala 93 B – Campus Universitário – Fone (42) 2102-8937
Av. Carlos Cavalcanti, 4748 – CEP: 84030-900 – PONTA GROSSA – PR – BRASIL

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me mantido no caminho certo ao longo desta trajetória, concedendo-me saúde, força e perseverança para superar os desafios e chegar até o final, bem como pela oportunidade de vivenciar e concluir este projeto de pesquisa.

À minha esposa, Adriane Hertel, e à minha filha, Helena Tozetto, pelo amor, apoio, compreensão e dedicação, fundamentais para que eu pudesse me dedicar ao desenvolvimento deste projeto.

Aos meus pais Mario e Odaléia (*in memoriam*) pela educação, carinho e suporte, também ao meu filho Luigi M. Tozetto, pelo auxílio nos experimentos.

A todos os professores que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial à Profa. Dra. Priscileila C. Ferrari, pela orientação, dedicação e pelos valiosos ensinamentos transmitidos ao longo da execução desta pesquisa.

Ao Prof. Flavio Luiz Beltrame, pela coorientação, parceria e contribuição durante o desenvolvimento da presente pesquisa.

Ao Prof. Dr. Leandro C. Lipinski e à Profa. Dra. Adriana Y. Koga, pelos ensinamentos, disponibilidade e suporte na realização das cirurgias e das análises histológicas e imunohistoquímicas, contribuições essenciais para a execução deste trabalho.

Aos professores Dr. Eduardo C. Meurer, Dra. Evelin Lemos de Oliveira e Dra. Valquíria de Moraes Silva Ribeiro, pelo suporte logístico, pelas contribuições nas análises e pelo fornecimento da matriz biológica utilizada neste experimento.

A todos os colegas e alunos de graduação e pós-graduação que contribuíram para a realização desta pesquisa, em especial à Júlia B. de Macedo, pelo auxílio nas análises estatísticas, e a Ana Carolina T. Ventura, Anna Cláudia M. O. Capote, Thaís Letícia M. da Silva, Renata K. Crizante, Luan J. Baldissera e Pedro Henrique G. Salvador, pela colaboração na realização dos ensaios *in vivo* e das análises histológicas e imunohistoquímicas.

A todos os técnicos de laboratório dos Departamentos de Farmácia e Medicina, em especial Cida, Nilson e Ester, pela disponibilidade, colaboração e suporte técnico durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pelo suporte acadêmico e pela oportunidade de realização desta etapa da minha formação.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela estrutura e pelas condições proporcionadas para o desenvolvimento desta pesquisa.

Por fim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, expresso minha sincera gratidão.

RESUMO

A pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma fonte abundante de colágeno, cujos peptídeos apresentam importantes atividades biológicas, incluindo a aceleração do processo cicatricial. Esses peptídeos atuam sobre diversos mecanismos deste processo: a nível celular estimulam a angiogênese, modulam a resposta inflamatória e promovem a quimiotaxia e recrutamento e diferenciação de células essenciais, como fibroblastos; a nível molecular, induzem a expressão de mediadores relacionados à reparação tecidual e proliferação celular, como VEGF, TGF-β, IL-6, CD31 e TNF-α. Com o objetivo de avaliar a eficácia cicatrizante desses peptídeos, foi desenvolvida uma biomembrana composta por quitosana, glicerina e polietilenoglicol 400, incorporada com peptídeos obtidos da pele de tilápia por hidrólise enzimática. Foram avaliadas as concentrações de 600 e 1000 µg/mL destes peptídeos. A quitosana, um polímero natural derivado de crustáceos, foi utilizada como matriz por sua capacidade de promover liberação dos ativos e aumentar a absorção de macromoléculas. Para avaliar o potencial cicatrizante dos peptídeos de pele de tilápia do Nilo (PPTN), obtidos por hidrólise enzimática, foram desenvolvidas biomembranas de quitosana, glicerina e PEG 400, contendo 600 ou 1.000 µg/mL. As formulações foram caracterizadas por ensaios físico-químicos, mecânicos, morfológicos, FTIR e DRX. A atividade cicatrizante foi avaliada em ratos Wistar com feridas cutâneas de 4 cm^2, utilizando membranas sem peptídeos e com peptídeos bovinos como controles. Nos dias 7, 14 e 21, foram analisados a retração das feridas, o infiltrado inflamatório, as estruturas vasculares, os fibroblastos, a birrefringência das fibras colágenas e a expressão de TNF-α e IL-6. Foram avaliados os parâmetros inflamatórios, neovascularização, presença de fibroblastos, deposição de colágeno (tipos I e III) e expressão de TNF-α e IL-6. A biomembrana contendo 600 µg/mL de PPTN apresentou maior intumescimento em 24 h (2.250,39 ± 64,98%; $p < 0,0001$), redução de 33% na permeabilidade ao vapor de água e superfície mais homogênea. Aos 14 dias, as formulações de 600 e 1.000 µg/mL apresentaram perdas de massa de 80,75 ± 8,35% e 78,42 ± 8,76%, respectivamente em relação ao controle (69,96 ± 11,18%). Na avaliação *in vivo*, observou-se maior recrutamento de neutrófilos no grupo de 600 µg/mL nos dias 7 ($p = 0,023$) e 14 ($p = 0,035$), além de maior retração cicatricial nos grupos tratados com PPTN em determinados períodos. A imunohistoquímica revelou maior expressão de TNF-α (17,33 ± 2,61%) e IL-6 (13,98 ± 1,09%) no grupo de 600 µg/mL no dia 7, com redução no dia 14 (11,95 ± 0,66% e 7,62 ± 0,43%, respectivamente), evidenciando alterações temporais na resposta inflamatória associadas ao processo cicatricial.Dessa maneira a biomembrana contendo 600 µg/mL de PPTN (G2) apresentou o perfil mais equilibrado entre ativação inflamatória e regeneração tecidual, evidenciando efeito dose-dependente e potencial aplicação como biomaterial promotor da cicatrização, sendo uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novas formulações cicatrizantes.

Palavras-chave: biomateriais; reparação tecidual; citocinas; colágeno.

ABSTRACT

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin is an abundant source of collagen-derived peptides with potential biological activities associated with wound healing. Previous studies have suggested that these peptides may influence inflammatory responses, angiogenesis, fibroblast activity, and the expression of mediators involved in tissue repair, including VEGF, TGF-β, IL-6, CD31, and TNF-α. This study aimed to evaluate wound-healing potential of Nile tilapia skin peptides (NTSP) obtained by enzymatic hydrolysis and incorporated into chitosan-based membranes containing glycerol and polyethylene glycol 400 (PEG 400), at concentrations of 600 and 1,000 µg/mL. Membranes were characterized using physicochemical, mechanical, and morphological analyses, fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), and X-ray diffraction (XRD). Wound-healing activity was evaluated in Wistar rats with 4 cm² excisional skin wounds, using peptide free membranes as negative control and bovine skin peptide loaded membranes as positive control. Wound contraction, inflammatory cell infiltration, vascular structures, fibroblasts, collagen fiber birefringence, and TNF-α and IL-6 immunoexpression were assessed on days 7, 14, and 21. Membrane containing 600 µg/mL NTSP exhibited greater swelling after 24 h (2,250.39 ± 64.98%; $p < 0.0001$), a 33% reduction in water vapor permeability, and a more homogeneous surface morphology. After 14 days, membranes containing 600 and 1,000 µg/mL NTSP showed mass losses of 80.75 ± 8.35% and 78.42 ± 8.76%, respectively, compared with 69.96 ± 11.18% in control group, *in vivo*, 600 µg/mL group exhibited increased neutrophil recruitment on days 7 ($p = 0.023$) and 14 ($p = 0.035$), while greater wound contraction was observed in NTSP-treated groups at specific evaluation times. Immunohistochemical analysis revealed higher TNF-α (17.33 ± 2.61%) and IL-6 (13.98 ± 1.09%) expression in the 600 µg/mL group on day 7, followed by reductions on day 14 (11.95 ± 0.66% and 7.62 ± 0.43%, respectively), indicating temporal changes in the inflammatory response associated with wound healing. Overall, membrane containing 600 µg/mL NTSP exhibited favorable physicochemical characteristics and a distinct inflammatory response profile associated with tissue repair. These findings support potential of NTSP-loaded chitosan membranes as promising biomaterials for wound management, although further studies are required to clarify their mechanisms of action, safety, and clinical applicability.

Keywords: biomaterials; tissue repair; cytokines; collagen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fases da cicatrização cutânea fisiológica. 20
Figura 2 – Estrutura da quitina e da quitosana. 40
Figura 3 – Estrutura do colágeno humano e da pele de tilápia do Nilo. 51
Figura 4 – Membranas acondicionadas em placas de petri, para o armazenamento. 61
Figura 5 – Membranas coladas na extremidade dos frascos com cola epóxi líquida.. 63
Figura 6 – Membranas cortadas 50 mm x 20 mm e identificadas para o ensaio. 64
Figura 7 – Sala de técnica operatória do departamento de medicina da UEPG. 68
Figura 8 – Modelo animal, ferida cirúrgica utilizando gabarito 2 x 2 cm com animal sob efeito de anestesia geral..... 68
Figura 9 – Membranas fracionadas em quadrados de 2 x 2 cm. 69
Figura 10 – Membrana de QT suturada nos vértices com fio 2-0 mononylon.. 69
Figura 11 – Fotomicrografia de lâmina corada por H.E 71
Figura 12 – Fotomicrografia de lâmina corada com P.R. 72
Figura 13 – Registro fotográfico da retração do ferimento nos dias 1, 7, 14 e 21.. 72
Figura 14 – FEG-MEV da superfície e seção transversal das membranas..... 78
Figura 15 – Espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 79
Figura 16 – Difratogramas de raios X (DRX). 81
Figura 17 – Grau de intumescimento..... 83
Figura 18 – Biodegradação..... 87
Figura 19 – Retração da ferida 90
Figura 20 – Percentual de retração..... 91
Figura 21 – Infiltrado de células inflamatórias. 93
Figura 22 – Fotomicrografia do infiltrado de neutrófilos. 94
Figura 23 – Contagem de vasos sanguíneos. 95
Figura 24 – Fotomicrografia contagem de vasos sanguíneos (neovascularização) 96
Figura 25 – Contagem de fibroblastos. 97
Figura 26 – Fotomicrografia fibroblastos nos tratamentos..... 98
Figura 27 – Contagem de contagem de fibras de colágeno nos grupos G1 a G4..... 99
Figura 28 – Fotomicrografia Picrossirius Red no 2 dia nos grupos G1 a G4. 100
Figura 29 – Colágeno tipo I (vermelho) e III (amarelo) no 14º e 21º..... 101
Figura 30 – Avaliação imuno-histoquímica de IL-6 103
Figura 31 – Avaliação imuno-histoquímica de TNF-α no 14º. 103
Figura 32 – Avaliação imuno-histoquímica de TNF-α e IL-6 no 7º e 14º dias. 104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Permeabilidade e taxa de transmissão de vapor d'água das biomembranas de QT (controle) e com adição peptídeos de tilápia q 600 e 1000 µg/mL. 84

Tabela 2 – Propriedades mecânicas das membranas de QT controle e das membranas contendo PPTN nas concentrações de 600 e 1000 µg/mL. 85

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
AAPH	2,2′-azobis(2-amidinopropano) di-hidrocloreto
ABTS	Ácido 2,2′-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
ANOVA	Análise de variância
BD14	Beta-defensina 14
CD31	Cluster de diferenciação 31; marcador endotelial
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
DM	Diabetes mellitus
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOI	Identificador digital de objeto (Digital Object Identifier)
DP	Desvio padrão
DRX	Difratogramas de raio X
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EUA	Estados Unidos da América
FDA	*Food and Drug Administration (agência reguladora dos Estados Unidos)*
FEG-MEV	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo
FGF-2	Fator de crescimento de fibroblastos 2
FGF-β	Fator de crescimento de fibroblastos beta (grafia empregada na tese; verificar nomenclatura)
FTIR	Espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)
G1	Grupo 1 – controle negativo, membrana sem peptídeos
G2	Grupo 2 – membrana com PPTN a 600 µg/mL
G3	Grupo 3 – membrana com PPTN a 1000 µg/mL
G4	Grupo 4 – controle positivo, membrana com peptídeos bovinos
GI	Grau de intumescimento
HE	Hematoxilina e eosina
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
ISO	International Organization for Standardization (Organização Internacional de Normalização)
kV	Quilovolt
MEC	Matriz extracelular
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
mg/mL	Miligramas por mililitro
MMPs	Metaloproteinases da matriz
MS	Ministério da Saúde
n	Número de observações/amostras
OMS	Organização Mundial da Saúde
p	Valor de probabilidade estatística
PBS	Phosphate-buffered saline (solução salina tamponada com fosfato)
PCL	Policaprolactona
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PE	Polietileno
PEG	Polietilenoglicol
pH	Potencial hidrogeniônico
PLGA	Poli(ácido lático-co-glicólico)

PPB	Peptídeos de pele bovina
PPTN	Peptídeos de pele de tilápia do Nilo
PU	Poliuretano
PVA	Álcool polivinílico; também usado na tese para permeabilidade ao vapor de água (ambiguidade)
PVP	Poli(N-vinilpirrolidona)
QT	Quitosana
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SD	*Swelling degree* (grau de intumescimento)
TGF-β	Fator de crescimento transformador beta
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UNICENTRO	Universidade Estadual do Centro-Oeste
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
WVPR	Taxa de permeabilidade/transmissão de vapor de água (sigla usada no resumo; conferir definição)
°C	Grau Celsius
α	Alfa (letra grega)
β	Beta (letra grega)
µg/mL	Microgramas por mililitro
µm	Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 OBJETIVOS 18
2.1 OBJETIVO GERAL 18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 19
3.1 CICATRIZAÇÃO FISIOLÓGICA 19
3.1.1 Fases da cicatrização fisiológica 19
3.1.2 Fase de coagulação 20
3.1.3 Fase inflamatória ou de substrato 21
3.1.4 Fase proliferativa ou de granulação 22
3.1.5 Fase de remodelação ou contração da ferida 23
3.2 FERIDAS / CICATRIZAÇÃO PATOLÓGICA 24
3.3 CURATIVOS DISPONÍVEIS PARA TRATAMENTO DE FERIDAS 26
3.3.1 Curativos convencionais 26
3.3.2 Curativos biológicos 29
3.3.3 Aloenxertos 30
3.3.4 Xenoenxertos 31
3.4 CURATIVOS DERIVADOS DE TECIDOS 33
3.4.1 Colágeno 33
3.5 CURATIVOS SINTÉTICOS 34
3.5.1 Espumas 34
3.5.2 Filmes 35
3.5.3 Blendas poliméricas 36
3.5.4 Hidrogéis 37
3.6 OUTROS POLÍMEROS UTILIZADOS COMO CURATIVOS 39
3.6.1 Polímeros naturais 40
3.6.2 Quitosana 40
3.6.3 Ácido algínico e alginato de sódio 41
3.6.4 Amido 41
3.6.5 Dextrana 42
3.6.6 Ácido hialurônico 43
3.7 POLÍMEROS SINTÉTICOS 43
3.7.1 Álcool polivinílico 43
3.7.2 Policaprolactona 44
3.7.3 Poli (N-vinilpirrolidona) 45
3.7.4 Poli (lactídeo-co-glicolídeo) 46
3.8 ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO TÓPICO DE FERIDAS 47
3.8.1 Mupirocina 47
3.8.2 Neosporina 47
3.8.3 Bacitracina 48
3.8.4 Nistatina 49
3.8.5 Nitrofurazona 49
3.9 ESTUDOS UTILIZANDO OS PEPTÍDEOS DA PELE DA TILÁPIA DO NILO (PPTN) 50
3.10 MEMBRANAS DE QUITOSANA COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE PPTN NO TRATAMENTO DE FERIDAS 56
4 METODOLOGIA 60
4.1 OBTENÇÃO DOS PEPTÍDEOS DE PELE DE TILÁPIA (PPTN) 60

4.2 DESENVOLVIMENTO DA BIOMEMBRANA DE QUITOSANA INCORPORADA AOS PEPTÍDEOS DE PELE DE TILÁPIA 60
4.3 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO in vitro DAS BIOMEMBRANAS 61
4.3.1 Análise morfológica da membrana por microscopia eletrônica de varredura (FEG-MEV) 61
4.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) 61
4.3.3 Difração de raios X (DRX) 62
4.3.4 Determinação do grau de intumescimento 62
4.3.5 Determinação da taxa de transmissão ao vapor de água ou permeabilidade..... 63
4.3.6 Determinação das propriedades mecânicas 64
4.3.7 Determinação da biodegradação in vitro 65
4.4 AVALIAÇÃO in vivo DAS FORMULAÇÕES 66
4.4.1 Cuidados éticos 66
4.4.2 Animais..... 66
4.4.3 Grupos experimentais 66
4.4.4 Procedimento cirúrgico..... 67
4.4.5 Pós cirúrgico..... 69
4.4.6 Coleta do material 70
4.4.7 Análise Histológica..... 70
4.4.8 Retração cicatricial por avaliação macroscópica 72
4.4.9 Análise imunohistoquímica de TNF-α e IL-6 73
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 75
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 76
6.1 PROPRIEDADES FÍSICAS DA MEMBRANA DE QT CONTENDO OS PPTN 76
6.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (FEG-MEV)..... 76
6.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) 78
6.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)..... 80
6.5 GRAU DE INTUMESCIMENTO DAS MEMBRANAS DE QT INCORPORADO AO PPTN..... 82
6.6 TAXA DE TRANSMISSÃO (TTVA) E PERMEABILIDADE (PVA) AO VAPOR DE ÁGUA 84
6.7 PROPRIEDADES MECÂNICAS 85
6.8 BIODEGRADAÇÃO in vitro 86
6.9 RETRAÇÃO CICATRICIAL 89
6.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA 92
6.11 ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA 101
7 CONCLUSÃO 106
REFERÊNCIAS 108

1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão humano, responsável por cerca de 16% do peso corporal, capaz de conferir defesa física eficiente contra agentes patógenos e alérgenos, isolando as estruturas internas do ambiente externo. É composta por epiderme, derme e tecido subcutâneo, possui diversas estruturas como pelos, glândulas secretoras e nervos sensitivos (McKnight *et al.*, 2024).

Os principais eventos causadores de perda e comprometimento da atividade protetora conferida pela barreira cutânea são: traumas, queimaduras e complicações vasculares de doenças crônicas. Estes eventos levam ao decréscimo da ação deste escudo protetor natural, facilitando agressões de agentes do meio externo, levando a desidratação, infecções secundárias, retardo do processo cicatricial e sepse (Lopes *et al.*, 2020).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as queimaduras são responsáveis por mais de 180.000 óbitos anualmente em todo o mundo, enquanto aqueles que sobrevivem, podem desenvolver feridas crônicas, com longos períodos de hospitalização e sequelas graves (Lima Júnior *et al.*, 2022).

Ademais, estima-se que 1 a 2% da população mundial padece de feridas crônicas, decorrentes de doenças venosas e insuficiência arterial de membros inferiores, oriundas de complicações ocasionadas por doenças como o diabetes tipo-2. Estas feridas podem evoluir para lesões secundárias como a úlcera do pé diabético, que causa amputações em 0,03 % destes pacientes (Liu *et al.*, 2022).

A cicatrização em mamíferos ocorre de forma dinâmica e sistemática, envolvendo diversos componentes como células inflamatórias, vasos sanguíneos, fibroblastos e fibras de colágeno que formam a matriz extracelular. A resposta biológica ao dano tecidual inclui dois aspectos: regeneração e reparo de feridas (Kim *et al.*, 2015).

A regeneração de feridas designa a cicatrização com substituição completa do tecido e restauração da arquitetura e função do segmento lesionado. Entretanto, o reparo da ferida envolve a migração de fibroblastos, formação de tecido de granulação e a deposição de colágeno de forma desorganizada com a formação de fibrose e tecido cicatricial. Na maioria dos casos, o tecido lesionado em mamíferos é reparado em vez de regenerado à sua estrutura original (Buhimschi *et al.*, 2010).

O processo de cicatrização em condições fisiológicas convencionais é comum a todas as feridas, dividindo-se em quatro fases: fase de coagulação, fase inflamatória, fase de proliferação (granulação) e fase de remodelamento (maturação) (Broughton *et al.*, 2006).

Assim, poucas horas após a lesão tecidual a reepitelização se inicia, com a migração de células inflamatórias, com posterior recrutamento de fibroblastos e diferenciação destas células, estratificação e reparação da barreira natural da pele (Ruszczak *et al.*, 2013).

Entretanto, feridas infectadas, queimaduras e lesões secundárias a doenças sistêmicas, podem evoluir de forma lenta, sendo denominadas de feridas complexas, termo que é utilizado para definir lesões que não cicatrizam de maneira convencional, desafiando as equipes médicas por apresentarem longa duração, não respondendo adequadamente aos tratamentos disponíveis, devido a fatores teciduais locais ou sistêmicos, causando grande impacto socioeconômico (Labib *et al.*, 2023).

As feridas complexas, apresentam um tempo muito prolongado na evolução do processo de cicatrização, isso se deve a fatores como a gravidade da lesão, presença de infecção, existência de comorbidades e a resposta individual do organismo, apresentando uma fase inflamatória prolongada, devido ao estímulo e produção constante de citocinas pró-inflamatórias como interleucina (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Okuno *et al.*, 2018).

O tratamento de feridas de longa duração, inclui métodos clínicos e cirúrgicos, sendo o uso tópico de pomadas e realização de curativos com materiais sintéticos ou biológicos os tratamentos mais frequentemente utilizados para auxiliar a reparação tecidual e controle de infecções (Lindford *et al.*, 2012).

Portanto, a utilização de curativos é uma das formas mais simples de se tratar feridas dentre os materiais mais comumente utilizados para esta finalidade, estão os polímeros de origem fóssil, como polietileno (PE), polipropileno (PP) e poliuretano (PU), que representam um problema do ponto de vista ambiental quando descartados, além do elevado custo (Xu *et al.*, 2023).

Também, a relativa ineficácia dos curativos com materiais sintéticos ou biossintéticos disponíveis, levaram ao aumento de pesquisas na busca por materiais biológicos com custos menos expressivos, como alternativa para o tratamento de feridas complexas, dentre estes estão as matrizes compostas por polímeros naturais como a quitosana, colágeno e alginato (Bolgiani *et al.*, 2020).

Assim, a engenharia tecidual vem desenvolvendo curativos a base de polímeros naturais, que auxiliem na reparação tecidual e forneçam o ambiente mecânico e biológico apropriado para o restabelecimento da matriz extracelular (MEC) durante o processo cicatricial (Pozzolini *et al.*, 2018).

O desenvolvimento de novos fármacos e sistemas de liberação que utilizem biopolímeros naturais, proporcionem barreiras contra infecções de microrganismos e outros agentes externos, protejam a ferida contra injúria mecânica e promovam um ambiente favorável à cicatrização das lesões, tem se tornado alvo de investigações nos últimos anos (Caetano *et al.*, 2015).

Neste contexto, a pele de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), uma matriz de origem natural, tem se destacado como opção para uso médico, demonstrando em diversos estudos aceleração no processo cicatricial, controle de infecções secundárias e melhora na qualidade do tecido neoformado e da matriz extracelular (MEC) (Liu *et al.*, 2017).

A pele de tilápia, um biomaterial de baixo custo, demonstrou propriedades cicatrizantes, anti-inflamatórias, antibacterianas e alta biocompatibilidade. Estas características permitem o desenvolvimento de novos fármacos extraídos de matrizes naturais com efeitos benéficos no tratamento de anormalidades cicatriciais evitando as consequências das complicações desse processo (Cheng *et al.*, 2019).

A pele da tilápia é um produto de subutilizado da cadeia de produção desta espécie aquática, que tem se mostrado cada vez mais promissora na formulação de produtos para a indústria farmacêutica (Tang *et al.*, 2015).

As propriedades cicatrizantes da pele de tilápia, são atribuídas aos efeitos dos peptídeos da gelatina de colágeno, um biopolímero natural, que apresenta em sua estrutura, aminoácidos hidrofóbicos, como glicina, valina, alanina, prolina e hidroxiprolina que formam uma variedade de peptídeos de pele de tilápia do nilo (PPTN) com potentes atividades biológicas (Kim *et al.*, 2007).

Os peptídeos podem ser extraídos de diversos tecidos deste peixe, como ossos, vísceras e escamas, mas estão presentes de forma abundante principalmente da pele deste animal. Podendo ser empregados métodos químicos ou enzimáticos para a extração. (Sasaki *et al.*, 2008).

Estudos apontam que os PPTN aceleram o processo cicatricial através de mecanismos moleculares distintos, como a inibição da produção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), modulação da produção de citocinas pró inflamatórias como interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e por outras vias envolvidas no processo cicatricial como a regulação do peptídeo (BD14), fator de crescimento de fibroblastos beta (FGF-β) e do fator vascular de crescimento endotelial (VEGF) (Mei *et al.*, 2020).

Portanto, para que o processo cicatricial ocorra adequadamente, diversos elementos celulares e extracelulares específicos, como as citocinas e fatores de crescimento, que

orquestram as funções biológicas distintas de cada fase deste complexo processo, tem de estar em harmonia (Stojadinovic *et al.*, 2008).

Também, os PPTN demonstraram atividade antimicrobiana, afetando diretamente o metabolismo de microrganismos patogênicos, apresentando ainda efeitos reguladores sobre o sistema imunológico inato, modulação positiva no processo cicatricial e atividade antioxidante (Huang *et al.*, 2015).

Portanto, o desenvolvimento de um produto natural, que utilize a pele de tilápia como alternativa para o tratamento tópico de feridas é justificado, visto os resultados de diversos estudos apontam as propriedades cicatrizantes, antimicrobianas, antioxidantes e imunomoduladoras desta matriz (Gomathy *et al.*, 2022).

Ainda, dentre os biopolímeros estudados como base para sistemas de liberação de fármacos, tem se destacado a quitosana (QT), um polímero natural abundante, extraído principalmente de exoesqueletos de crustáceos, disponível como um subproduto de descarte das indústrias de processamento de alimentos como camarões e caranguejos (Azuma *et al.*, 2015).

A QT é biocompatível, não-tóxica e pode apresentar outras propriedades biológicas de interesse científico, como antimicrobianas, antifúngicas e promotoras do crescimento celular, podendo ser aplicadas como adjuvantes do processo cicatricial (Laranjeira *et al.*, 2009). No campo farmacêutico a QT é muito utilizada como base para sistemas de liberação controlada de fármacos, suas propriedades físicas e mecânicas incluem elevada flexibilidade, estabilidade e solubilidade (Carvalho, 2014).

Ainda, a QT pode ser processada de diversas maneiras e aplicada na forma de pós, géis, filmes e membranas e incorporar em sua estrutura polimérica outros compostos, que possam também favorecer a cicatrização de feridas, como compostos bioativos de origem natural (Gál *et al.*, 2011).

Com o intuito de motivar investimentos e o desenvolvimento de fármacos adjuvantes no processo cicatricial, utilizando a QT como sistema de liberação e os PPTN como princípio ativo, este trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar a membrana de QT incorporada com peptídeos de pele de tilápia nas concentrações 600 e 1000 μg/mL em modelo animal de cicatrização de feridas.

Portanto a compreensão dos efeitos dessas biomembranas sobre o processo cicatricial envolve aspectos celulares e moleculares, especialmente aqueles relacionados à resposta inflamatória, à organização da matriz extracelular e à remodelação tecidual. Nesse sentido, a integração de caracterizações físico-químicas com avaliações experimentais *in vitro* e *in vivo*

constitui uma abordagem relevante para ampliar o conhecimento sobre o potencial terapêutico, as propriedades e as limitações desses biomateriais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma membrana de QT incorporada com PPTN e avaliar suas propriedades físico-químicas e atividades farmacológicas, cicatrizantes e anti-inflamatórias em ensaios *in vivo e in vitro.*

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) desenvolver e caracterizar *in vitro* membranas de QT contendo o PPTN;
b) avaliar através de ensaios *in vivo* as bioatividades cicatrizante e anti-inflamatória do tratamento com a forma farmacêutica;
c) avaliar através de análises histológicas, os efeitos do tratamento com a forma farmacêutica, quanto ao estímulo da expressão de vasos sanguíneos e fibroblastos;
d) avaliar através de análises histológicas o efeito do tratamento sobre a produção de fibras de colágeno;
e) avaliar através de análise imuno-histoquímicas, a expressão das citocinas pró-inflamatórias (TNF-α) e (IL-6), promovida pelo tratamento com a membrana QT contendo o PPTN.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CICATRIZAÇÃO FISIOLÓGICA

A pele desempenha função de revestimento, atuando como barreira química, física, termorreguladora, antimicrobiana e imunológica, além da função sensorial. Está sujeita a sofrer agressões de agentes intrínsecos e extrínsecos que podem levar a alterações estruturais, tais como as feridas cutâneas (Cardoso *et al.*, 2024).

O processo de cicatrização da pele é um fenômeno complexo, orquestrado e mediado por mecanismos celulares e moleculares. O conhecimento acerca deste processo torna-se crucial na eficácia da terapia tópica elencada. Para que a seleção de curativos e medicamentos adequados possa trazer benefícios ao paciente, deve ser levado em consideração o seu estado clínico, grau de acometimento dos tecidos lesados e evolução da lesão (Johnstone *et al.*, 2013).

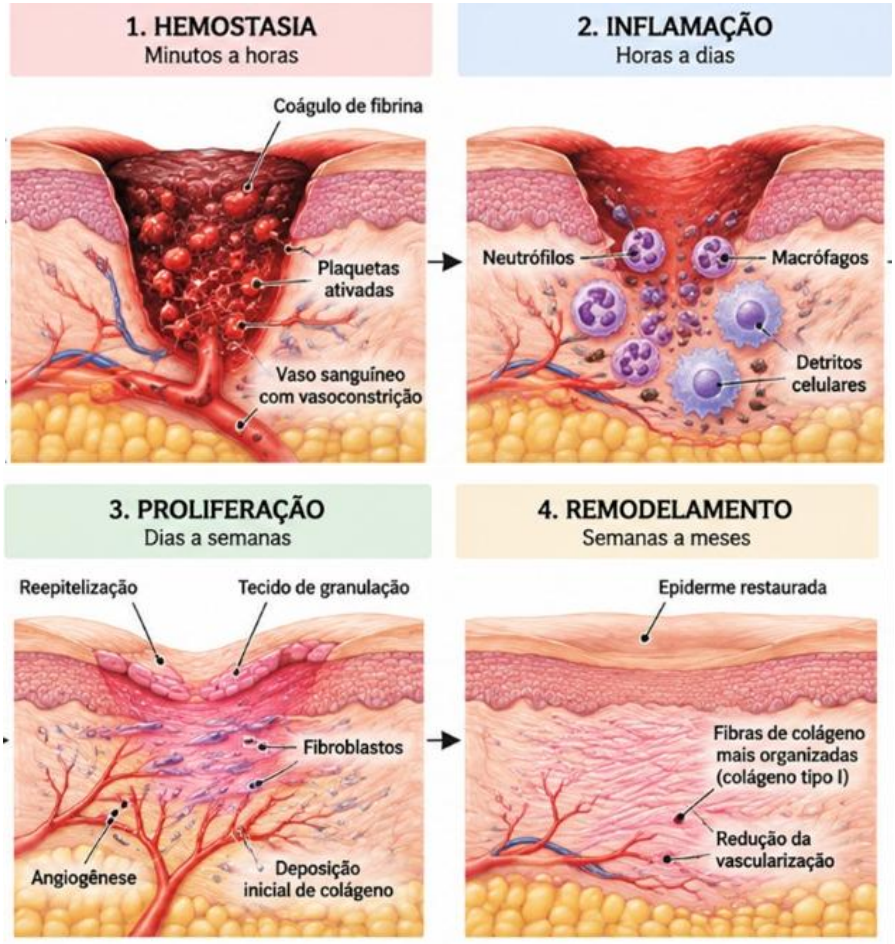
Independentemente da etiologia da lesão, os processos de reparo e cicatrização são semelhantes. A ferida é o resultado de um dano tecidual, com estímulo da resposta fisiológica coordenada para fornecer hemostasia e iniciar o processo de reparo tecidual. Feridas agudas, incluindo incisões cirúrgicas, geralmente passam por essas fases com relativa rapidez, entretanto em alguns tipos de ferida a cicatrização é retardada. Lesões que levam mais de 12 semanas para cicatrizar, são denominadas feridas crônicas ou complexas (Young *et al.*, 2011).

A cicatrização de feridas é um processo dinâmico que envolve uma sequência complexa de eventos que se inicia com a lesão do tecido, continua com a inflamação e termina muito depois da reepitelização ser alcançada. É uma a resposta natural do corpo à lesão tecidual, sendo fenômeno complexo e mediado por diversos mecanismos (Wan *et al.*, 2022).

3.1.1 Fases da cicatrização fisiológica

Existem fases distintas na cicatrização de feridas (Fig. 1), sendo o processo cicatricial dividido nas seguintes fases: fase de coagulação (hemostasia), fase inflamatória ou de substrato, fase proliferativa ou de granulação e fase de remodelação ou contração da ferida (Wallace *et al.*, 2017).

Figura 1 – Fases da cicatrização cutânea fisiológica. Representação esquemática das fases de hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento, destacando os principais eventos celulares e a sobreposição temporal entre as fases.



Fonte: Schultz *et al.* (2011)

3.1.2 Fase de coagulação

A cicatrização de feridas inicia com a contenção da hemorragia e coagulação, imediatamente após a lesão tecidual. O processo de cicatrização não evolui até que a hemostasia seja alcançada. Vasoconstrição, agregação plaquetária e deposição de fibrina são componentes chave na hemostasia, resultando na formação de um coágulo. Os coágulos são compostos principalmente de malha de fibrina e plaquetas, juntamente com células sanguíneas (Schreml *et al.*, 2010).

A formação do coágulo impede a saída de eletrólitos e fluidos, além de diminuir a contaminação do ambiente externo. A vasoconstrição ocorre a partir da liberação de catecolaminas vasoativas, após a lesão na derme. A adrenalina é secretada na circulação sanguínea e a estimulação simpática causa liberação de noradrenalina no local lesionado (Wild *et al.*, 2010).

As prostaglandinas, como o tromboxano são secretadas pelas células lesionadas, contribuindo para a vasoconstrição. Após a exposição ao colágeno e aos fatores teciduais liberados pelas células danificadas, as plaquetas aderem umas às outras e ao endotélio vascular. A agregação de plaquetas causa a liberação de grânulos alfa, bem como, de corpos densos e lisozimas de seu citoplasma (Schultz *et al.*, 2011).

Os grânulos alfa contêm inúmeros fatores envolvidos nas fases inicial e tardia da cicatrização. Desses fatores, os mais importantes liberados são o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento transformador-b (TGF-β) e o fator de crescimento de fibroblastos-2 (FGF-2) (Pakyari *et al.*, 2013).

A deposição de fibrina depende principalmente da ativação da cascata de coagulação extrínseca. A exposição ao fator tecidual, encontrado nas superfícies celulares extravasculares e fibroblastos, leva à ligação ao fator de coagulação VII ou VII a. Como resultado, a produção de trombina catalisa a conversão de fibrinogênio em fibrina (Sorg *et al.*, 2017).

A fibrina cria uma malha que estabiliza o tampão plaquetário e ajuda a formar a matriz à qual a fibronectina, secretada por fibroblastos e células epiteliais, se liga. As moléculas de fibronectina contêm sítios de ligação para a fixação celular, que auxiliam na migração das células ao longo da matriz (Almadani *et al.*, 2021).

Após aproximadamente 10 a 15 minutos, ocorre uma transição da fase vasoconstritora para um período de vasodilatação. Leucotrienos, prostaglandinas e histamina, que são derivados de produtos endoteliais e fatores derivados de mastócitos são os principais contribuintes para a vasodilatação. A produção de trombina e cininas causa um aumento na permeabilidade vascular, o que auxilia na migração extravascular de células inflamatórias, denominada diapedese. A migração de fluido para a área lesionada gera edema, o que contribui para a dor associada à inflamação (Nosbaum *et al.,* 2016).

3.1.3 Fase inflamatória ou de substrato

A fase inflamatória inicia após a coagulação estar concluída, sendo caracterizada pela presença dos sinais flogísticos, também conhecidos como sinais cardinais da inflamação, que são cinco manifestações clínicas que indicam a presença do processo inflamatório: calor, dor, rubor, edema e perda de função (Galli *et al.*, 2011).

Os neutrófilos se infiltram na área lesionada através de diapedese e são inicialmente a célula inflamatória predominante presente na ferida. Sua função é prevenir infecções, limpando e desbridando a área da ferida de partículas estranhas e bactérias por meio da digestão

enzimática e fagocitose. O número de neutrófilos atinge um nível máximo em 1 a 2 dias e diminui nos próximos 3 a 5 dias (Gonzales *et al.*, 2016).

A presença de fatores quimiotáticos faz com que os monócitos entrem no local da ferida. Após aderirem à matriz extracelular, os monócitos sofrem uma transformação em macrófagos, com níveis máximos ocorrendo entre o 4º e o 5º dia. A fagocitose e o desbridamento continuam, o fator estimulante de colônias 1, o fator de necrose tumoral α (TNF-α) e o PDGF são expressos, atraindo mais monócitos e fibroblastos, estimulando a replicação de fibroblastos e o crescimento vascular (Cañedo *et al.*, 2019).

Os monócitos e macrófagos tem um papel fundamental nos eventos de cicatrização de feridas, pois, essas células estimulam a síntese de colágeno por fibroblastos. Estudos também demonstraram que animais com depleção de macrófagos apresentam processos cicatriciais mais demorados (Singh *et al.*, 2017).

Em uma ferida aberta ou de segunda intenção, a fase inflamatória é caracterizada por um período exsudativo que pode durar de 7 a 10 dias, sendo que feridas infectadas demoram ainda mais tempo, entre 15 e 25 dias. Esses períodos reduzem para apenas de 4 a 5 dias em feridas de primeira intenção, não contaminadas, como as feridas cirúrgicas suturadas (Ellis *et al.*, 2018).

3.1.4 Fase proliferativa ou de granulação

A fase proliferativa envolve a regeneração da epiderme com a proliferação de fibroblastos, o que leva à síntese de colágeno e à neoangiogênese. O exsudato na ferida diminui à medida que ocorre a formação de tecido de granulação, composto por fibroblastos e vasos (Landén *et al.*, 2016).

Inicialmente, as células epiteliais próximas à borda da ferida preparam-se para a migração e proliferação celular, achatando e desenvolvendo extensões de seu citoplasma. A dissolução das conexões intracelulares e das ligações epidérmicas permite o movimento lateral das células, que são guiadas pela estrutura formada pela rede de fibrina, fazendo com que haja a retração da ferida. A taxa de migração celular média é de aproximadamente 12 a 21 μm por hora, o que equivale a duas a três vezes o diâmetro da célula a cada hora (El Ayadi *et al.*, 2020).

Uma vez que as células se encontrem, ocorre a inibição por contato, por meio da qual as células epiteliais retomam sua morfologia e função normais. A inibição por contato celular é o processo pelo qual o crescimento e a proliferação de células normais são interrompidos quando elas entram em contato umas com as outras (Harper *et al.*, 2014).

O movimento dos fibroblastos na ferida é semelhante ao da epiderme. A principal função metabólica dos fibroblastos é a síntese de colágeno, proteoglicanos e elastina. Inicialmente, o colágeno tipo III constitui a maior parte do colágeno. Os fibroblastos também começam a se diferenciar em miofibroblastos, importantes para a contratura da ferida, a partir de 7 a 14 dias após a lesão. Os glicosaminoglicanos e os proteoglicanos ajudam a formar a substância fundamental necessária para a formação do colágeno (Anderson *et al.*, 2008).

A formação de novos vasos sanguíneos é necessária para sustentar o tecido de granulação recém-formado. Esse processo é complexo e depende de diversos fatores angiogênicos, como o fator de crescimento endotelial vascular, a angiogenina e a angiotropina (Wilhelm *et al.*, 2017).

3.1.5 Fase de remodelação ou contração da ferida

A remodelação é a fase mais longa da cicatrização de feridas, iniciando-se no período de 2 a 3 semanas. Nesse período, a quantidade de colágeno presente na ferida atinge seu nível máximo. A natureza da matriz da ferida muda significativamente durante esse período. Há uma continuação dinâmica da síntese e degradação do colágeno por meio da interação da colagenase (Seaton *et al.*, 2015).

Inicialmente, a cicatriz imatura contém um arranjo desorganizado de fibras finas de colágeno. Esse arranjo é gradualmente substituído por fibras mais espessas como resultado da reticulação das fibrilas de colágeno, dispostas em uma orientação paralela às tensões da pele. Além disso, o colágeno tipo III é substituído por colágeno tipo I, que se torna o principal componente do tecido cicatricial (Smith *et al.*, 2015).

A contração da ferida ocorre devido à ação dos miofibroblastos a uma taxa de 0,6 a 0,75 μm por dia. Água e glicosaminoglicanos são deslocadas da ferida durante o período de contração, levando ainda mais à compressão das fibras de colágeno. A neovascularização cessa e os vasos começam a regredir, transformando a cicatriz eritematosa em uma cicatriz esbranquiçada relativamente avascular. O processo de remodelação se completa entre 6 e 24 meses após o ferimento (Sebastian *et al.*, 2011).

3.2 FERIDAS / CICATRIZAÇÃO PATOLÓGICA

As lesões na pele geralmente são caracterizadas pela ruptura da estrutura anatômica e funcional do tecido, cuja gravidade pode variar de acordo com a profundidade e extensão da lesão, podendo levar à incapacidade funcional (Molinier *et al.*, 2015).

A perda da barreira protetora conferida pela pele após uma lesão, gera uma via importante para a entrada e instalação de agentes externos no organismo com potencial para o início de processos inflamatórios e infecciosos, de modo que em dadas situações há um grande risco para a saúde do indivíduo afetado (Aidar *et al.*, 2016).

O processo normal de cicatrização de feridas implica em etapas distintas e coordenadas, assim após a vasoconstrição e coagulação, inicia-se o processo propriamente dito, que é dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelação, culminando com a formação do tecido cicatricial (Smith *et al.*, 2020).

Entretanto as feridas crônicas, também denominadas feridas complexas, como queimaduras e as úlceras diabética, de estase venosa, arteriais e traumáticas, além das escaras por pressão e feridas pós-cirúrgicas infectadas, representam um desafio, pois não seguem as fases convencionais do processo cicatricial, devido ao prolongamento da fase inflamatória, mediado por citocinas pró-inflamatórias e complicado pela presença de infecções secundárias (Docherty, 2020).

As feridas complexas, demoram para cicatrizar, em decorrência de uma série de fatores moleculares e celulares do processo de cicatrização. As principais são: alta concentração de citocinas pró-inflamatórias como metaloproteinases (MMPs) e fator de necrose tumoral (TNF-α), neuropatia, infecções secundárias e resposta inflamatória não fisiológica com estresse oxidativo, neoangiogênese deficiente, concentrações inadequadas de fatores de crescimento e anormalidades celulares (Andrade *et al.*, 2013).

Nesse contexto, as queimaduras estão entre as principais causas de lesões crônicas de pele na população mundial, que além de apresentar desfechos letais, determinam inúmeras sequelas e incapacidade nos casos não fatais, como funcionais, estéticas, psicológicas e sociais, dificultando retorno da qualidade de vida anterior a lesão (Jeschke *et al.*, 2022).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as queimaduras são responsáveis por aproximadamente 180.000 mortes por ano em todo mundo. Dados do Boletim Epidemiológico elaborado pelo Ministério da Saúde (MS), aponta que entre os anos de 2015 e 2020 ocorreram 19.772 óbitos por queimaduras e cerca de 1.000.000 de acidentes envolvendo esse tipo de lesão no Brasil (Ministério da Saúde, 2022).

A sepse é uma das principais causas de óbitos de pacientes internados devido a queimaduras. A etiologia envolve a presença de agentes patogênicos que provocam descompensação na atividade orgânica do indivíduo afetado, de modo que o sistema de defesa do paciente não é capaz de gerar uma resposta efetiva sobre patógenos invasores (Alves *et al.*, 2018).

O paciente queimado necessita de cuidados especiais como troca de curativo diária, cobertura precoce da lesão e medidas de prevenção de infecções, pois apresenta comprometimento imunológico quando na presença da ferida aberta, tornando mais suscetível a infecções tanto bacterianas quanto fúngicas (Okuno *et al.*, 2018).

Ademais, vítimas de queimaduras graves frequentemente enfrentam longos períodos de hospitalização, com tratamentos dolorosos, trocas frequentes de curativos, debridação de ferimentos e permanência em UTI. Estes pacientes em muitos dos casos, apresentarão deficiências físicas e problemas psicológicos como sequelas destas lesões (Lopes *et al.*, 2020).

Também, segundo dados do MS, o diabetes melitus afeta cerca de 250 milhões de pessoas em todo o mundo. No Brasil, a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) constatou que, em 2022, mais de 20 milhões de pessoas viviam com a doença no país (Ministério da Saúde, 2022).

Dentre as principais complicações do diabetes mellitus (DM) está a úlcera do pé diabético, que é associada a altos níveis de morbidade e custos financeiros significativos no tratamento. A incidência destas lesões ao longo da vida de pacientes com diabetes é de 19 a 34%, como consequência disso, o risco de traumas e o desenvolvimento de feridas tende a ser aumentado por conta da sensibilidade reduzida (Schaper *et al.*, 2020).

As polineuropatias diabéticas reduzem a sensibilidade nervosa, afetando principalmente os membros inferiores e aumentando o risco para a ocorrência de traumas e feridas. Complicações como infecções e amputações podem ocorrer devido à menor sensibilidade e fluxo sanguíneo destes pacientes (Medeiros *et al.*, 2024).

Ademais, as casuísticas elevadas e a falta de consenso no tratamento de dermatoses que retardam e descompensam o processo fisiológico cicatricial, tais como: reações graves a drogas, síndrome de Stevens-Johnson, necrólise epidérmica tóxica, também doenças bolhosas como pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo, penfigóide bolhoso e pioderma gangrenoso, tornam o manejo destas lesões complexas na pele um desafio para as equipes médicas (Kus, Ruiz, 2020).

Assim, as elevadas estatísticas da incidência de feridas complexas no mundo, justificam o desenvolvimento de novos fármacos, que auxiliem no controle de infecções, principalmente por microrganismos multirresistentes, estimulem a produção de mediadores do

processo regenerativo, reduzam a troca de curativos nestes pacientes e tenham custo acessível, visto que estas lesões ocorrem com maior incidência em países subdesenvolvidos (Tottoli *et al.*, 2020).

Apesar das diversas modalidades terapêuticas disponíveis, que visam melhorar a cicatrização de feridas complexas como os polímeros sintéticos e biossintéticos, estes em muitos casos não apresentam eficácia, são de difícil aplicação em certas regiões do corpo e apresentam custo elevado. Portanto o desenvolvimento de novas abordagens para essas patologias permanece um desafio clínico (Karimi *et al.*, 2017).

3.3 CURATIVOS DISPONÍVEIS PARA TRATAMENTO DE FERIDAS

O tratamento conservador de feridas se restringe principalmente ao reparo da lesão e não a restituição total da integridade do tecido, denominada "*restitutio ad integrum*". Portanto, há uma busca contínua por terapias de feridas mais eficazes para reduzir a sobrecarga dos cuidados de saúde, proporcionar aos pacientes alívio da dor e cicatrização estética, sem formação de fibrose abundante (Borena *et al.*, 2015).

Os curativos são a primeira opção para o tratamento de feridas, estes podem ser classificados em três categorias: convencionais, biológicos e sintéticos. Curativos convencionais, são comumente utilizados para feridas menos complexas, tem função de absorção de líquidos exsudativos e proteção da ferida. Os biológicos são derivados de tecidos naturais, como pele e combinações de elastina, lipídios e colágeno de fontes animais. Os sintéticos são compostos por materiais como poliuretano, hidrogéis ou polímeros, foram desenvolvidos para reduzir o custo dos curativos e aumentar a sua eficácia e tempo de armazenamento (Kalantari *et al.*, 2020).

3.3.1 Curativos convencionais

A conduta terapêutica padrão para lesões crônicas mais superficiais, como queimaduras leves e úlceras não infectadas, dispensa a abordagem cirúrgica, sendo realizada somente a cobertura da lesão com curativos convencionais, desinfecção com antissépticos e aplicação de pomadas com ação antimicrobiana (Moraes *et al.*, 2024).

O curativo convencional, deve possuir alta capacidade de absorção, evitando o acúmulo de líquido e fazendo com que o fluido absorvido se distribua regularmente. A gaze (Nexcare 3M®, Hérika®) atende a esses requisitos, possui custo baixo, sendo o curativo mais

utilizado nas unidades de saúde atualmente. A gaze é composta por tecido de algodão e pode ser submetida a esterilização (Noor *et al.*, 2022).

Também, a bandagem de gamgee (vet gamgee tissue®) é um curativo convencional, usado principalmente em medicina veterinária para tratamento e suporte de feridas. Consiste em uma camada de algodão altamente absorvente, envolta em uma capa de baixa aderência. Este design garante que o curativo não grude na ferida, facilitando a remoção sem causar mais ferimentos ou desconforto ao paciente (Napavichayanun *et al.*, 2016).

Também, uma opção viável para curativos é a gaze de tule (Lomatuell® Pro) é uma malha larga, saturada com parafina, que proporciona uma condição não aderente ao leito da ferida devido à sua oleosidade. Diversas tentativas foram realizadas para selecionar materiais oleosos no desenvolvimento de redes semelhantes a telas, com baixa adesão. No entanto, o fluido não é bem absorvido nesses curativos, tornando sua drenagem deficiente (Angspatt *et al.*, 2011).

Os curativos convencionais são importantes no tratamento de alguns tipos de feridas, entretanto, infecções devido à contaminação por exsudato, através da rede de gaze e outros curativos, são uma intercorrência comum na utilização desses curativos. Assim, a utilização de antissépticos e cremes antimicrobianos em combinação com estes curativos, ajuda a superar esse problema (Brum *et al.*, 2023).

Nos casos de lesões mais profundas, como queimaduras de grau mais intenso, úlceras profundas infectadas e presença de tecido necrosado, a conduta terapêutica utilizando curativos convencionais, indica a realização de debridamento cirúrgico do tecido necrosado, com banho de Clorexidina a 2%. Após esta etapa terapêutica é aplicado um curativo de gaze com aplicação de sulfadiazina de prata 1%, até que o leito da ferida esteja preparado para a enxertia e reparo completo (Milagres *et al.*, 2022).

A clorexidina (Betasept®, Hibiclens®, Riohexe®) é um antisséptico e antimicrobiano biguanida catiônico, com amplo espectro de atividade contra bactérias e fungos, amplamente utilizada em situações clínicas e domésticas, com papel benéfico no tratamento de queimaduras e feridas infectadas (Sivathasan, Ramamurthy, 2010).

Dentre os mecanismos de ação propostos em literatura para a clorexedina, são citados como alvo de sua ação, efeito inibidor direto da ATPase ligada à membrana celular dos microrganismos, inviabilizando a produção de energia, causando sua morte (Abel-Sayed *et al.*, 2019).

Embora seja um antisséptico potente, a clorexidina tem efeitos colaterais. Diversos estudos *in vitro* relataram citotoxicidade da clorexedina em células cultivadas, enquanto dados

in vivo e clínicos parecem apresentar resultados mais controversos, como queimaduras químicas em pacientes submetidos ao tratamento, principalmente neonatos (Kutsch, Ottinger, 2014).

A sulfadiazina de prata (Dermazine®, Dermacerium®) é amplamente utilizada no tratamento de queimaduras, sendo classificada como um fármaco antimicrobiano e bactericida de amplo espectro. O mecanismo de ação da sulfadiazina de prata, apresenta ação de dupla função farmacodinâmica. A fração sulfadiazina interfere no metabolismo bacteriano, enquanto os íons de prata entram em contato com o DNA microbiano e contribuem amplamente para a ação bactericida. Portanto, o complexo sulfadiazina / prata exerce ação antibacteriana ligandose aos pares de bases na hélice do DNA, interrompendo, assim, o mecanismo de transcrição bacteriano (Barkat *et al.*, 2023).

Apesar da indiscutível relevância da sulfadiazina de prata como terapêutica antimicrobiana tópica, sua utilização apresenta desvantagens, como a necessidade de troca diária dos curativos, o que torna o processo doloroso e estressante para os pacientes, além do desenvolvimento de hipersensibilidade a sulfa (Sartori *et al.*, 2018).

Também, uma alternativa utilizada para a redução no índice de infecções em pacientes com lesões complexas, é o processo de incorporação de agentes antimicrobianos nesses curativos, que já ocorre há mais de cem anos. Agentes como ácido mercúrico e ácido carbólico têm sido utilizados por alguns médicos em curativos absorventes, além de cremes de polimixina e penicilina (Kalantari *et al.*, 2020).

Como tratamento de feridas, também é muito utilizado curativo com pomada enzimática de colagenase (Iruxol®, Kollagenase®, Santyl®) composta por colagenase clostridiopeptidase A e enzimas proteolíticas, que agem degradando o colágeno nativo da ferida, auxiliando na remoção do tecido morto da área lesionada. É indicado para feridas com tecido desvitalizado e necrosado, como queimaduras e lesões infectadas com tecido desvitalizado (Pham *et al.*, 2019).

Ainda, tem sido proposto a utilização de curativo com ácidos graxos essenciais (AGE), que tem em sua formulação óleo vegetal, composto por ácido linoleico, ácido caprílico, ácido cáprico, vitamina A, E e lecitina de soja (Eskandarinia *et al.*, 2020).

O mecanismo de ação proposto pelo uso tópico de ácidos graxos é a promoção da quimiotaxia e angiogênese através do estímulo da expressão de fatores de crescimento como VEGF e FGF. Assim, mantém o meio úmido e acelera o processo de granulação tecidual. A aplicação em pele íntegra tem grande absorção, forma uma película protetora na pele, previne escoriações devido à alta capacidade de hidratação, proporcionando nutrição celular local (Skórkowska *et al.*, 2021).

O curativo com AGE (Agederm®; Ativoderme®; Dersani®) é indicado na prevenção de úlceras de pressão, feridas abertas superficiais com ou sem infecção, não havendo contraindicação relatada. O produto é aplicado no leito da ferida ou embebido em gazes estéreis, com contato o suficiente para manter o leito da ferida úmido até a próxima troca, como desvantagem está a periodicidade da troca que deve ser a cada 24 horas (Xu *et al.*, 2024).

O objetivo dos curativos convencionais é fornecer um leito de tecido de granulação saudável, para que o processo cicatricial transcorra de forma adequada, com a neoformação de tecidos, vasos sanguíneos e organização da matriz extracelular (Heyer *et al.*, 2013).

O fornecimento de um ambiente adequado para a cicatrização é alcançado em parte, com a utilização de curativos convencionais. Além disso, para controlar as infecções, existe a necessidade da utilização de agentes antissépticos e antibacterianos. No entanto, tais agentes podem causar trauma e aderência tecidual, resistência microbiana, além do inconveniente da troca frequente de curativos (Mahyudin *et al.*, 2020).

Portanto, os curativos tradicionais convencionais apresentam restrições e limitações. A pesquisa sobre o desenvolvimento e a produção de curativos mais eficazes para o tratamento de feridas levou ao desenvolvimento de curativos biológicos e sintéticos, para suprir as limitações e desvantagens dos tratamentos disponíveis (Schmitz *et al.*, 2014).

3.3.2 Curativos biológicos

Curativos biológicos (C.B) são derivados de tecidos naturais, geralmente compostos por pele animal, podendo se apresentar de diferentes combinações e formulações de colágeno, quitosana, elastina e lipídios em sua formulação (Vyas *et al.*, 2014).

Sendo produzidos por engenharia tecidual, os C.B são promissores no tratamento de queimaduras, úlceras crônicas, feridas cirúrgicas, além de uma variedade de condições dermatológicas com bolhas e descamações como pênfigo vulgar, pênfigo foliáceo e penfigóide bolhoso (Sun *et al.*, 2019).

Assim, têm sido atribuídos muitos efeitos benéficos aos C.B em relação aos curativos convencionais e sintéticos, como redução da população bacteriana na superfície da ferida, redução da dessecação, diminuição da perda de água e calor por evaporação, prevenção de contaminação adicional da ferida, criação de leito adequado para o tecido de granulação e aceleração da cicatrização (Gierek *et al.*, 2013).

Os C.B são divididos em 3 principais categorias: aloenxertos, xenoenxertos e derivados de tecidos. O aloenxerto utiliza tecido de um indivíduo em outro da mesma espécie.

Os xenoenxertos utilizam tecidos removidos de uma espécie e enxertadas em uma espécie diferente. Os derivados de tecido, utilizam frações de tecidos de organismos vivos, como proteínas e aminoácidos (Gordon *et al.*, 2019).

3.3.3 Aloenxertos

O enxerto autógeno ou isoenxerto, onde a pele é transferida cirurgicamente de um local do corpo para outro, no mesmo indivíduo, é o método de enxerto mais comum utilizado em queimaduras e feridas complexas. No entanto, em caso de lesões com perda de grande extensão de tecido, outra fonte de tecido pode ser necessária (Nyame *et al.*, 2014).

Assim, uma alternativa viável é a pele utilizada como enxerto alogênico, que pode ser fornecida de forma voluntária, por um membro da família, ou colhida de pessoas em óbito, previamente registrados como doadores. Enxertos alogênicos frescos, liofilizados ou congelados são mais eficazes, sendo indicados para queimaduras extensas e de espessura total, lesões térmicas e perdas de grandes áreas de tecidos (Foley *et al.*, 2013).

O enxerto alogênico pode ser usado como tecido teste, para determinar a viabilidade do paciente receber enxerto autógeno, minimizando as chances de rejeição deste, por causas distintas como neovascularização insuficiente e infecções. Quando a pele do aloenxerto apresenta aderência normal, sinais de vascularização e ausência de infecção dentro de 72 horas após o enxerto, o paciente pode ser submetido ao procedimento definitivo (Haddad *et al.*, 2017).

Pesquisadores tem avaliado a viabilidade de membranas amnióticas fetais como aloenxerto, como vantagem pode-se apontar a pronta disponibilidade e baixo custo do material, podendo ser adquirido de maternidades e hospitais que realizam procedimentos obstétricos. No entanto, esse método apresenta a desvantagem de não ser eficaz na prevenção da perda de líquido por evaporação, resultando em desidratação da ferida (Li *et al.*, 2023).

Apesar do baixo custo e viabilidade, as desvantagens dos aloenxertos incluem a possibilidade de transmissão de doenças virais e bacterianas, rejeição e infecção do enxerto, além da necessidade de um leito receptor bem vascularizado para garantir a integração. Outros problemas podem incluir dor persistente, descoloração da pele, contratura e formação de cicatrizes (Wang *et al.*, 2020).

3.3.4 Xenoenxertos

O xenoenxerto é um procedimento cirúrgico, que envolve o transplante de tecidos de uma espécie para outra, sendo frequentemente utilizado em contextos de medicina regenerativa e transplantes (Raimer *et al.*, 2011).

Enxertos utilizando diversos tipos de tecidos de animais têm sido estudados como alternativa aos aloenxertos. Estas pesquisas demonstram que o uso de enxertos de tecidos de animais como peixes, porcos, rãs entre outros, tem demonstrado resultados promissores, agindo na cobertura da ferida, além de apresentarem compostos bioativos, com propriedades cicatrizantes, anti-inflamatórias e antioxidantes (Lunina *et al.*, 2024).

Estudos recentes apontam a utilização da pele da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) como biomaterial promissor na medicina regenerativa, tendo demonstrado boa aderência ao leito das feridas em modelo animal, além de resultados positivos em testes comparativos com a pele humana. Ademais análises histológicas, imuno-histoquímicas e antimicrobianas, demonstram vantagens do uso deste biomaterial em relação aos comparadores (Moraes *et al.*, 2024).

A pele da tilápia apresenta em sua composição, fibras de colágeno com estrutura semelhante à pele humana, conferindo boa resistência à tração e à compressão. Estudos apontam este material como uma alternativa viável para ser utilizada como curativo biológico em queimaduras (Lima Júnior *et al.*, 2020).

O colágeno presente na pele da tilápia é composto por PPTN, que são formados por combinações de aminoácidos, com funções biológicas distintas. Estudos demonstraram que o uso destes enxertos, pode acelerar o processo cicatricial, através do recrutamento de mediadores e controle de infecções secundárias (Chen *et al.*, 2019).

A pele da tilápia é um produto de baixo custo, sendo geralmente descartada na cadeia de produção desta espécie. Ademais, o Brasil é o quarto produtor mundial de tilápia com 486.155 toneladas por ano. Dentre as principais vantagens do seu uso estão, além do preço baixo o risco mínimo de transmissão de doenças e elevada biocompatibilidade (Lopes *et al.*, 2021).

A pele de porco também pode ser utilizada, sendo uma alternativa viável para a realização de xenoenxertos. Estudos demonstram que seu uso proporciona um curativo adequado, mantendo o leito da ferida hidratado e protegido dos agentes do meio externo. Como vantagens estão o fácil armazenamento, disponibilidade e baixo custo, em contraste com a pele de aloenxertos (Yamamoto *et al.*, 2018).

A pele de porco é semelhante à pele humana em termos de aderência, textura e composição de colágeno. A presença de microrganismos e agentes externos na ferida do receptor, pode desencadear mecanismos de defesa imunológica nativa do enxerto, auxiliando no controle da inflamação e em feridas contaminadas (Haller *et al.*, 2021).

A presença dos mecanismos de defesa naturais do doador nos tecidos do enxerto, faz com que haja a necessidade do uso de medicamentos para supressão imunológica no receptor. Entretanto, o uso destes fármacos, anula esta resposta natural contra agentes agressores, com a perda do benefício de controle da inflamação (Young *et al.*, 2016).

Também, a pele de rã (*Rana catesbiana*) tem sido utilizada com sucesso no tratamento de queimaduras de espessura total e parcial em pacientes humanos. Os resultados apontam que este biomaterial pode ser muito útil, apresenta baixo custo, com a vantagem adicional de conter em sua composição peptídeos bioativos. A magainina, é um dipeptídeo presente na pele de rã, com propriedades antimicrobianas e cicatrizantes (Pereira *et al.*, 2016).

Ademais, a pele de rã liofilizada foi avaliada em um estudo, tendo sido formulada em uma pomada e testada em feridas de espessura total de camundongos, demonstrando efeitos positivos na redução da inflamação e carga microbiana, aumento da proliferação de fibroblastos, produção de colágeno, neovascularização e incremento da retração cicatricial (Bazaz *et al.*, 2013).

Ainda, o peptídeo OA-RD17 isolado da pele de anfíbio, demonstrou efeitos terapêuticos promissores na cicatrização de úlceras em pacientes diabéticos, através da modulação de mecanismos celulares e moleculares, como proliferação, migração e recrutamento de macrófagos (MAPK, NF-κB) e proliferação e migração de queratinócitos TLR4/MAPK/miR632/Wnt/β-catenina (Li *et al.*, 2013).

Apesar da pele de rã ser um substituto de pele natural, testado e utilizado em diversos estudos pré-clínicos e clínicos, como principal desvantagens estão a menor permeabilidade à água e rejeição do enxerto por parte do receptor, constituindo assim fatores que restringem a eficácia e podem limitar sua aplicação (Esmaeili *et al.*, 2024).

Portanto tecidos biológicos de origem animal, como peles de porco, tilápia e rã, além de outros tecidos como pericárdio bovino e equino, camada submucosa do intestino delgado de porco, têm sido empregados como xenoenxertos, tendo apresentado resultados significativos. Apresentam vantagens e desvantagens em relação aos tratamentos convencionais, sendo que mais estudos precisam ser desenvolvidos para avaliar a eficácia destes (Campebel *et al.*, 2015).

3.4 CURATIVOS DERIVADOS DE TECIDOS

Dentre os biomateriais poliméricos naturais, os mais difundidos e estudados e utilizados na formulação de curativos com derivados de tecidos estão o colágeno e a quitosana. O colágeno é uma proteína fibrosa abundante nos tecidos dos animais, essencial para a estrutura, elasticidade e firmeza da pele, ossos, tendões e tecidos conectivos. A QT é um polissacarídeo derivado da quitina, um composto encontrado em exoesqueletos de crustáceos e outros organismos (Fu *et al.*, 2013).

3.4.1 Colágeno

O colágeno possui alta biocompatibilidade, degradabilidade e disponibilidade, o que o torna um material atraente para diversas aplicações biomédicas. Os vários tipos de colágeno existentes em diversas espécies animais, com diferentes estruturas e propriedades, permitem seu uso em aplicações médicas, tanto na forma integral, quanto utilizando derivados de sua estrutura, como aminoácidos e peptídeos (Sorushanova *et al.*, 2019).

O colágeno é uma proteína constituída por três polipeptídios helicoidais associados em uma tripla hélice, formando fibras que ficam embebidas em uma rede de proteoglicanos, sendo a proteína mais abundante no reino animal, consistindo em cerca de 30% do total de proteína dos tecidos dos animais (Felician *et al.*, 2018).

Ademais, existem centenas de derivados do colágeno, de diversas espécies animais sendo estudados nas últimas décadas, com inúmeras atividades biológicas, incluindo peptídeos bioativos com diversas funções no organismo. Esses peptídeos, obtidos por hidrólise do colágeno, podem atuar como estimuladores do processo cicatricial, através da ativação de vias celulares e moleculares (Pallaske *et al.*, 2018).

Fármacos tópicos à base de colágeno, promovem um ambiente favorável à regeneração tecidual, desempenhando papel crucial em todas as fases do processo de cicatrização. O tratamento com derivados de fontes de colágeno de bovinos, suínos e peixes, mantem um leito adequado para a ferida, além de estimular o recrutamento de mediadores do processo cicatricial, promovendo sua aceleração (Zulkiflee *et al.*, 2023).

Estudos demonstraram que o colágeno extraído de fontes naturais, produz efeitos benéficos sobre o processo inflamatório, através da redução da secreção do fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e regulação da atividade de macrófagos (Zimba *et al.*, 2024).

Wang *et al.* (2015), utilizaram a pele de tilápia, tendo extraído e identificado 16 peptídeos, com atividades biológicas distintas, como estímulo na formação de capilares, recrutamento de fibroblastos e aumento na deposição de fibras de colágeno, além de aumento na expressão de mediadores como a molécula de adesão plaquetária, fator de crescimento de fibroblastos e fator de crescimento TGF-β -1.

Em outro estudo, utilizando pele de tilápia, foram extraídos por hidrólise enzimática, isolados e identificados através de análise por espectrometria de massas, 20 di e tri peptídeos, que foram submetidos a ensaios *in vivo* e *in vitro*, demonstrando atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante (Tozetto *et al.*, 2023).

Dentre as vantagens do uso do colágeno e seus derivados no tratamento de feridas, podemos citar a diversidade em sua formulação, que é possível ser realizada em diversas formas farmacêuticas, o que pode otimizar esse processo. Estas formas incluem filmes, esponjas, hidrogéis, nanofibras e pó, cada um com características específicas que se adequam aos diferentes tipos e estágios de feridas (Mathew-Steiner *et al.*, 2021).

3.5 CURATIVOS SINTÉTICOS

Diferentes materiais sintéticos foram desenvolvidos para curativos de feridas, visando redução do custo, eficácia e facilidade de armazenamento. Protótipos e curativos disponíveis comercialmente tem sido produzido em ampla escala nas últimas décadas, visto a demanda e interesse crescente neste tipo de material. Os curativos sintéticos comerciais são divididos nas seguintes classes: espumas, filmes, compósitos e hidrogéis (Aderibigibe *et al.*, 2022).

3.5.1 Espumas

As espumas poliméricas são usadas para tratar feridas crônicas, queimaduras e feridas cirúrgicas. Esta forma de curativo sintético é geralmente utilizada como sistema de liberação, para administrar medicamentos ou outras moléculas ativas (Franco *et al.*, 2019).

Espumas de polímeros podem ser utilizadas para administrar antibióticos e prevenir infecções, através da adição de quantidades definidas do fármaco ativo, nos poros desta matriz. Além disso, outros tipos de moléculas ativas, adjuvantes da cicatrização podem ser incorporados às espumas, a fim de aumentar a atividade enzimática e acelerar o processo (Trucillo, 2021).

Atualmente, espumas de poliuretano (PU) são as mais utilizadas, sendo este um copolímero de grupos de uretanos formados por uma reação de polimerização entre grupos diol e diisocianato. O PU é um polímero sintético que tem sido comumente utilizado na medicina regenerativa nos últimos anos devido à sua biocompatibilidade (Mogosanu *et al.*, 2014).

Espumas à base de PU, tem a vantagem da versatilidade química deste material, suas propriedades hidrofílicas, tornam esses produtos capazes de reter grandes volumes de exsudatos e apresentar propriedades absorventes, mantendo o leito da ferida com uma quantidade adequada de umidade para o processo cicatricial (Varaprasad *et al.*, 2020).

Ademais, foram relatados efeitos analgésicos, utilizando escalas de dor padronizadas, em pacientes com úlceras diabéticas. A analgesia é crucial, visto que a dor potencializa a resposta do sistema nervoso simpático, com a liberação de catecolaminas, causando constrição arteriolar periférica, com redução do fluxo de oxigênio para o local da ferida, retardando a cicatrização e aumentando a suscetibilidade a infecções (Jørgensen *et al.* 2005).

Assim, espumas poliméricas representam um avanço tecnológico no tratamento de feridas, dada a sua grande versatilidade e aplicabilidade. Ademais, é possível ajustar através de processos químicos e físicos sua estrutura, em termos de densidade, morfologia dos poros, formulação, composição e forma (Zhong *et al.*, 2020).

3.5.2 Filmes

Outra categoria de curativo sintético, são os filmes poliméricos, que proporcionam alta taxa de absorção de exsudatos, fornecendo um ambiente úmido para feridas. O poliuretano (PU) é usado em muitos curativos semipermeáveis, devido à sua capacidade de fornecer uma barreira adequada com permeabilidade ao oxigênio (Shi *et al.*, 2021).

Os curativos de PU formam uma barreira impermeável a água, protegendo a ferida de contaminantes como bactérias e sujidades, que podem levar a infecções. Isso torna os curativos de PU ideais para feridas que precisam de proteção contra umidade externa e contaminantes ambientais (Junker *et al.*, 2015).

Embora os curativos de PU sejam impermeáveis, eles são respiráveis, o que significa que eles permitem que o oxigênio passe, enquanto impedem a entrada de umidade. Isso fornece um ambiente equilibrado para a ferida cicatrizar sem ressecar ou ficar muito molhada. Um ambiente úmido para cicatrização de feridas comprovadamente acelera o processo de cicatrização e minimiza a formação de cicatrizes (Park *et al.*, 2016).

Entretanto, a desvantagem do uso de filmes de PU inclui o acúmulo de líquido sob esse filme semioclusivo, devido a sua característica não absorvente, o que pode aumentar a demanda por trocas mais frequentes deste (Zhang *et al.*, 2016).

Em um estudo comparativo com o curativo Tegaderm®, considerado o curativo padrão, feridas cobertas com filmes de PU formaram uma crosta mais fina, com menor infiltração de células inflamatórias, formação precoce de tecido de granulação, neovascularização e maior deposição de colágeno (Khil *et al.*, 2003).

Os curativos de poliuretano fornecem proteção, promovem cicatrização úmida de feridas, e reduzem o risco de infecção, tornando-os ideais para muitos tipos de feridas, de pequenos cortes a úlceras crônicas. Suas propriedades de adesão, flexibilidade e respirabilidade os tornam uma boa escolha para o tratamento de feridas crônicas (Vowden, 2019).

3.5.3 Blendas poliméricas

As blendas poliméricas são sistemas constituídos pela mistura física de dois ou mais polímeros, com o objetivo de combinar ou modificar suas propriedades físico-químicas, mecânicas e funcionais, sem a necessidade de formação de ligações covalentes entre os componentes. Diferentemente dos copolímeros, nos quais diferentes unidades monoméricas integram uma mesma estrutura macromolecular, as blendas são obtidas predominantemente por processos de mistura física. Esses sistemas podem apresentar diferentes graus de miscibilidade e compatibilidade, dependendo da natureza química dos constituintes e das interações estabelecidas entre suas cadeias poliméricas (Seidi *et al.*, 2021).

A miscibilidade de uma blenda depende de fatores como composição química, massa molar, proporção dos componentes e condições de processamento. As blendas podem ser classificadas como miscíveis, parcialmente miscíveis ou imiscíveis, apresentando diferentes características morfológicas e estruturais. Interações intermoleculares, incluindo ligações de hidrogênio, forças dipolo-dipolo e interações iônicas, podem contribuir para a compatibilidade entre os polímeros. Essas características influenciam propriedades como resistência mecânica, flexibilidade, absorção de água, permeabilidade e estabilidade do material, sendo relevantes para aplicações farmacêuticas e biomédicas (Nyamweya *et al.*, 2021).

As blendas poliméricas apresentam aplicações comerciais consolidadas em diferentes setores industriais, destacando-se materiais como Bayblend®, constituído por policarbonato e acrilonitrila-butadieno-estireno (PC/ABS), utilizado em componentes automotivos e eletrônicos; NORYL®, baseado na associação de éter polifenilênico e poliestireno (PPE/PS),

empregado em componentes elétricos e aplicações industriais; e determinadas formulações VALOX®, constituídas por misturas de poliésteres, como PBT/PET, destinadas à fabricação de peças técnicas. Esses exemplos demonstram a versatilidade das blendas na combinação de propriedades complementares, princípio também explorado no desenvolvimento de sistemas poliméricos para aplicações biomédicas (Kaur *et al.*, 2023).

Entre os polímeros naturais utilizados no desenvolvimento de blendas, destaca-se a quitosana, devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, capacidade de formação de filmes e presença de grupos amino e hidroxila capazes de estabelecer interações intermoleculares. Sua associação com polímeros sintéticos, como o polietilenoglicol (PEG), permite modificar características estruturais e funcionais da matriz, enquanto a incorporação de plastificantes, como a glicerina, pode alterar a mobilidade das cadeias poliméricas e o comportamento mecânico das membranas. Entretanto, os efeitos dessas modificações dependem das concentrações utilizadas e da compatibilidade entre os componentes (Zoghi *et al.*, 2021).

No desenvolvimento de biomembranas para o tratamento de feridas, a combinação de componentes poliméricos permite ajustar propriedades como grau de intumescimento, permeabilidade ao vapor de água, resistência à tração e biodegradação, características importantes para a manutenção de condições favoráveis ao reparo tecidual. Zoghi *et al.* (2021) desenvolveram filmes à base de quitosana, PEG e glicerina contendo minociclina, demonstrando que as proporções dos componentes influenciaram as propriedades mecânicas, a absorção de água, a permeabilidade e a degradação das formulações. Esses resultados evidenciam a importância da composição polimérica no desenvolvimento de sistemas destinados à cobertura de feridas.

3.5.4 Hidrogéis

Os hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais, formadas por polímeros naturais ou sintéticos, capazes de absorver e reter grandes quantidades de água sem perder sua integridade estrutural. Devido à biocompatibilidade e à capacidade de manter um ambiente úmido, são amplamente investigados como curativos e sistemas de liberação de compostos bioativos, favorecendo o processo de cicatrização (Hoffman *et al.*, 2012)

Diversas formulações de hidrogéis tem sido desenvolvidas nos últimos anos para o tratamento de feridas, compostos por polímeros poliamida e água, são capazes de absorver e

reter fluidos de forma rápida, podendo ser incorporados ativos a sua formulação, dessa forma atuando como sistemas de liberação de fármacos (Liu *et al.*, 2018).

O Vigilon® é uma lâmina de hidrogel, composta por óxido de polietileno reticulado 4% e 96% de água. Formando uma rede suportada pelo polietileno de baixa densidade, confere resistência ao curativo. Este gel tem capacidade de absorver seu peso em exsudato da ferida, sendo permeável ao vapor d'água e ao oxigênio. A lâmina de polietileno forma uma barreira impermeável à água e às bactérias. Uma vez posicionado, proporciona um ambiente úmido na superfície da ferida, propício à cicatrização, com baixa aderência no tecido subjacente durante sua remoção (Yang *et al.*, 2024).

O hidrogel de polietilenoglicol (PEG) é outra opção disponível para a realização de curativos. Este material mantém o ambiente úmido na ferida, promovendo o desbridamento autolítico e auxiliando na cicatrização. Suas principais indicações são para tratamento de feridas secas ou com pouca exsudação, como úlceras de pressão, úlceras venosas, queimaduras de primeiro e segundo graus, e feridas cirúrgicas (Mandy *et al.*, 2003).

O Curatec® é um hidrogel constituído por PEG e alginato de cálcio, que promove um ambiente úmido ideal para a cicatrização através da hidratação da ferida, conduzindo ao desbridamento autolítico e facilitando o desbridamento mecânico. É um curativo primário, absorvente, não estéril (Liu *et al.*, 2021).

O hidrogel composto por PEG e alginato de cálcio é indicado para o tratamento de feridas de média exsudação, com presença de tecido necrótico. Este material estimula a granulação e epitelização através de troca iônica com o sódio do sangue e a secreção da ferida, garantindo um alto poder de absorção que facilita o desbridamento autolítico e hemostasia

Dentre as indicações do uso do hidrogel constituído por PEG estão o tratamento de feridas de diversas etiologias, infectadas ou não, como úlceras venosas, arteriais e por pressão, queimaduras de segundo grau, abrasões e lacerações (Zhang *et al.*, 2025).

Diversos materiais termossensíveis têm sido utilizados na fabricação de hidrogéis, como os poloxâmeros, que são copolímeros constituídos por um bloco hidrofóbico de óxido de polipropileno (PPO) entre duas cadeias hidrofílicas de óxido de polietileno (PEO), sendo materiais versáteis utilizados no desenvolvimento de diferentes tipos dessas formulações (Fakhari *et al.*, 2017).

O poloxâmero 407 (P407) tem sido amplamente estudado como um biomaterial para a formulação de hidrogéis termossensíveis, graças à sua capacidade de solubilização, baixa toxicidade, características de liberação de fármacos e compatibilidade com inúmeras biomoléculas e excipientes (Giuliano *et al.*, 2018).

O P407 (Pluronic® F-127, Synperonic® PE/F127), é um surfactante anfifílico não iônico da família dos copolímeros, é um excipiente aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA para aplicações farmacêuticas. Possui peso molecular de aproximadamente 12,6 kDa e é um dos mais utilizados polímeros devido à sua baixíssima toxicidade e propriedades imunogênicas (Chen *et al.*, 2021).

3.6 OUTROS POLÍMEROS UTILIZADOS COMO CURATIVOS

Diferentes polímeros naturais e sintéticos têm sido usados como curativos, com o objetivo de auxiliar na reparação de lesões e prover um ambiente adequado para a cicatrização. Durante o processo cicatricial, o curativo protege a lesão, contribui para a recuperação do tecido e controle da inflamação, para que o processo transcorra de maneira harmônica (Pauci *et al.*, 2023).

Devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e similaridade com macromoléculas do corpo humano, polímeros naturais, como polissacarídeos, proteoglicanos e proteínas são amplamente utilizados no tratamento de feridas e queimaduras (Wu *et al.*, 2018).

Eles podem mimetizar estruturas naturais do corpo, otimizar a resposta inflamatória, auxiliar na proliferação celular e remodelação tecidual, além de criar um ambiente favorável à cicatrização (Xu *et al.*, 2024).

Também, os polímeros sintéticos são amplamente utilizados na produção de curativos, devido às suas propriedades físico-químicas e compatibilidade, com a vantagem da possibilidade de adicionar compostos bioativos a sua formulação, aumentando a eficácia do processo através da mediação, controle ou estímulo de vias importantes do processo de cicatrização (Yu *et al.*, 2013).

Os curativos para feridas foram significativamente modernizados nas últimas décadas, com o uso de polímeros sintéticos, que podem ser classificados como passivos ou interativos (Xu *et al.*, 2019).

Os curativos passivos, ou não oclusivos, são constituídos por uma película polimérica, para revestir a ferida e auxiliar no restabelecimento da função normal desse tecido. Os curativos interativos ou oclusivos, cobrem a ferida com a função específica de criar uma barreira contra bactérias e vírus, atuando como uma espécie de interface entre a ferida e o ambiente externo (Gobi *et al.*, 2021).

Os materiais poliméricos, que são clinicamente utilizados como curativos sintéticos para o tratamento de feridas, podem servir como sistemas para a liberação de fármacos,

incorporados a sua formulação, promovendo alterações em nível celular e molecular, auxiliando e estimulando os eventos que mediam o processo cicatricial (Dhivya *et al.*, 2015).

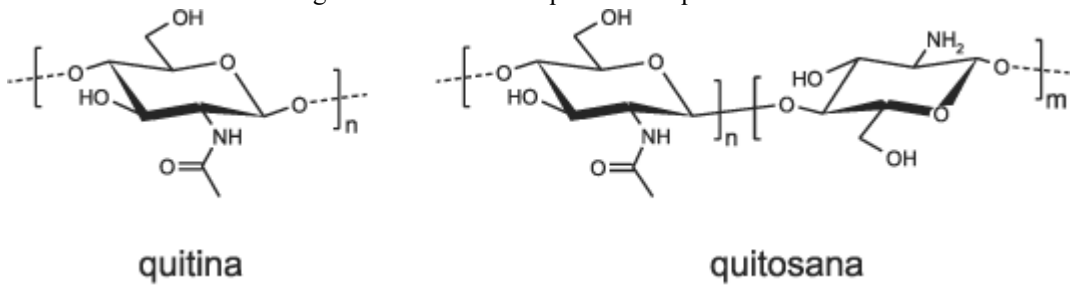
Os polímeros sintéticos, à base de ácido poliglicólico, ácido polilático, ácido poliacrílico, polivinilpirrolidona, álcool polivinílico e polietilenoglicol, exibem propriedades de cicatrização de feridas *in vivo* e in vitro e aumentam a reepitelização (Kamoun *et al.*, 2017).

3.6.1 Polímeros naturais

3.6.2 Quitosana

A quitosana é um polissacarídeo natural catiônico obtido principalmente pela desacetilação da quitina (Fig. 1), encontrada no exoesqueleto de crustáceos e na parede celular de fungos. Suas propriedades, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e possibilidade de modificação química, favorecem sua utilização na produção de biomateriais (Aranaz *et al.*, 2021).

Figura 2 – Estrutura da quitina e da quitosana.



Fonte: O autor

Na cicatrização de feridas, a quitosana apresenta propriedades hemostáticas, antimicrobianas e bioadesivas, além de contribuir para a formação de um ambiente favorável ao reparo tecidual. Essas características justificam seu amplo emprego no desenvolvimento de curativos (Ji *et al.*, 2024).

A quitosana pode ser utilizada na produção de membranas, filmes, hidrogéis, esponjas e fibras destinadas ao tratamento de feridas. As características desses materiais dependem de fatores como peso molecular, grau de desacetilação, concentração do polímero e composição da formulação (Su *et al.*, 2025).

Outra vantagem é sua capacidade de associação com diferentes polímeros e compostos bioativos, incluindo fármacos, proteínas e peptídeos. Essa versatilidade permite desenvolver

curativos com propriedades físico-químicas e biológicas ajustadas às necessidades do processo de cicatrização (Shah *et al.*, 2025).

Entretanto, limitações como baixa solubilidade em pH próximo ao fisiológico e propriedades mecânicas variáveis podem exigir modificações ou associação com outros componentes. Nesse contexto, a quitosana constitui uma matriz promissora para incorporação de peptídeos bioativos e desenvolvimento de biomateriais destinados à regeneração tecidual (Zhang *et al.*, 2024).

3.6.3 Ácido algínico e alginato de sódio

O ácido algínico, também conhecido como alginato, é um polissacarídeo natural obtido de algas marinhas, como as espécies *Ascophyllum sp.* e *Phaeophyta sp*. Sua coloração varia do branco ao marrom-amarelado. É comercializado nas formas granular, em pó e filamentosa (Vondermuhll *et al.*, 2020).

O composto derivado do ácido algínico mais amplamente usado é o alginato de sódio. Em muitas aplicações, o alginato de sódio solúvel torna-se insolúvel por meio da adição de cátions divalentes, geralmente cálcio, resultando em géis ou filmes (Aljabali *et al.*, 2020).

O alginato pode absorver fluidos, aproximadamente vinte vezes mais do que a quantidade de seu volume seco. Durante a absorção, o gel hidrofílico produzido proporciona uma condição de cicatrização úmida, pois os curativos de alginato são altamente porosos (Sahebi *et al.*, 2023).

Utilizando o alginato como base, foram produzidos outros materiais, que também são utilizados com aplicações médicas devido às suas propriedades de cicatrização como o alginato de prata, alginato de zinco e membranas compostas de alginato de sódio-quitosana (Majeed *et al.*, 2024).

3.6.4 Amido

O amido é um polissacarídeo, formado por polimeros de glicose, cuja função é fornecer reserva energética para os vegetais, presente em grande quantidade na mandioca, milho, trigo, batata e arroz. É o polímero mais comum, abundante e econômico extraído de fontes vegetais.

Contém cerca de 30% de amilose, 70% de amilopectina e um glucano linear (Wang *et al.*, 2021).

Diversos polímeros a base de amido têm sido estudados para aplicações na cicatrização de feridas, suas inúmeras propriedades o torma um polímero promissor e amplamente utilizado, possui diversas características favoráveis como biocompatibilidade, disponibilidade e baixo custo (Reddy *et al.*, 2020).

No entanto, as principais desvantagens dos produtos à base de amido são a fragilidade e processabilidade limitada. As propriedades funcionais do amido podem ser melhoradas pela mistura de outras substâncias polímericas como policaprolactona, álcool polivinílico e quitosana (Rongthong *et al.*, 2021).

Amidos modificados têm sido estudados e apresentaram resultados positivos, sendo utilizados na preparação de curativos para feridas. Dentre estes destacam-se o hidroxietilamido, amido oxidado e iodo cadexômero (Krakowski *et al.*, 2019).

3.6.5 Dextrana

A dextrana é um polissacarídeo complexo e ramificado, composto por unidades de glicose produzido por bactérias, principalmente do gênero *Leuconostoc mesenteroides*, a partir da sacarose. É solúvel em água e utilizada para diversas aplicações médicas, devido às suas propriedades biocompatíveis e biodegradáveis (Shahin *et al.*, 2020).

Composta por monômeros de d-glicose com ligações α-(1-6) a dextrana pode ser produzida em massa por microrganismos que utilizam sacarose. Nesse processo, as bactérias secretam dextrana suxrases, que se ligam por meio de diferentes tipos de ligações e produzem diversas estruturas ramificadas (Qiu *et al.*, 2021).

A dextrana já é utilizada há muitos anos pela indústria farmacêutica para administração de fármacos e como expansor de plasma sanguíneo, sendo licenciada pela FDA (Food and Drug Administration) dos EUA, para diferentes aplicações biomédicas, sendo considerada um material seguro para uso médico e alimentar (Hu *et al.*, 2022).

Estudos utilizando hidrogéis ou conjugados de dextrana, demonstram propriedades favoráveis destes compostos, como vantagens do uso do gel à base de dextrana pode ser destacado a ausência de efeitos colaterais tóxicos, constituindo uma boa base material para a preparação de sistemas de liberação de fármacos (Sun *et al.*, 2011).

Ademais em ensaios padronizados géis à base de dextrana, que melhoraram a remodelação da matriz extracelular, com intensificação da reepitelização e rápida retração de feridas em pacientes com queimaduras graves, além de promover a neovascularização e a regeneração epidérmica (Xiu *et al.*, 2020).

3.6.6 Ácido hialurônico

O ácido hialurônico (AH) é um polissacarídeo que pertence à família dos glicosaminoglicanos e consiste em uma unidade básica de dois açúcares, o ácido glucurônico e a N-acetil-glicosamina. O AH geralmente está presente no líquido sinovial que envolve articulações, cartilagens e tecidos dos olhos e da pele dos mamíferos (Neuman *et al.*, 2015).

O peso molecular do AH varia de 5 a 3000 kDa, possui características físico-químicas, como biocompatibilidade e biodegradabilidade, comportamento não inflamatório, não tóxico e não imunogênico, com diversas possíveis aplicações como biomaterial (Hossain *et al.*, 2021).

Estudos demonstram que o ácido hialurônico apresenta efeitos biológicos benéficos interagindo de forma positiva na expressão e secreção de substâncias, como fatores de crescimento e proteínas, que facilitam e promovem o processo de cicatrização e reparo tecidual de diferentes tipos de feridas (Jacobi *et al.*, 2020).

O AH apresentou também propriedades antinflamatórias, sendo testado em pacientes com queimaduras, demonstrou inibição da expressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), com modulação local da inflamação, controle da dor e rápida reepitelização tecidual (Dhooghe *et al.*, 2013).

Membranas a base de hidrogel de AH demonstraram eficácia no tratamento de feridas utilizando um modelo murino de espessura total, acelerando significativamente o fechamento da ferida por meio da reepitelização e contração da ferida, maior qualidade do tecido regenerado, além de estímulo a neovascularização e maior número de queratinócitos na epiderme (Murphy *et al.*, 2017).

Também, estudos recentes demonstraram que a liberação controlada de vários fármacos, pode ser realizada através da incorporação destes em matrizes à base de ácido hialurônico, sendo este biomaterial adequado para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos para tratamento de tecidos moles (Liu *et al.*, 2022).

3.7 POLÍMEROS SINTÉTICOS

3.7.1 Álcool polivinílico

O Álcool polivinílico (PVA) é um polímero com características desejáveis na produção de curativos e formulações farmacêuticas, destacando-se sua biocompatibilidade,

biodegradabilidade, estabilidade, absorção de umidade e intumescência, ideal para aplicações de cicatrização de feridas (Saraiva *et al.*, 2023).

O PVA foi preparado pela primeira vez pela hidrólise de acetato de polivinila em etanol com hidróxido de potássio em 1924. É produzido comercialmente a partir de acetato de polivinila, geralmente por um processo contínuo. Os grupos acetato são hidrolisados por troca de éster com metanol na presença de metilato de sódio anidro ou hidróxido de sódio aquoso (Nagarkar, Jatin, 2019).

Hidrogéis à base de PVA têm potencial uso no tratamento de queimaduras, devido à sua resistência mecânica e capacidade de retenção de fluidos, mantendo o ferimento hidratado, com umidade adequada para a cicatrização, menos trocas de curativo e estabilidade estrutural (Gao *et al.*, 2019).

Os hidrogéis de PVA foram estudados e demonstraram diversas aplicações biomédicas, incluindo a produção de lentes de contato gelatinosas, implantes de cartilagem, sistemas de liberação de medicamentos, coberturas temporárias de pele, curativos para queimaduras, devido as suas propriedades físicas favoráveis, como elasticidade e grande poder de absorção de líquidos (Gherman *et al.*, 2023).

3.7.2 Policaprolactona

A policaprolactona (PCL) é um polímero biocompatível e biodegradável, com excelentes propriedades mecânicas, cuja eficácia em aplicações dermatológicas tem sido amplamente demonstrada (Rodriguez *et al.*, 2021).

A PCL é um polímero sintético termoplástico a base de petróleo, derivado da εcaprolactona, apresenta uma fase amorfa à temperatura ambiente e um ponto de fusão tipicamente entre 55 e 70 °C. A síntese de PCL envolve um mecanismo de abertura de anel facilitado por um catalisador (Hernandez *et al.*, 2023).

A PCL é o polímero mais comumente utilizado em sistemas de administração de fármacos por via subcutânea devido à sua não toxicidade, não imunogenicidade, liberação controlada, métodos de preparação simples e alta estabilidade física (Castro *et al.*, 2024).

Dentre as propriedades que tornam o PCL um material favorável, destacam-se a elasticidade, tenacidade, podendo ser facilmente misturado com outros polímeros, como amido e ácido polilático para melhorar a durabilidade e produzir materiais biodegradáveis (Leandro *et al.*, 2024).

Membranas eletrofiadas de PCL com adição de nanopartículas de zinco foram avaliadas e apresentaram características físicas e morfológicas adequadas, além de atividade antimicrobiana contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, demonstrando potencial para utilização como curativo de feridas infeccionadas, com absorção de exsudatos e necessidade de menos trocas de curativos (Silveira *et al.*, 2024).

Nanofibras de PCL e QT foram testadas em ratos, demonstrando potencial aplicação para tratamento de queimaduras, com maior produção de fibroblastos, neovascularização e reepitelização do ferimento no grupo tratado com este material, ademais houve menor presença de reação inflamatória e menor tempo de cicatrização (Hashemi *et al.*, 2021).

3.7.3 Poli (N-vinilpirrolidona)

A poli (N-vinilpirrolidona) (PVP) é um polímero sintético solúvel em água biocompatível e biodegradável, possui excelente transmissão de vapor d'água, baixa toxicidade, tem sido utilizada convencionalmente para substitutos de pele como membranas e hidrogéis (Franco *et al.*, 2020).

A PVP tem diversas aplicações biomédicas devido às suas propriedades, incluindo solubilidade em água, não toxicidade, inércia química, resistência à temperatura, estabilidade de pH e natureza não iônica (Kurakula *et al.*, 2020).

Foram avaliadas, a atividade antimicrobiana de membranas a base de PVP com a adição de nanopartículas de prata, contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *S. epidermidis*), Gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*) e o fungo (*C. albicans*) usando o método de Kirby-Bauer. As zonas de inibição observadas demonstraram redução do crescimento bacteriano e fúngico, com potencial aplicabilidade deste produto no tratamento de feridas infectadas (Pádua *et al.*, 2024).

Neoheal® produzidos pelo fabricante Kikgel é um curativo de hidrogel primário composto por PVP, indicado para úlceras de pressão, queimaduras leves e queimaduras solares. Este é um hidrogel reticulado com resistência mecânica adequada, sendo sua principal característica a capacidade de absorver água para o ambiente da ferida. Também induz a granulação e a epidermização, promovendo a cicatrização de feridas e aumentando o desbridamento autolítico (Aswathy *et al.*, 2020).

O Nu-Gel® é um hidrogel composto por PVP e alginato, fornece um ambiente de cicatrização da ferida úmido, promovendo o desbridamento autolítico natural, fornecendo assim umidade ao leito da ferida, enquanto o componente de alginato potência a capacidade de

absorção de exsudatos. O gel pode ser utilizado para suavizar e hidratar escaras, úlceras e queimaduras facilitando a reidratação da ferida (Braumann *et al.*, 2011).

3.7.4 Poli (lactídeo-co-glicolídeo)

O poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) é um poliéster biodegradável de grande interesse na área biomédica. É possível ajustar os parâmetros de degradação e as propriedades mecânicas deste poliéster biodegradável associando unidades lácticas e glicólicas no mesmo copolímero (Machado *et al.*, 2013).

As propriedades mecânicas dos copolímeros de PLGA podem ser melhoradas com o aumento do teor de ácido glicólico. Assim o equilíbrio entre a cinética de degradação e as propriedades mecânicas podem ser ajustadas e alcançadas para cada aplicação específica. Ademais os copolímeros de PLGA degradam-se muito mais rapidamente do que os homopolímeros correspondentes (Baghirova *et al.*, 2023).

Portanto dentre as vantagens do uso de PGLA destacam-se o controle e ajuste de suas propriedades físicas e químicas, o que faz com que este seja amplamente utilizado na preparação de substitutos cutâneos (Soscia *et al.,* 2010).

Um estudo utilizando PLGA combinado com cúrcuma (CC), avaliou o efeito deste sobre a cicatrização tópica de feridas. Demonstrando que o complexo PLGA-CC, foi capaz de controlar e manter a liberação de CC, acelerando significativamente o fechamento da ferida por meio de uma cicatrização completa, que incluiu a regulação negativa das respostas inflamatórias, a aceleração da reepitelização e a melhora da formação de tecido de granulação (Chereddy *et al.,* 2013).

Também, em um estudo utilizando a associação de PGLA com o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) em pacientes com úlceras diabéticas, houve o estímulo da cicatrização, formação significativa de tecido de granulação com maior conteúdo de colágeno, reepitelização e angiogênese. A nível celular e molecular o PLGA-VEGF aumentou a proliferação e a migração de queratinócitos e a expressão do VEGF2 através do estímulo da expressão de RNA mensageiro. Demonstrando os efeitos positivos deste composto na cicatrização ativa de feridas diabéticas (Chereddy *et al.*, 2016).

3.8 ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO TÓPICO DE FERIDAS

Diversos agentes antimicrobianos têm sido aplicados topicamente para tratar feridas infectadas, a terapia tópica oferece muitas vantagens potenciais, mas também apresenta desvantagens. As opiniões divergem sobre quais sinais clínicos definem infecção de ferida e sobre a utilidade de estudos microbiológicos para selecionar o uso. Há controvérsia sobre como tratar feridas com cicatrização complexas, estas podem se beneficiar de agentes antimicrobianos tópicos (Lipsky *et al.*, 2009).

3.8.1 Mupirocina

A mupirocina Bactroban® (ácido pseudomônico A) é um metabólito secundário produzido pela bactéria gram-negativa *Pseudomonas fluorescens*, é usada como antibiótico tópico, atuando ligando-se à isoleucil-tRNA sintetase bacteriana, inibindo assim a síntese proteica (Sritharadol *et al.,* 2017).

É usada no tratamento de queimaduras, úlceras e infecções secundárias de pele causadas por patógenos como estreptococos e estafilococos, incluindo cepas resistentes à meticilina. É frequentemente utilizado no tratamento de *S. aureus resistente* à meticilina (MRSA), que causa em grande parte infecções cutâneas, sendo o patógeno mais comum envolvido em infecções de feridas (Smith *et al.*, 2020).

No entanto, há evidências crescentes de estafilococos resistentes à mupirocina devido em grande parte, ao seu uso descontrolado no tratamento de infecções. Isso levou ao desenvolvimento de níveis baixos e altos de resistência em *S. aureus*, sendo o nível baixo os valores de concentração inibitória mínima (CIM) variam entre 8 e 256 μg/ml, enquanto a resistência de alto nível é categorizada como valores de CIM >512 μg/ml (Twilley *et al.*, 2022).

3.8.2 Neosporina

Neosporin® é uma pomada antibiótica de amplo espectro composta por três antibióticos diferentes: bacitracina zinco (400 UI), sulfato de neomicina (3,5 mg) e sulfato de polimixina B (5.000 UI) em uma base de vaselina, sendo amplamente utilizada para o tratamento de feridas cutâneas, queimaduras, ulcerações e escoriações de pele (Diehr *et al.*, 2007).

Em estudo utilizando Neosporin® houve fechamento significativo de feridas induzidas em ratos albinos tratados com a pomada, com maior capacidade de contração e menor tempo de epitelização em comparação ao grupo controle (Ngonda *et al.*, 2014).

Um multicêntrico duplo-cego comparou a eficácia e a segurança da pomada Neosporin® contra a pomada cicatrizante Aquaphor® no tratamento de feridas infectadas de pele, demonstrando menores taxas de eritema e edema, maior confluência epitelial, com menos formação de crostas em favor do grupo tratado com a Neosporin® (Draelos *et al.*, 2011).

Entretanto como a Neosporin® é um dos antibióticos mais amplamente utilizados a décadas, há uma crescente preocupação com o desenvolvimento de resistência microbiana a esse medicamento, como ocorreu com vários outros antibióticos utilizados em larga escala (Pereira *et al.*, 2020).

3.8.3 Bacitracina

Bacitracina é um fármaco polipeptídico com ação antibiótica, formado pela combinação de polipeptídeos cíclicos produzidos por organismos do grupo de *Bacillus licheniformis,* seu mecanismo de ação consiste no bloqueio da regeneração fosfolipídio bacteriano, através da inibição da enzima D-fosforilase, impedindo a formação da parede bacteriana, portanto com ação bactericida (Beckman *et al.*, 2015).

A bacitracina (Nebacetin®, Cicatrene® e Epicitrin®) é utilizada apenas de forma tópica por possuir baixa biodisponibilidade oral, já que possui estrutura peptídica facilmente degradado no trato gastrointestinal, provou ser uma boa alternativa à sulfadiazina de prata (Silvadene®) no tratamento de pacientes com queimaduras e alergia a sulfas (Hong *et al.*, 2017).

Estudos apontam que a adição de bacitracina de zinco 5% a 8% a formulação, juntamente a um carreador hidrofílico ou hidrofóbico, promoveu a cicatrização regenerativa do ferimento, quando aplicado topicamente em queimaduras, através do controle da atividade antimicrobiana do ferimento, com evolução de forma mais rápida da cicatrização (Thema *et al.*, 2019).

A bacitracina é conhecida por sua atividade contra bactérias Gram-positivas, sendo amplamente utilizada na medicina humana e veterinária, o Crema 6A® é uma pomada veterinária, indicada no tratamento tópico de dermatites e eczemas de origem conhecida ou idiopática. Sua formulação apresenta a combinação de bacitracina e neomicina (Strey *et al.*, 2025).

3.8.4 Nistatina

A nistatina é produzida por um processo de fermentação utilizando o fungo *Streptomyces noursei.* Este microrganismo é cultivado em condições específicas, e a nistatina é posteriormente extraída e purificada (Greenhalgh *et al.*, 2009).

Assim, a nistatina é um medicamento antifúngico, disponível em diversas formas farmacêuticas e nomes comerciais, quando combinada com óxido de zinco, é usada em casos de queimaduras (Dermodex®), agindo como antifúngico, enquanto o óxido de zinco auxilia na cicatrização e proteção da pele, formando uma barreira contra a umidade e irritantes (Abasi *et al.*, 2021).

O mecanismo de ação da nistatina se dá através de ligação aos esteroides existentes na membrana celular dos fungos susceptíveis, com resultante alteração na permeabilidade da membrana celular e consequente extravasamento do conteúdo citoplasmático (Macesic *et al.*, 2017).

Estudos em animais sugerem que a nistatina é o agente mais eficaz no tratamento de feridas de queimadura contaminadas por *Candida albicans*, sendo primeira escolha de tratamento da infecção fúngica neste tipo de lesão, pode ser associada a agentes antibióticos, apresentando também efeito antibacteriano e a vantagem particular de limitar a frequência de substituição do curativo (Acar *et al.*, 2011).

A nistatina usada em combinação com agentes antibacterianos tópicos, possui propriedades contra um amplo espectro de bactérias e fungos patogênicos, que causam infecção e colonização de feridas por queimaduras, levando a complicações como infecções secundárias e sepse (Choi *et al.*, 2019).

3.8.5 Nitrofurazona

A nitrofurazona (Furacin®) é um agente antimicrobiano tópico, eficaz contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, pertence a família dos furanos, cujo mecanismo de ação é a inativação de proteínas ribossomais de microrganismos bacterianos, com consequente inibição da síntese de proteínas, DNA, RNA e da parede celular, bloqueando o metabolismo aeróbico das células bacterianas (Garrido-Castells *et al.*, 2019).

Pode ser utilizada como adjuvante no processo de cicatrização de feridas cutâneas e tratamento queimaduras, além da atividade antimicrobiana, interfere positivamente na

formação do tecido de granulação, deposição de colágeno e reepitelização de feridas (Karapolat *et al.*, 2020).

Estudos demonstraram aumento expressivo na quantidade de deposição de colágeno tipos I e III em feridas do grupo nitrofurazona, atingindo níveis próximos aos da pele sadia em 14 dias de tratamento, em relação aos comparadores, demonstrando ser indutor do recrutamento de fibroblastos e formação de fibras colágenas e aceleração do processo cicatricial (Martini, *et al.*, 2016).

Membranas eletrofiadas carregadas com nitrofurazona foram desenvolvidas para aplicação em queimaduras, e sua capacidade antibiótica foi testada contra cepas bacterianas, demonstrando diferença significativa na inibição do crescimento bacteriano e parâmetros de epitelização e escores inflamatórios, promovendo a epitelização e fechamento de feridas de forma eficaz (Varaei *et al.*, 2020).

Entretanto, há relatos de pacientes que receberam a aplicação tópica com nitrofurazona, que o tratamento também pode causar alguns efeitos colaterais que foram descritos, incluindo sensibilidade, edema e dor no local da aplicação (Souza *et al.*, 2021).

3.9 ESTUDOS UTILIZANDO OS PEPTÍDEOS DA PELE DA TILÁPIA DO NILO (PPTN)

A relativa ineficácia dos produtos tópicos disponíveis para o tratamento de feridas complexas, bem como, os altos custos dos curativos feitos de materiais sintéticos ou biossintéticos, têm levado ao aumento na pesquisa de substitutos biológicos, derivados de matrizes naturais, que proporcionem menor custo e melhora do processo cicatricial, como alternativa para o tratamento destas lesões (Bolgiani *et al.*, 2020).

Nesse contexto, os peptídeos extraídos da pele de Tilápia do Nilo (PPTN) demonstraram em diversos estudos aceleração do processo de cicatrização, controle de infecções secundárias e melhora da qualidade do tecido neoformado, fornecendo condições adequadas para a formação de uma matriz epidérmica de boa qualidade (Liu *et al.*, 2017).

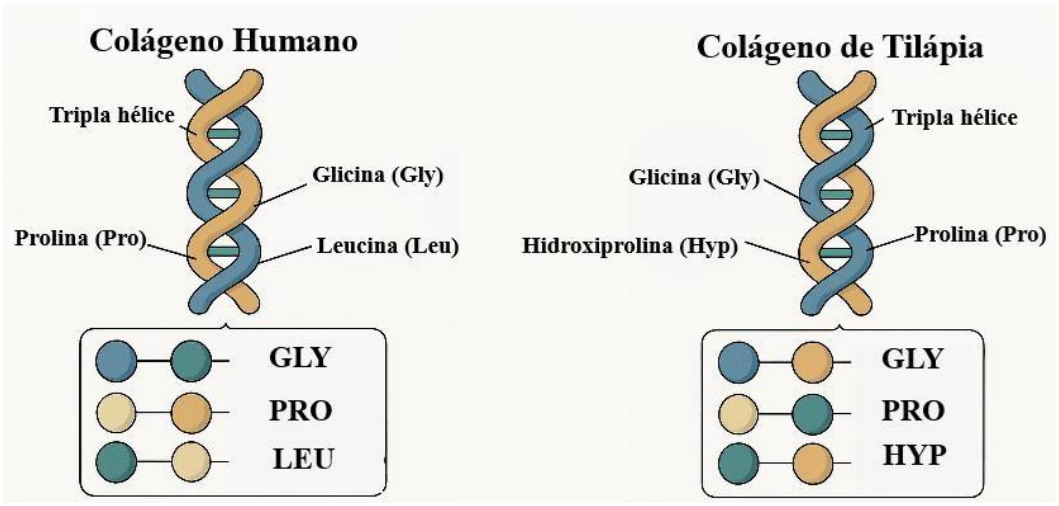
A pele de tilápia é um subproduto da cadeia produtiva dessa espécie aquática, que tem se mostrado cada vez mais promissora na indústria farmacêutica. As principais vantagens do seu uso são o baixo custo e o risco reduzido de transmissão de doenças, além da alta biocompatibilidade e da estrutura morfológica semelhante à da pele humana (Fig. 2) (Tang *et al.*, 2015).

As propriedades cicatrizantes da tilápia, são atribuídas aos efeitos dos PPTN presentes na gelatina de colágeno de sua estrutura, compostos por aminoácidos hidrofóbicos, como

glicina, valina, alanina, prolina e hidroxiprolina, que formam uma variedade de peptídeos de colágeno (PC) com potentes atividades biológicas (Kim *et al.*, 2007).

Estudos indicam que o uso dos PPTN acelera o processo de cicatrização por meio da interação com mecanismos moleculares, como a modulação da produção do fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α), e citocinas pró-inflamatórias como as Interleucina-1, 6 e 8 e regulação de fatores de crescimento, como o de fibroblastos-beta (FGF-β) e endotelial vascular (VEGF) (Mei *et al.*, 2020).

Figura 3 – Estrutura do colágeno humano e da pele de tilápia do Nilo.



Fonte: O autor

Além disso, demonstraram atividade antimicrobiana, afetando diretamente o metabolismo de microrganismos patogênicos, apresentando efeitos regulatórios no sistema imunológico inato, além de modulação positiva no processo de cicatrização e atividade antioxidante (Huang *et al.*, 2015).

Em estudo prévio realizado pelo mesmo grupo de pesquisa, o hidrolisado proteico da pele de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi obtido por processo padronizado de hidrólise enzimática com Alcalase e caracterizado por espectrometria de massas. Foram identificados 20 dipeptídeos e tri peptídeos, e a caracterização química demonstrou 95,6% de proteína bruta, 15,3% de nitrogênio total e grau de hidrólise de 4,89% (Tozetto *et al.*, 2023).

Entre as sequências identificadas destacaram-se CT, GF, D(I/L), T(I/L), (I/L)D, IH, FC, SY, SGY, GSY, CF, EV, MP, VE, (I/L)(I/L), FP, A(I/L) e S(I/L). A análise realizada com auxílio do banco BIOPEP indicou atividades potenciais relacionadas principalmente à inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA), DPP-IV e α-glicosidase, além de atividade

antioxidante para determinadas sequências, com destaque para Phe-Cys (FC) (Tozetto *et al.*, 2023; Je *et al.*, 2015).

A composição desses peptídeos pode contribuir para as propriedades biológicas do hidrolisado. O dipeptídeo Phe-Cys apresenta atividade antioxidante experimentalmente demonstrada, enquanto Gly-Phe (GF) também foi identificado em hidrolisados de gelatina de peixe com atividades antioxidante e inibitória de ECA e DPP-IV. Essas propriedades são relevantes, uma vez que o controle do estresse oxidativo pode favorecer condições adequadas ao processo de reparação tecidual (Je *et al.*, 2015; Neves *et al.*, 2017).

No estudo anterior, o hidrolisado da pele de tilápia apresentou atividades antioxidante e antimicrobiana, além de estimular a migração celular, indicando que sua atividade biológica pode resultar da ação conjunta das diferentes sequências peptídicas presentes na matriz (Tozetto *et al.*, 2023).

Dessa forma, a composição peptídica identificada fornece uma base para relacionar o hidrolisado aos efeitos posteriormente observados sobre o reparo tecidual. Estudos experimentais com colágeno derivado de peixes demonstram efeitos favoráveis sobre cicatrização, reepitelização e deposição de colágeno; entretanto, a associação entre sequências peptídicas específicas e esses efeitos deve ser interpretada com cautela, pois ainda são necessários estudos mecanísticos para estabelecer relações causais (De Souza *et al.*, 2022).

Estudos correlacionaram aos efeitos dos PPTN, a redução da colonização do microbioma da ferida, através de atividade antimicrobiana, diminuição da expressão de fatores pró-inflamatórios e regulação da conversão de macrófagos para o fenótipo M2, reduzindo a resposta inflamatória (Synder *et al.*, 2016).

Infecções bacterianas estão associadas a muitos casos de falha terapêutica, retardo na cicatrização e complicações; assim, a atividade antibacteriana de curativos para feridas tem recebido crescente atenção em aplicações clínicas (Bolgiani *et al.*, 2020).

Tratamentos com PPTN exibiram atividade antibacteriana *in vitro* e *in vivo*, promovendo o controle de infecções por meio da inibição da proliferação de microrganismos patogênicos, como *E. coli* e *S. aureus* multirresistente, ademais a incorporação de quitosana ao hidrogel de tilápia, aumentou o efeito antibacteriano do composto, produzindo resultados significativos (Ouyang *et al.*, 2018).

Estudos comparativos apontam maior retração cicatricial, reepitelização e melhor organização da matriz celular em feridas tratadas com PPTN, em comparação com terapias convencionais, mesmo em lesões infectadas por cepas multirresistentes (Xiong *et al.*, 2020).

Foram observados em ensaios utilizando aplicação tópica de PPTN em modelo animal, retrações cicatriciais superiores com substancial fechamento das lesões em menores intervalos de tempo, em comparação as terapias convencionais. Através de estímulo da atividade quimiotática de mediadores do processo cicatricial promovida pelos PPTN, ocorre maior síntese de colágeno, com aceleração da cicatrização e reepitelização de feridas (Garrity *et al.* 2023; Sastri *et al.* 2022; Tozetto *et al.* 2023).

Ademais, estudos apontam que os PPTN, agem como mensageiros biológicos ativando através de estímulos químicos, os mecanismos moleculares e celulares para a proliferação e diferenciação de fibroblastos, desencadeando a síntese de fibras colágenas, reorganizando a matriz extracelular, com subsequente ativação da atividade constritora dos miofibroblastos, acelerando a contração da ferida (Hunt *et al.*, 2014).

Também, através de análise imuno-histoquímica, foi observado aumento na expressão do gene FGF-β nos tratamentos com peptídeos de tilápia. O FGF-β estimula os fibroblastos a produzirem alfa-actina (α-SMA) e causa a contração de miofibroblastos e aumento na produção de componentes da matriz extracelular, como colágeno e fibronectina, essenciais para contração da ferida e formação do tecido cicatricial (Campbell *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2017; Mei *et al.*, 2020).

Ainda, para que a cicatrização de feridas transcorra adequadamente, se faz necessária a modulação negativa da migração de células inflamatórias e interleucinas mediadoras do processo. O infiltrado tecidual inflamatório é composto principalmente por neutrófilos, que devem reduzir gradualmente por volta do sétimo dia após a lesão, para que a cicatrização evolua para a fase proliferativa (Landén *et al.*, 2016).

Nesse contexto, ensaios apontam que o uso tópico dos PPTN proporciona modulação negativa da quimiotaxia de células inflamatórias e estímulo da neovascularização, cruciais para o progresso da cicatrização. Ademais, para que a ferida evolua da fase inflamatória para a proliferativa, há necessidade da redução de células e mediadores pró inflamatórios e estímulo da formação de capilares sanguíneos (Pal *et al.*, 2016).

Através de análise histológica, ensaios demonstram que o uso tópico dos PPTN, proporcionaram redução do infiltrado inflamatório com diferença média em relação aos comparadores de -1,69 células inflamatórias / mm² (IC 95%) até o dia 7, ademais aumento significativo da angiogênese, com diferença média de + 13,77 % vasos / mm² no 14 ºdia e + 3,41 % vasos / mm² (IC 95%) para as avaliações no dia 21 (Tozetto *et al.*, 2023).

Estudos demonstram que a presença de células e mediadores pró inflamatórios em excesso no tecido cicatricial, leva ao atraso na evolução da cicatrização. Isso ficou evidente,

através dos altos níveis de proteases e outras moléculas pró inflamatórias como interleucinas e TNF-α, presentes nos tecidos de pacientes com feridas crônicas, sem a evolução adequada da cicatrização (Huang *et al.*, 2008).

Ainda, ensaios demonstraram que a aplicação tópica de PPTN, promoveu o recrutamento, através de quimiotaxia de macrófagos, estas células secretam fatores de crescimento, auxiliando na proliferação de fibroblastos e promoção da angiogênese, o que acelera o processo de cicatrização (Xue *et al.*, 2015).

Foram observados por análise histológica, em ensaios *in vivo* padronizados, que houve formação expressiva de vasos sanguíneos por área (mm²) no tecido neoformado de indivíduos de grupos que receberam tratamento com PPTN, em comparação aos controles, demonstrando as propriedades angiogênicas e de neovascularização destes peptídeos (Chung *et al.*, 2011; Elbialy *et al.*, 2020).

Durante o processo de cicatrização, a neoformação de vasos sanguíneos torna-se essencial para o reparo tecidual, sendo os novos vasos sanguíneos responsáveis por aproximadamente 60% do tecido total reparado (Mansilla *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2015).

Estudos demonstraram através de análise imunohistoquímica, que os PPTN desencadeiam a ativação de mecanismos de expressão gênica dos fatores de crescimento TGF-β, VEGF, CD31 e FGF, com aumento na secreção de angiogenina, angiotropina e angiopoietina, estimulando a expressiva formação de vasos sanguíneos no tecido neoformado. Esses mecanismos encontram-se descompensados em feridas complexas, prolongando assim o tempo de cicatrização nesses pacientes (Caliari- Oliveira *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2024).

A modulação positiva na secreção de TGF-β proporcionada pelos PPTN, altera o fenótipo dos macrófagos M1, que se polarizam para o fenótipo M2, aumentando a sinalização profibrótica. Os queratinócitos então migram sobre a estrutura de colágeno, iniciando-se a retração, deposição tecidual e a epitelização (Rangatchew *et al.*, 2020).

Também, resultados apontam estímulo da expressão gênica de VEGF proporcionado com o tratamento com PPTN. O VEGF é uma proteína responsável pela migração de células endoteliais, que estimula a formação de vasos sanguíneos durante a cicatrização. Esse processo fornece oxigênio e nutrientes, remove resíduos e controla as respostas imunológicas (Chen *et al.*, 2021; Mei *et al.*, 2020).

O FGF é uma proteína envolvida na angiogênese, proliferação celular e cicatrização, sendo crucial nas fases proliferativa e de granulação do processo de cicatrização. O CD31 é uma glicoproteína produzida por células epiteliais e está relacionada ao estímulo da neovascularização e a angiogênese. Os PPTN apresentaram modulação positiva para a

expressão dos genes responsáveis pela produção de ambas as proteínas FGF e CD31 em ensaios *in vivo* (Aller-Garrido *et al.*, 2014).

Também, o fator de crescimento TGF-β é um mediador que converte monócitos em macrófagos, liberando citocinas inflamatórias como IL-1 e IL-6. Através de modulação da expressão de mRNA e proteínas por células epiteliais do tecido conjuntivo, os PPTN estimulam positivamente a expressão de TGF-β (Medeiros *et al.*, 2024; Maranda *et al.*, 2017).

A IL-6 desempenha um papel central na inflamação aguda, induzindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias de macrófagos, queratinócitos, células endoteliais e células estromais residentes nos tecidos, além de recrutar leucócitos para o local da ferida por quimiotaxia (Wright *et al.*, 2014).

Portanto, a IL-6 é o principal indutor dos mediadores da fase inflamatória aguda e modulador das respostas de linfócitos T e B. Entretanto, para que a ferida faça a transição da fase inflamatória para a proliferativa, há necessidade de modulação da expressão da IL-6, que pode prolongar a fase inflamatória, levando a um atraso significativo no processo. Assim, a presença da interleucina na fase inflamatória e modulação negativa nas fases mais avançadas do processo cicatricial é um alvo terapêutico para doenças inflamatórias crônicas (Johnson *et al.*, 2020; Sherman *et al.*, 2009).

Através de análises imuno-histoquímicas, estudos demostraram modulação da expressão dos genes responsáveis pela secreção de IL-6 e TNF-α nos tratamentos tópicos com PPTN. O TNF-α é uma citocina pró-inflamatória que regula a atividade de macrófagos e serve como um marcador importante para avaliar respostas inflamatórias crônicas. Portanto a modulação da expressão de IL-6 e TNF-α, é crucial no controle da resposta inflamatória em feridas crônicas (Noga *et al.*, 2021; Crompton *et al.*, 2016).

Devido ao crescente interesse no uso de peptídeos de tilápia na cicatrização de feridas, a avaliação de sua citotoxicidade é crucial para determinar seu perfil de segurança, biocompatibilidade e potencial para aplicações biomédicas (Soman *et al.*, 2024).

Estudos utilizando culturas de células BHK-21, fibroblastos de camundongo L929, fibroblastos murinos T3T, células HaCaT, células RAW 264 e células HUVECs, em diferentes concentrações e tempos de exposição, demonstraram que os peptídeos de tilápia do Nilo, são biomateriais que apresentam alta biocompatibilidade e baixa toxicidade (Huang *et al.*, 2015; Ouyang *et al.*, 2018; Garrity *et al.* 2023; Sastri *et al.* 2022).

Ainda, através de ensaios *in vitro* de migração célular *(scratch assay)* ficou demonstrada a capacidade dos peptídeos de tilápia em promover a mobilização positiva de células, com potencial efeito sobre a cicatrização de feridas. No estudo da migração celular, o

movimento de células individuais, camadas ou grupos de células é medido ao longo de um intervalo de tempo predeterminado (Sherman *et al.*, 2009).

Um possível mecanismo para explicar os resultados positivos sobre a migração de células, pode envolver a influência de peptídeos no gradiente quimiotático, atuando como mensageiros biológicos por meio de interações eletrostáticas com mediadores e proporcionando um ambiente biológico favorável à migração (Sengupta *et al.*, 2021).

Também, pesquisadores têm se concentrado no desenvolvimento de novos sistemas de liberação controlada e segura de fármacos. Esses sistemas podem responder a estímulos externos ou internos, como alterações de pH, temperatura ou aumento de citocinas no microambiente da ferida. Os polímeros desempenham um papel crucial na construção desses sistemas devido às suas propriedades versáteis, que permitem o controle das características do material (Alavi *et al.*, 2021; Kolimi *et al.*, 2022).

Outros materiais orgânicos, como lipídios e materiais inorgânicos, incluindo metais e cerâmicas, também são utilizados no desenvolvimento de formulações macro, micro e nanoparticuladas. A integração de nanomateriais, como nanopartículas, nanofibras ou nanocompósitos, é uma estratégia promissora para melhorar os resultados dos pacientes na cicatrização de feridas (Nandhini *et al.*, 2024).

Portanto, investimentos no desenvolvimento de estudos e ensaios clínicos utilizando essa tecnologia, bem como na implementação e disseminação de técnicas que utilizem peptídeos de colágeno de tilápia, são necessários para promover a exploração adequada desse potencial ferramenta na medicina regenerativa (Johnson *et al.*, 2020).

Os resultados promissores obtidos com as diversas intervenções e estudos, justificam investimentos em novas pesquisas, para propor formulações de fármacos adjuvantes do processo cicatricial, em especial para o tratamento de feridas complexas, que contenham em sua formulação os PPTN, para diversas formas de aplicação tópica (Mukta *et al.*, 2024).

3.10 MEMBRANAS DE QUITOSANA COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE PPTN NO TRATAMENTO DE FERIDAS

A quitosana pode ser processada de diversas maneiras e aplicada na forma de pós, géis, filmes e membranas e incorporar em sua estrutura polimérica outros compostos, que possam também favorecer a cicatrização de feridas, como compostos bioativos de origem natural (Gál *et al.*, 2011).

Outras vantagens do uso de QT em feridas são: a permeabilidade ao oxigênio, capacidade de absorção de líquidos e analgesia conferidas por este material. Além disso, a alta biocompatibilidade do produto, faz com que não haja a necessidade da remoção deste da área lesionada. Na maioria dos ferimentos, especialmente em caso de queimaduras, o processo de remoção do curativo pode causar lesões, dor e desconforto ao paciente (Yi *et al.*, 2020).

Na engenharia tecidual, a QT é especialmente recomendada como um biomaterial multifuncional, devido às suas características estruturais semelhantes ao glicosaminoglicano humano (GAG) da matriz extracelular (MEC). Suas propriedades físico-químicas, permitem a produção de arcabouços para a liberação de fármacos em várias formas, com destaque para a produção de membranas (Tan *et al.*, 2009).

Membranas eletrofiadas com QT ácido hialurônico, apresentaram retração de feridas de 73,8 % no sétimo dia em ratos, com fibras uniformes e propriedades mecânicas superiores aos controles com 46,8 e 32,86% respectivamente de retração. A quitosana em especial associada ao ácido hialurônico mostrou-se mais promissora para a produção de membranas para a cicatrização de feridas cutâneas (Dal Ponte *et al.*, 2021).

Membranas de QT são capazes de apresentar excelente permeabilidade ao oxigênio, controlar a perda de água por evaporação e promover a drenagem de exsudato das lesões. Ainda, estudos apontam a influência positiva da QT em todos os estágios da cicatrização, com estímulo a coagulação, modulação da inflamação, síntese e deposição de matriz celular, angiogênese, fibroplasia, epitelização, contração e remodelagem (Mi *et al.*, 2001).

Estratégias terapêuticas inovadoras têm sido exploradas para otimizar o processo cicatricial, especialmente em casos de feridas complexas, como úlceras diabéticas, queimaduras e feridas crônicas. Nesse contexto, hidrogéis termossensíveis surgem como uma plataforma promissora, devido à sua capacidade de responder a variações na temperatura corporal e liberar bioativos de forma controlada (Song *et al.*, 2018).

A combinação de quitosana, um biopolímero natural com reconhecida bioatividade, com PPTN, que também demonstraram diversas atividades biológicas em ensaios padronizados, oferece um sistema biomimético com alto potencial cicatrizante (Wu *et al.*, 2020).

A capacidade da QT de formar géis, em soluções ácidas e interagir com moléculas bioativas, permite sua utilização como matriz para sistemas de liberação controlada. Além disso, a QT pode ser funcionalizada ou misturada com outros polímeros para formar hidrogéis inteligentes, como os termossensíveis, que passam de solução para gel na temperatura corporal

(37 °C), permitindo fácil aplicação e adaptação ao contorno da ferida (Dash *et al.*, 2011; Chenite *et al.,* 2000).

Hidrogéis de QT, apresentaram propriedades antimicrobianas, fungistáticas, hemostáticas, semelhança estrutural com proteínas da MEC e estímulo à cicatrização, demonstrando ser uma escolha promissora como sistema de liberação de fármacos. Ademais a incorporação de PPTN em hidrogéis de QT permite uma liberação sustentada no leito da ferida, agindo como sinalizadores moleculares para acelerar a reorganização tecidual (Chen *et al.*, 2021; Mohandas *et al.*, 2020).

A concentração de QT e polímeros sintéticos como polietilenoglicol (PEG) e o polipropilenoglicol (PPG), afeta diretamente a temperatura de gelificação e a estabilidade do hidrogel. Ensaios reológicos são utilizados para identificar a faixa ideal de viscosidade e transição sol-gel. Ademais, a adição de peptídeos de colágeno também altera as propriedades mecânicas e a estrutura da rede polimérica, conferindo maior elasticidade e porosidade (Al Khateb *et al.*, 2016; Bhattarai *et al.*, 2010).

A QT possui características catiônicas potentes, motivo pelo qual é amplamente utilizada em aplicações que envolvem a formação de complexos polieletrólitos, com polímeros aniônicos. Assim pode formar pontos de interação entre os polímeros, com forças de atração eletrostática entre os grupos carboxila de outros polímeros com grupos amina da QT (Bakshi *et al.*, 2020).

Quando incorporados princípios ativos a QT, os complexos polieletrólitos formados ajudam a controlar a liberação desse princípio ativo. A incorporação de fármacos em matrizes poliméricas contribui para uma maior interação com a lesão, pois resulta em uma ou mais funções ativas que melhoram a cicatrização, resultando em curativos bioativos, capazes de liberar fármacos. (Yan *et al.*, 2000).

Fármacos formulados com QT e outros polímeros naturais, como os derivados do colágeno, extraídos da pele de tilápia, tem sido alvo de estudos nos últimos anos. A interação química entre a QT e os PPTN ocorre principalmente por meio de ligações não covalentes, envolvendo interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (Song *et al.*, 2019).

A QT é um polissacarídeo, composto principalmente por unidades de D-glucosamina (com grupos amino livres $–NH_2$) e algumas unidades de N-acetil-D-glucosamina. Em meio ácido, os grupos amino da QT se protonam ($–NH_3^+$), tornando a molécula cationicamente carregada (Berger *et al.*, 2004).

A pele de tilápia contém colágeno, que pode ser hidrolisado enzimaticamente em peptídeos menores. Esses peptídeos contêm grupos carboxila ($–COO^-$) de resíduos de ácido aspártico e glutâmico, grupos amino livres ($–NH_2$) nos extremos N-terminais, potenciais grupos laterais polares (como –OH de serina, $–CONH_2$ de asparagina), estruturas ricas em glicina, prolina e hidroxiprolina do colágeno (Ma *et al.*, 2022).

As Interações eletrostáticas ocorrem em pH ácido, aonde a QT está positivamente carregada ($–NH_3^+$) e os peptídeos podem conter grupos carboxila ionizados ($–COO^-$), isso leva à atração eletrostática entre QT e os peptídeos (Boonsongrit *et al.*, 2006).

Nas ligações de hidrogênio, a QT possui grupos –OH e $–NH_2$, que podem formar pontes de hidrogênio com grupos carbonila (C=O) dos peptídeos, grupos –OH ou –NH de aminoácidos polares (Lima *et al.*, 2004).

Ainda, interações hidrofóbicas ocorrem com peptídeos contendo resíduos hidrofóbicos como valina, leucina, prolina, que podem interagir com regiões menos polares da QT, embora essas interações sejam menos predominantes (Ma *et al.*, 2022).

Portanto a QT tem demonstrado resultados favoráveis em diversos estudos, sendo uma alternativa viável, com alta disponibilidade e diversas características físico-químicas favoráveis ao desenvolvimento de hidrogéis, membranas e outras formas farmacêuticas, sendo um biopolímero versátil para o desenvolvimento de fármacos adjuvantes do tratamento de feridas complexas de pele (Rodrigues *et al.*, 2014).

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DOS PEPTÍDEOS DE PELE DE TILÁPIA (PPTN)

Para a produção do hidrolisado, realizou-se a extração dos peptídeos por hidrólise enzimática com enzima alcalase, uma endopeptidase que possui ação catalítica nas regiões internas das cadeias polipeptídicas, resultando na formação de peptídeos de baixa massa molecular. Foram utilizados 10 g de pele de tilápia seca, previamente hidratadas em 35 mL de água destilada à 60 °C, 5 mL de solução de NaOH a 10 % em pH 8,25 para otimizar a atividade e estabilidade e a enzima alcalase na proporção 0,17 g / 10 g da pele de tilápia.

A alcalase foi adicionada à solução e a reação foi mantida por 85 minutos sob as condições definidas de pH e temperatura e rotação constante de 500 rpm. A reação foi encerrada com a inativação enzimática com aquecimento da solução a 95 °C durante 20 minutos e centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos. Por fim o sobrenadante foi recolhido concentrado e liofilizado.

4.2 DESENVOLVIMENTO DA BIOMEMBRANA DE QUITOSANA INCORPORADA AOS PEPTÍDEOS DE PELE DE TILÁPIA

Foi preparada uma solução mãe, contendo de ácido acético a 0,5% (v/v) total de 650 mL e transferida para um béquer previamente identificado. Foi adicionado ao béquer 9,75g quitosana (Sygma Aldrich) 90% de desacetilação, para a obtenção de dispersão a 1,5% de QT (m/v), 0,48759g de glicerina 5% e 0,2912g de Polietileno glicol 3% e 0,04875 mL (0,5%) de benzoato de sódio como conservante.

A solução com concentração 1,5% de QT foi agitada em agitador magnético durante 30 minutos, até que se obtivesse total dissolução da quitosana da formulação.

Após esta etapa, a solução foi dividida em 3 béquer, ficando 250 mL para a produção da membrana controle, onde não foram adicionadas as concentrações de PPTN, para a produção do produto para aplicação no grupo controle negativo, 200 mL para a produção da membrana de 600 μg/mL com a adição de 0,12 g do liofilizado de pele de tilápia e 200 mL para a produção da membrana de 1000 μg/mL, com a adição de 0,20 g do liofilizado de pele de tilápia e novamente submetidos a 30 minutos em agitador magnético.

Após a solução estar homogeneizada, para a remoção de bolhas, foi submetida a 6 ciclos de 60 segundos cada, em sonicador Ultronique Ecosonics, com ponta macro e potência de 50%.

Foi produzida também uma membrana contendo 1000 μg/mL de peptídeos extraídos da pele de bovino, como comparador positivo no experimento *in vivo*, que foi formulada utilizando as mesmas concentrações e passou pelos mesmos processos descritos acima.

As soluções foram pipetadas em placas de petri estéreis de 90x15 mm e pesadas com 20 g cada. Após esta etapa foram submetidas a secagem em estufa a 40º C durante 24 horas.

Assim, após todas estas epatas, as membranas foram desprendidas do fundo da placa de petri com pinça anatômica (Fig.4), aferidas as suas espessuras com paquímetro digital e armazenadas em incubadora B.O.D para manutenção de temperatura controlada (12º C).

Figura 4 – Membranas acondicionadas em placas de petri, para o armazenamento.



Fonte: O autor

4.3 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO *in vitro* DAS BIOMEMBRANAS

4.3.1 Análise morfológica da membrana por microscopia eletrônica de varredura (FEG-MEV)

A análise morfológica das membranas de quitosana (QT), com e sem incorporação dos peptídeos de pele de tilápia, foi realizada por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-MEV; TESCAN, modelo MIRA 3), utilizando aumentos de 1.000×, 3.000× e 5.000×.

Para a avaliação da morfologia transversal, as amostras foram submetidas à criofratura após imersão em nitrogênio líquido, permitindo a obtenção de superfícies de fratura para análise da estrutura interna das membranas. Foram obtidas micrografias das superfícies e das seções transversais, após recobrimento das amostras com ouro, utilizando metalizador IC-50 Ion Coater (SHIMADZU).

4.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos grupos funcionais presentes na quitosana, nos peptídeos de pele de tilápia do Nilo (PPTN) e nas biomembranas foi realizada por espectroscopia no

infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), utilizando espectrômetro Shimadzu IR Prestige-21. As amostras de quitosana e PPTN isolados foram preparadas em pastilhas de brometo de potássio (KBr), enquanto as biomembranas foram analisadas por reflectância total atenuada (ATR). Os espectros foram obtidos na região de 400 a 4.000 cm^{-1}, com resolução espectral de 4 cm^{-1} e 32 varreduras. A análise foi utilizada para identificar bandas características dos componentes e investigar possíveis modificações espectrais associadas à formação das membranas e à incorporação dos peptídeos.

4.3.3 Difração de raios X (DRX)

A organização estrutural e os perfis de difração da quitosana, dos PPTN e das biomembranas foram avaliados por difração de raios X (DRX), utilizando difratômetro Rigaku Ultima IV, equipado com fonte de radiação Cu Kα (λ = 1,5418 Å), operando a 40 kV e 40 mA. Os difratogramas foram obtidos na faixa angular de 2θ entre 5° e 50°, com incremento de 0,02°. Os perfis foram comparados para investigar modificações na organização relativa da matriz polimérica decorrentes do processamento e da incorporação dos PPTN, bem como a presença de eventuais fases cristalinas adicionais.

4.3.4 Determinação do grau de intumescimento

Foi avaliado o grau de intumescimento das membranas por método gravimétrico descrito Liu, Zheng e Tang (2013). Assim as membranas foram cortadas em pedaços de 1 cm x 1 cm e pesadas, para obtenção do peso seco P.S.

A fim de simular condições corporais, as membranas foram submetidas a 3 meios para simular exsudatos viscoso e fluido e aquoso, e avaliar a absorção de líquidos por estas membranas.

Para produzir o exsudato simulado viscoso (pus), foi adicionado a um béquer 100 mL de água destilada, 0,0184 g de hidróxido de sódio, 0,5 g de goma xantana e 0,4149 g de cloreto de sódio. Na produção do exsudato fluido foi adicionado 100 mL de água destilada, 0,8298 g de cloreto de sódio e 0,0367 g de cloreto de cálcio. Na produção do simulado aquoso foi utilizada solução de tampão fosfato PBS 6,0 com a adição de 100ml de água destilada 0,0144 g de hidróxido de sódio e 0,681 g de fosfato de potássio.

As membranas foram imersas em frascos com 5 mL cada, dos três meios distintos, exsudato simulado viscoso e exsudato simulado fluido e solução tampão fosfato (PBS) todos

em pH=6,0 e mantidos a temperatura de 32 °C com pesagem nos tempos 24 h e 48 h para obtenção da massa úmida (M_u). Para calcular o grau de intumescimento (GI%) foi utilizada a equação 1.

$$G(\%)=\frac{M_u\text{-}M_s}{M_s}x100 \quad (1)$$

Onde, M_u e M_s são as massas das amostras úmidas e secas.

4.3.5 Determinação da taxa de transmissão ao vapor de água ou permeabilidade

Para a realização deste ensaio foi utilizado o método gravimétrico da *American Society for Testing and Materials* (ASTM E96/E96M *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*), estes frascos foram colocados em dessecador com 53% UR nitrato de magnésio durante 7 dias, para a estabilização da umidade.

Foram levados a estufa 270g de cloreto cálcio anidro P.A (êxodo científica) e mantidos a 100º por 60 minutos. Após, 30 g de cloreto cálcio anidro P.A foram inseridos dentro de frascos de vidro lisos (3 frascos para cada grupo) e as membranas foram coladas na extremidade dos frascos, com cola epóxi líquida (Loctite) para que a migração da umidade ocorresse apenas através da biomembrana (Fig. 5).

Figura 5 – Membranas coladas na extremidade dos frascos com cola epóxi líquida..



Fonte: O autor

Os frascos foram mantidos em dessecador com 75% UR contendo solução saturada de cloreto de sódio a 25 °C e pesadas a cada 2 horas, nas primeiras 12 horas, após 24 h e 48 h. A taxa de permeabilidade foi calculada dividindo a massa de vapor que passou pela área da amostra e pelo tempo. Para calcular a taxa de transmissão de vapor de água em $g.s^{-1}.m^{-1}$, foi utilizada a equação 2.

$$TPVA = \frac{\Delta m}{A \times \Delta t} \quad (2)$$

Onde, Δm ganho de massa em gramas, A é a área da membrana em m² e Δt o tempo em dias.

Para o cálculo da Permeabilidade ao Vapor de Água (PVA), a espessura das membranas foi medida e a permeabilidade ao vapor d'água (PVA), em $g.m^{1}.s^{-1}.Pa^{-1}$, foi calculada pela seguinte equação 3.

$$PVA = \frac{TPVA}{Ps(UR_1\text{-}UR_2)} \times E \quad (3)$$

Onde Ps é a pressão de saturação do vapor de água (Pa) na umidade relativa na célula de permeação temperatura teste, UR1, a umidade relativa no dessecador, UR2, a e E é a espessura das membranas (m). Neste trabalho, o valor calculado para Ps(UR1-UR2) foi igual a 2.375 kPa.

4.3.6 Determinação das propriedades mecânicas

Para a realização deste ensaio foi utilizada a metodologia da *American Society for Testing and Material* (ASTM D882 *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*) as amostras foram cortadas em fragmentos de 50 mm x 20 mm, aferidas as suas espessuras com paquímetro digital e colocadas fitas crepe nas extremidades, para identificação da espessura e formulação das membranas, bem como, facilitar a preensão adequada pela garra pneumática (Fig. 6). Após estes procedimentos foram mantidas em dessecador 53% UR com nitrato de magnésio durante 48 h.

Figura 6 – Membranas cortadas 50 mm x 20 mm e identificadas para o ensaio.



Fonte: O autor

Utilizando velocidade de tração de 50 mm/min, as membranas foram submetidas ao ensaio de tração, utilizando máquina universal de ensaios mecânicos, com distância entre as garras pneumáticas de 30 mm. Foram determinadas assim a tensão máxima de ruptura (MPa), módulo de Young ou módulo elástico (MPa) e elongação ou deformação (%).

4.3.7 Determinação da biodegradação *in vitro*

Para a realização deste ensaio, as amostras foram cortadas em fragmentos quadrados de 1 x 1 cm e mantidas em dessecador de umidade zero por 48 h, após foram pesadas para determinar sua massa inicial. Para simular a degradação da membrana, em condições *in vitro*, foi preparada uma solução de lisozima, que é uma proteína presente no muco, lágrima e outras secreções nos animais humanos e não humanos, responsável pela biodegradação e digestão de carboidratos e proteínas.

Para a produção da solução de lisozima 1,5 mg / mL, foi solubilizado em 500 mL de solução tampão fosfato (pH 7,4), 0,75 g de lisozima liofilizada (70.000 U/mg), sendo submetida a agitação magnética por 15 minutos. As membranas foram então colocadas em frascos de vidro e imersas em 10 mL da solução PBS (pH 7,4) com lisozima 1,5 mg/mL, que foram incubadas a 37 °C em banho maria.

Nos tempos 1, 4, 7, 10 e 14 dias, as amostras foram retiradas da solução enzimática, lavadas com água destilada, secas em estufa e novamente pesadas, para determinar a perda de massa por degradação enzimática, as soluções de lisozima foram também substituídas por outras novas nestes tempos, a fim de evitar a saturação da enzima.

O perfil de degradação foi mensurado pela perda de peso (PP %) e determinado pela diferença da perda percentual de massa entre o peso inicial e o peso nos intervalos de tempo 1, 4, 7, 10 e 14 dias através da equação 4.

$$Biodeg(\%)=\frac{(W_0\text{-}W_t)}{W_0}x100 \qquad (4)$$

Onde, W_0 é a massa inicial da membrana seca (antes da incubação) e W_t é a massa da membrana seca após incubação nos tempos 1, 4, 7, 10 ou 14 dias.

4.4 AVALIAÇÃO *in vivo* DAS FORMULAÇÕES

4.4.1 Cuidados éticos

O protocolo experimental foi previamente submetido à análise e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEPG), que certificou em 03/09/2024 que os procedimentos utilizando animais neste projeto de pesquisa, estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecida pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, foi autorizado o uso de *Rattus norvegicus*, através do Processo SEI Nº.: 24.000036725-9, com vigência até 03/09/2026.

4.4.2 Animais

Para a realização dos experimentos, foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, machos, adultos (3 meses), com peso médio de 160 ± 18g, procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual de Ponta Grossa, acondicionados em gaiolas de plástico individuais, em condições controladas de temperatura a 22 ± 2°C e umidade 45-55%, mantidos em ciclo claro/escuro de 12 h controlado automaticamente com livre acesso à água potável e ração industrial. Respeitou-se o período de aclimatação destes antes do início do experimento.

4.4.3 Grupos experimentais

O dimensionamento amostral inicial foi realizado com base nos resultados de infiltrado inflamatório descritos por Koga *et al.* (2020), utilizando o software G*Power, versão 3.1, considerando nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$) e poder estatístico de 95% ($1 - \beta = 0,95$).

O planejamento original contemplava 4 grupos experimentais, para os quais foi estimada a necessidade de 40 animais, correspondentes a dez indivíduos por grupo. Considerando a possibilidade de perdas durante a execução experimental, foi previsto um acréscimo de 20% no quantitativo amostral, totalizando 48 animais, distribuídos em quatro grupos de 12 indivíduos.

Dessa forma, o estudo foi executado com 48 ratos Wistar, distribuídos em quatro grupos experimentais, com 12 indivíduos por grupo, sendo: Grupo 1 (Controle Negativo) membrana QT sem a adição de PPTN (n=12), Grupo 2 (Tratamento PPTN 600 μg/mL)

membrana de QT com a adição de 600 µg/mL de PPTN (n=12), Grupo 3 (Tratamento PPTN 1000 µg/mL) membrana de QT com a adição de 1000 µg/mL de PPTN (n=12), Grupo 4 (Controle Positivo) membrana de QT com a adição de peptídeos de pele bovina 1000 µg/mL (n=12).

Os grupos foram por sua vez divididos aleatoriamente em três subgrupos de acordo com o período de observação, para a realização de coleta de tecido para avaliação histológica e imuno-histoquímica, bem como, avaliação macroscópica através da realização de fotografias para avaliação da retração cicatricial nos dias (7, 14 e 21 de pós-operatório).

4.4.4 Procedimento cirúrgico

Os 48 animais foram submetidos à anestesia dissociativa no dia 01 com cloridrato de xilazina 2% (Xilazin® Syntec) 10 mg/ kg associado ao cloridrato de cetamina 10 % (Cetamin ® Syntec) 50 mg/kg via intraperitoneal. Foram considerados anestesiados pela imobilidade do corpo, com frequência e amplitude respiratória normais, perda dos reflexos de dor e sensibilidade a pressão digital com pinça anatômica. Após anestesiados, os animais foram posicionados em decúbito ventral e depilados amplamente com máquina de tosa, realizou-se antissepsia da pele com álcool 70% e imobilização em prancha plástica com contenção dos membros por tensores elásticos.

Os animais foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos no laboratório de técnica operatória de departamento de medicina da UEPG, em ambiente cirúrgico asséptico e adequado para a realização desta finalidade (Fig. 7).

Figura 7 – Sala de técnica operatória do departamento de medicina da UEPG.



Fonte: O autor

Para a demarcação da pele a ser excisada, utilizou-se um marcador permanente azul (Bic® Markingum) sob gabarito plástico 2 x 2 cm (4 cm^2) especialmente confeccionado para este fim. Com o auxílio de uma pinça dente-de-rato e bisturi estéreis, foi excisado fragmento cutâneo no centro da área depilada, até a exposição da fáscia muscular dorsal (Fig. 8). A hemostasia foi realizada por compressão digital, utilizando-se gaze esterilizada.

Figura 8 – Modelo animal, ferida cirúrgica utilizando gabarito 2 x 2 cm com animal sob efeito de anestesia geral.

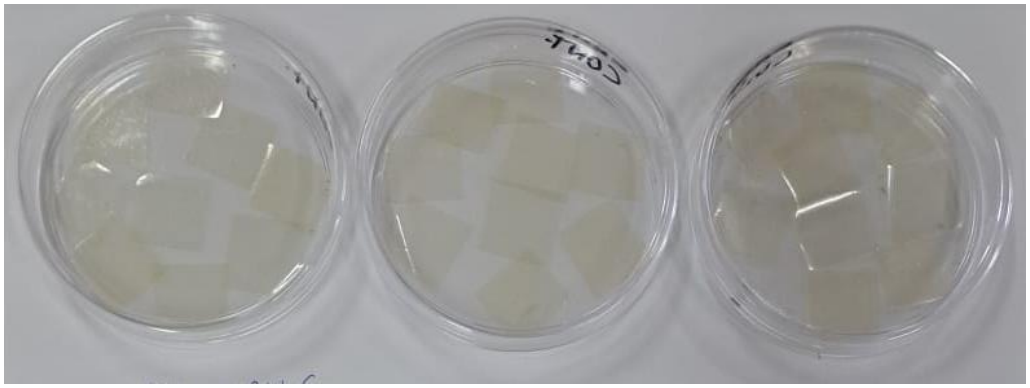


Fonte: O autor

Para a realização do experimento *in vivo* as membranas foram cortadas em fragmentos quadrados de 2 x 2 cm, com a utilização de um gabarito plástico, sendo seccionadas utilizando lâmina de bisturi de aço carbono nº 24, acoplada a um cabo de bisturi nº 04. As membranas

foram seccionas para facilitar o posicionamento sobre o leito das feridas cirúrgicas, sendo ainda aferidos os pesos e a espessura das membranas, após os cortes para a aplicação (Fig. 9).

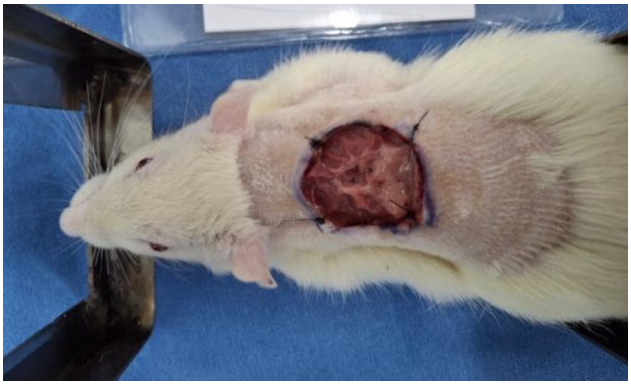
Figura 9 – Membranas fracionadas em quadrados de 2 x 2 cm.



Fonte: O autor

As membranas de QT foram suturadas com fio inabsorvível de nylon monofilamentar (mononylon), de calibre 2-0, em um padrão de sutura interrompida simples, nas extremidades dos 4 vértices do quadrado de 2 x 2 da membrana de quitosana, que foi mantida como curativo biológico oclusivo, para avaliar as propriedades cicatriciais, bem como a degradação e capacidade de absorção de exsudato em modelo *in vivo* (Fig. 10).

Figura 10 – Membrana de QT com 2 x 2 cm suturada nos vértices com fio 2-0 mononylon..



Fonte: O autor

4.4.5 Pós cirúrgico

Após o procedimento cirúrgico os animais foram fotografados utilizando pedestal metálico com distância padrão de 15 cm e realocados em caixas individuais identificadas com crachás de acordo com os seus respectivos grupos.

4.4.6 Coleta do material

Nos dias 07, 14 e 21 foram escolhidos aleatoriamente 04 indivíduos respectivamente dos grupos G1 a G4 (n=12) sendo submetidos novamente a indução anestésica, através da inalação de Isofluorano (BioChimico®) para perda dos reflexos de dor e sensibilidade a pressão digital com pinça anatômica, sendo colocados em uma caixa plástica, até a perda de reflexos posturais, após realizada a aplicação intraperitoneal de cloridrato de xilazina 2% (Xilazin® Syntec) 30 mg/ kg associado ao cloridrato de cetamina 10 % (Cetamin® Syntec) 300 mg/kg, para a realização da eutanásia mediante utilização de overdose de anestésico.

Após a perda dos movimentos respiratórios e reflexo palpebral, as lesões foram fotografadas utilizando pedestal metálico com distância padronizada (15cm), realizou-se a antissepsia com álcool 70% e coleta do tecido cicatricial, na área de transição entre a ferida e a pele íntegra, com margem cirúrgica de 03 milímetros, com auxílio de pinça anatômica e tesoura de Mayo, para realização de análise histológica**.**

4.4.7 Análise Histológica

As amostras foram armazenadas em frascos contendo 10 mL de solução de formol a 10%. Após decorrido o tempo de 72 h, o conteúdo o formol a 10% foi descartado e a amostra lavada com água destilada e trocada por 10 mL de etanol 70%, até serem processadas automaticamente pelo equipamento histotécnico (LEICA® TP 1620) tendo as amostras passado por processo de desidratação utilizando diferentes concentrações de álcoois. Em seguida, foram diafanizadas com xilol. Após tal processamento as peças foram incluídas em parafina histológica fundida a 60°C para a obtenção dos blocos histológicos. Assim os blocos com as amostras em parafina foram cortados com o micrótomo (LEICA RM 2125RT), com regulagem de 5 μm de espessura.

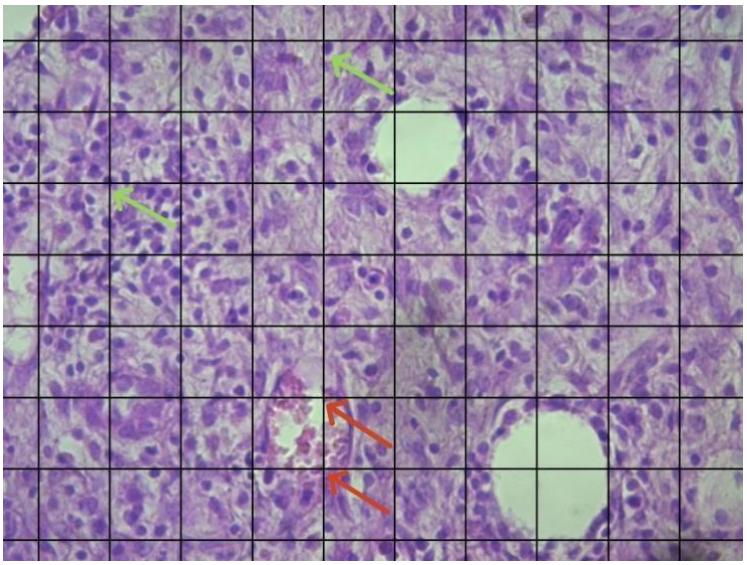
Após, as lâminas foram coradas utilizando as técnicas de Hematoxilina e Eosina (H.E) e Picrossirius Red (PR) para as análises de infiltrado inflamatório de neutrófilos, vascularização presença de fibroblastos e deposição de fibras de colágeno tipo I e III e avaliação quantitativa destas estruturas.

As amostras foram analisadas e fotografadas em microscópio Olympus BX51 P e microscópio de luz polarizada com aumento de 200x e 400x, com auxílio do programa Image View®, as configurações da câmera e intensidade de luz e de polarização foram padronizadas para todas as amostras, a contagem das células dos cortes histológicos, foi realizada por dois

observadores cegos, sem o conhecimento prévio da identificação dos grupos, sendo realizada contagem das células (inflamatórias, vasos sanguíneos, fibroblastos).

O gradeamento e contagem celular foi realizado com auxílio de software Image J®, com a padronização de 62208 pixels das imagens e ativação do modo *random offset* (deslocamento aleatório da grade) com a contagem das células imediatamente nos vértices dos quadrados formados pelas intersecções das linhas (Fig. 11).

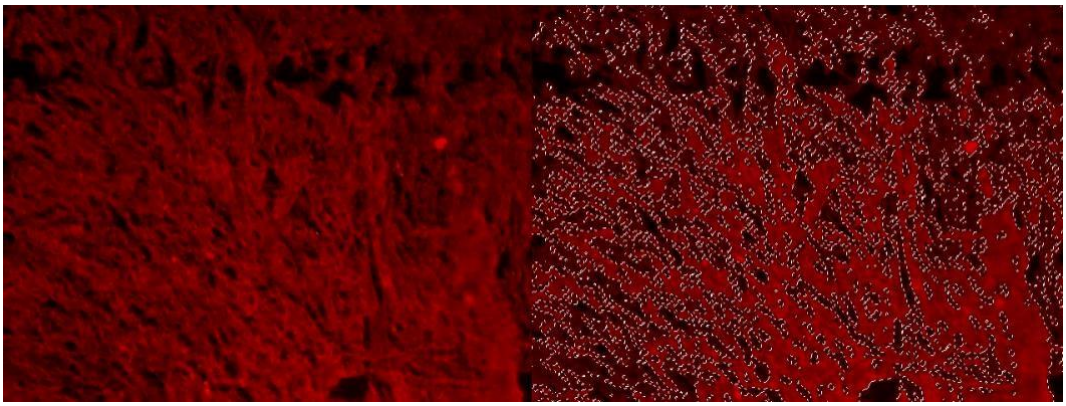
Figura 11 – Fotomicrografia de lâmina corada por H.E no programa Image J, foram contadas todas as células da intercessão das linhas, as setas vermelhas indicam vasos sanguíneos e as setas verdes neutrófilos.



Fonte: O autor

As lâminas coradas por PR foram analisadas utilizando o programa Adobe Photoshop® para a extração dos intervalos de cores adequados para a quantificação de cada tipo de fibra colágena. Com auxílio de software Image J® estas imagens foram analisadas e convertidas em variáveis quantitativas, para análise estatística das presenças de colágeno tipo I e colágeno tipo III (Fig. 12).

Figura 12 – Fotomicrografia de lâmina corada com P.R em microscópio de luz polarizada esquerda, e a seleção do intervalo de cores pelo programa Adobe Photoshop na direita.



Fonte: O autor

4.4.8 Retração cicatricial por avaliação macroscópica

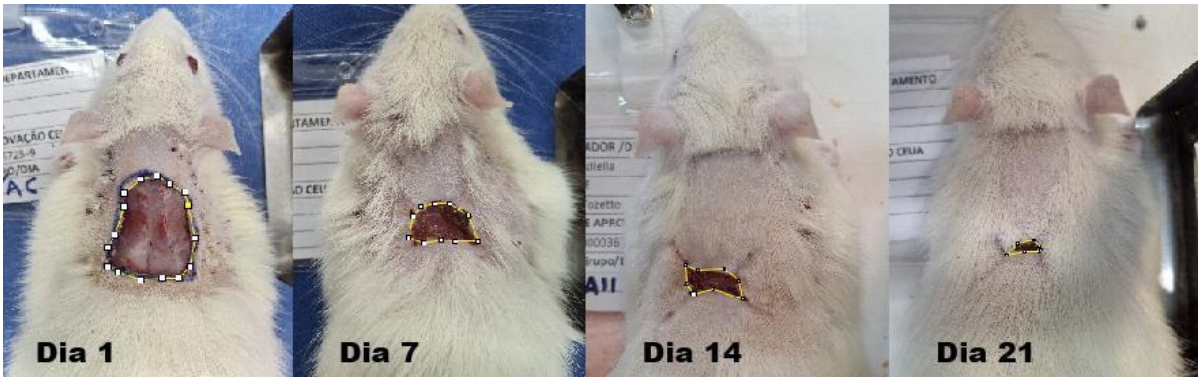
A avaliação macroscópica da retração do ferimento foi feita através da aferição e cálculo das diferenças entre a distância das bordas proximais e distais das feridas através das imagens registradas nos dias 1, 7, 14 e 21 nos grupos de 1 a 4, com câmera digital (Fig. 13) acoplada em pedestal próprio com distância padrão (15 cm).

Estes dados foram analisados pelo programa Image J®, sendo calibrados previamente, avaliados quanto a área do ferimento em mm² e convertidos em variáveis quantitativas para análise estatística, através da seguinte fórmula matemática:

$$Retração cicatricial(\%) = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} x100$$

Onde: A_0 é área inicial da ferida (Dia 0 em mm²) e A_t é a área da ferida após os tempos 1, 7, 14 e 21 dias.

Figura 13 – Registro fotográfico da retração do ferimento nos dias 1, 7, 14 e 21..



Fonte: O autor

4.4.9 Análise imunohistoquímica de TNF-α e IL-6

As amostras de tecido colhidas nos dias 07, 14 e 21 dos indivíduos dos grupos G1 a G4, foram armazenadas em frascos com solução de formol a 10% por 72h, após o conteúdo foi descartado e a amostra lavada com água destilada e trocada por 10 mL de etanol 70%, até seu processamento automático pelo equipamento histotécnico (LEICA® TP 1620), passando por processo de desidratação utilizando diferentes concentrações de álcoois. Em seguida, foram diafanizadas com xilol. Após tal processamento as peças foram incluídas em parafina histológica fundida a 60°C para a obtenção dos blocos histológicos. Assim, os blocos com as amostras em parafina foram cortados com o micrótomo (LEICA RM 2125RT), com regulagem de 5 μm de espessura.

Após o corte, foram utilizadas lâminas silanizadas, para aumentar a adesão dos tecidos à sua superfície, evitando a perda do material durante o procedimento imunohistoquímico. Foram colocados 4 cortes histológicos em cada lâmina, estas então foram colocadas em estufa a 50º C durante 24 h. A desparafinação foi realizada com dois banhos de xilol durante 10 minutos em temperatura ambiente, passando posteriormente em álcool absoluto 3x durante 1 minuto e após lavadas com água destilada. Em seguida, as amostras foram submetidas a banho maria a 95º C por 30 minutos, mergulhadas em solução tampão pH 9,0 e resfriadas em água corrente até atingir a temperatura ambiente e lavadas 3 vezes com água destilada por 5 minutos, seguida de delimitação dos cortes histológicos com caneta hidrofóbica para imunocoloração (Super Pap Pen®).

Após esta etapa foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena (bloqueio dos radicais livres provenientes do fixador) com uma gota de solução de peróxido de hidrogênio a 3% por corte histológico, durante 10 minutos e lavadas em água corrente por 10 minutos e após mergulhadas em tampão PBS pH 7,2 durante 5 minutos.

Foram utilizados os anticorpos TNF-α (52B83®) Santa Cruz Biotechnology Inc®, diluído (1:100) e Interleucina-6 (MP5-20F3®) Biolegend® (1:100) em tampão PBS pH 7,2. Foram adicionados 100 μL desta solução do anticorpo por corte histológico. Após foram submetidas ao processo de *overnight*, sendo colocadas em uma caixa contendo gazes umedecidas com água e mantidas em refrigeração durante 24 h à 5º C.

Após este período, as lâminas foram lavadas com tampão PBS pH 7,2 secas com papel toalha, seguidas da aplicação do polímero Polyperoxidase: Anti-Mouse-Rabbit (E-IR-R217B) ElabsScience® para a realização da detecção do complexo de interação antígeno-anticorpo durante 45 minutos e lavados novamente 3x em tampão PBS pH 7,2. Em seguida, foi diluído o

substrato o cromógeno diamino-benzidina (DAB) E-IR-R217E ElabsScience® 50 µL/mL em 1000 µL de tampão PBS pH 7,2 e aplicado 100 µL por corte durante 10 minutos, até a visualização da cor castanha, lavando-se em água corrente. Foram então contra coradas com hematoxilina de Harris por 3 minutos e lavados com água corrente por 3 minutos, para coloração de fundo de imagem. Na etapa seguinte as lâminas receberam 3 banhos com álcool absoluto durante 1 minuto e 3 banhos com xilol durante 1 minuto cada.

As lâminas imunomarcadas, foram analisadas e fotografadas em microscópio Olympus BX51 P, acoplado a câmera e computador com software de análise de imagem TCapture® com aumento de 400x, as configurações da câmera e intensidade de luz foram padronizadas para todas as amostras, a coloração de trabalho ou sinal foram a presença de coloração marrom-amarelado ou castanho para detecção a atividade nos tecidos indicando o sinal positivo em IHC dos cortes histológicos.

Foram capturadas todas as imagens em Campo de Grande Aumento (CGA=400x) em que apareceram a coloração castanha de sinal positivo de IHQ. A imuno marcação positiva foi identificada pela coloração citoplasmática marrom. A quantificação foi realizada utilizando o software ImageJ® por meio da função deconvolução de cores (H DAB), seguida de ajuste de limiar padronizado (canal vermelho, parâmetros padrão), que foram mantidos constantes em todas as medições para garantir a consistência na extração do sinal DAB. As imagens foram convertidas para escala de cinza de 8 bits e a área imuno positiva foi expressa como uma porcentagem do campo total analisado.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística do ensaio de caracterização do grau de permeabilidade ao vapor de água das membranas utilizou-se o programa GraphPad Prism®, versão 9.0, aplicando-se análise de variância de uma via (ANOVA de uma via), com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Os ensaios de biodegradação e de intumescimento da membrana foram analisados por meio de ANOVA de duas vias para determinar os efeitos do tempo, dos tratamentos e da interação sobre os parâmetros avaliados. O teste post hoc de Tukey foi utilizado para comparar estatisticamente os resultados.

Os resultados *in vivo* foram analisados por meio de ANOVA de duas vias para determinar os efeitos do tempo, dos tratamentos e da interação sobre os parâmetros avaliados, o teste post hoc de Bonferroni foi utilizado.

Para a avaliação estatística da retração macroscópica das feridas, utilizou-se a análise de variância de duas vias, seguida do pós-teste de Bonferroni para múltiplas comparações, com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

Para a análise estatística quantitativa da contagem de neutrófilos, células inflamatórias, vasos sanguíneos, fibroblastos e fibras colágenas, bem como da densidade de fibras colágenas, utilizou-se a análise de variância de duas vias, seguida do pós-teste de Bonferroni, para determinar os efeitos principais e a interação entre os fatores avaliados, adotando-se intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

Para a análise estatística quantitativa da imuno-histoquímica dos marcadores IL-6 e TNF-α, os dados foram inicialmente descritos por meio de média e desvio-padrão. Para comparação entre os grupos e momentos experimentais, utilizou-se análise de variância de duas vias com medidas repetidas, seguida do pós-teste de Bonferroni para múltiplas comparações, considerando-se intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Nos casos em que a hipótese de normalidade foi rejeitada, foram investigadas transformações dos dados ou adotados testes não paramétricos equivalentes, como o teste de Friedman, mantendo-se o nível de significância global por meio de ajustes apropriados para comparações múltiplas.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 PROPRIEDADES FÍSICAS DA MEMBRANA DE QT CONTENDO OS PPTN

A membrana obtida apresentou integridade estrutural após a secagem, sem evidências macroscópicas de fissuras ou fragmentação, além de flexibilidade perceptível durante o manuseio. Essas características foram observadas qualitativamente por inspeção visual e manipulação das membranas, não constituindo uma avaliação quantitativa da maleabilidade.

A utilização de quitosana (QT) com grau de desacetilação superior a 85%, na concentração de 1,5% (m/v), possibilitou a obtenção de uma dispersão adequada ao processo de formação das membranas, preservando sua integridade após a secagem. Essas observações são compatíveis com a influência da concentração e das características físico-químicas da quitosana sobre a formação de filmes poliméricos descrita na literatura (Kumar *et al.*, 2021).

A adição de glicerina (5%) e polietilenoglicol (3%) como plastificantes tem como objetivo reduzir a fragilidade da matriz polimérica e aumentar sua flexibilidade, característica essencial para aplicação tópica em feridas (Silva *et al.*, 2022).

O uso do sonicador após agitação magnética proporcionou uma dispersão mais homogênea dos peptídeos no meio viscoso, promovendo melhor distribuição dos bioativos através da membrana. Estudos mostram que o uso de ultrassom pode também quebrar aglomerados peptídicos e favorecer a estabilidade da formulação (Liu *et al.*, 2022).

A secagem controlada em estufa a 40 °C por 24 h foi adequada para a formação de uma película polimérica, fácil de remover da placa de petri e com flexibilidade adequada. A escolha dessa temperatura foi baseada em estudos que recomendam o uso de temperaturas abaixo de 50 °C para preservar a integridade estrutural e funcional de biomembranas (Wang *et al.*, 2017).

Portanto, a estratégia de desenvolvimento adotada nesta formulação é sustentada por evidências científicas e mostrou-se promissora para a aplicação clínica.

6.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (FEG-MEV)

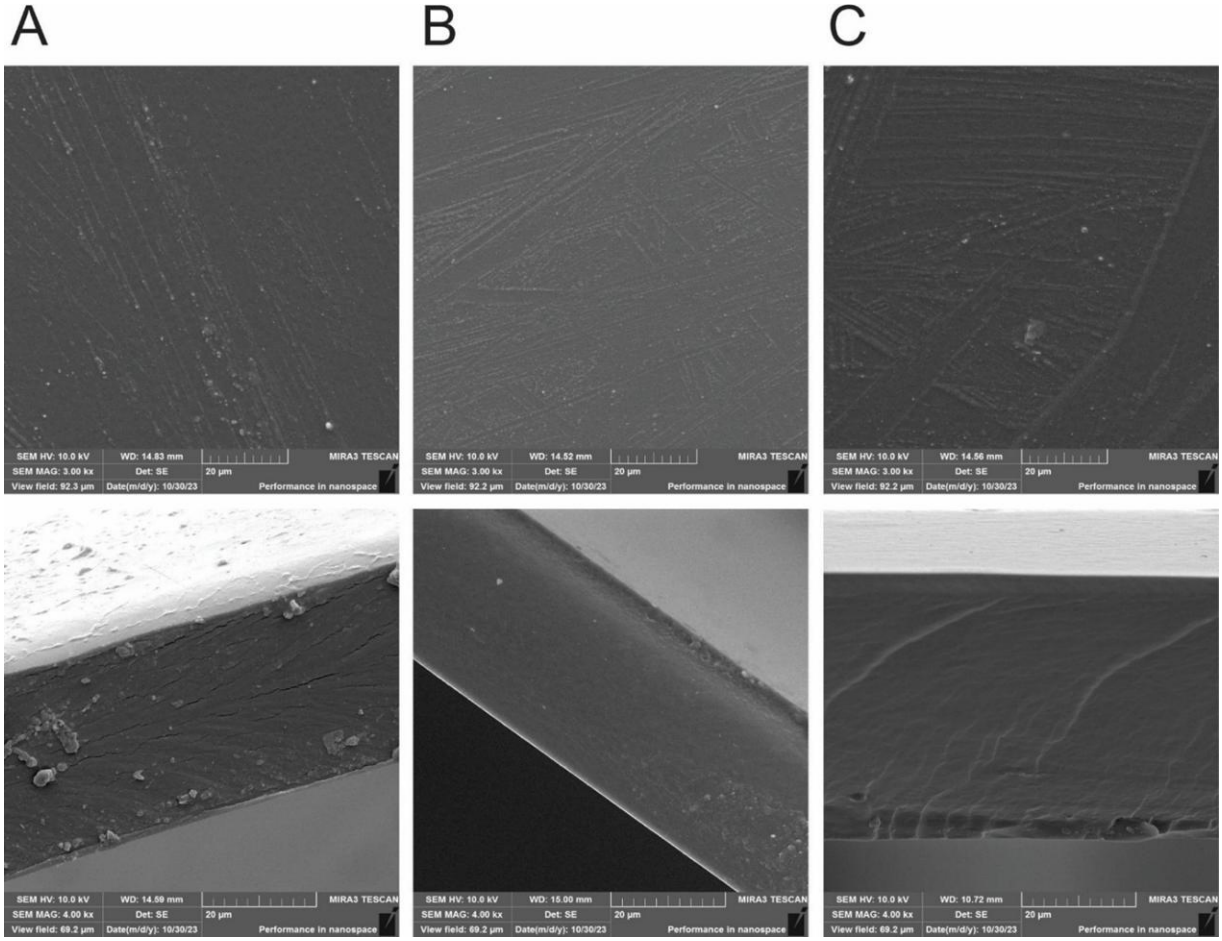
A análise morfológica das membranas conduzida por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEG-MEV) caracterizou as superfícies das membranas à base de QT 1,5%, glicerina e PEG, com e sem a adição de peptídeos de pele de tilápia em concentrações de 600 µg/mL e 1000 µg/mL.

As imagens obtidas em diferentes ampliações revelaram importantes diferenças estruturais entre os grupos. A membrana controle, composta apenas por QT e plastificantes, apresentou superfície menos homogênea, com presença evidente de ranhuras, fissuras e descontinuidades, especialmente visíveis no corte transversal da imagem realizada por FEG-MEV em 4.000 x de aumento (Fig. 14 A).

Essas descontinuidades podem indicar alterações na coesão entre as cadeias poliméricas, afetando as propriedades críticas como resistência mecânica, elasticidade e estabilidade estrutural, características fundamentais para o desempenho de curativos aplicados em feridas complexas (Perugini *et al.*, 2003; Dash *et al.*, 2011).

Por outro lado, a adição dos peptídeos bioativos de pele de tilápia promoveram uma modificação marcante na morfologia da matriz de QT. As membranas com 600 e 1000 µg/mL apresentaram melhor organização estrutural e menor incidência de falhas superficiais, maior compactação, uniformidade e homogeneidade, com superfície contínua e regular (Fig. 14 B e 14 C). Essas características indicam possivelmente interação intermoleculares otimizadas entre os grupos funcionais da QT e os peptídeos, favorecendo o entrelaçamento da matriz polimérica e contribuindo para um material com maior estabilidade física e funcional (Jayakumar *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2020).

Figura 14 – FEG-MEV da superfície e seção transversal das membranas: (A) Controle QT; (B) PPTN + 600 µg/mL; (C) PPTN + 1000 µg/mL. Ampliação: 3000 e 4000x, 10 kV..



Fonte: O autor

A presença de uma superfície mais compacta e homogênea nas membranas com peptídeos é um fator determinante para a redução da permeabilidade e controle da perda de água, elementos essenciais para aplicações clínicas em curativos, especialmente em feridas de difícil cicatrização. A biocompatibilidade e bioatividade dos peptídeos de tilápia, associados à estrutura porosa e bioaderente da quitosana, reforçam o potencial dessas formulações como matrizes terapêuticas avançadas para medicina regenerativa (Zhang *et al.*, 2022; Almeida *et al.*, 2021).

6.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

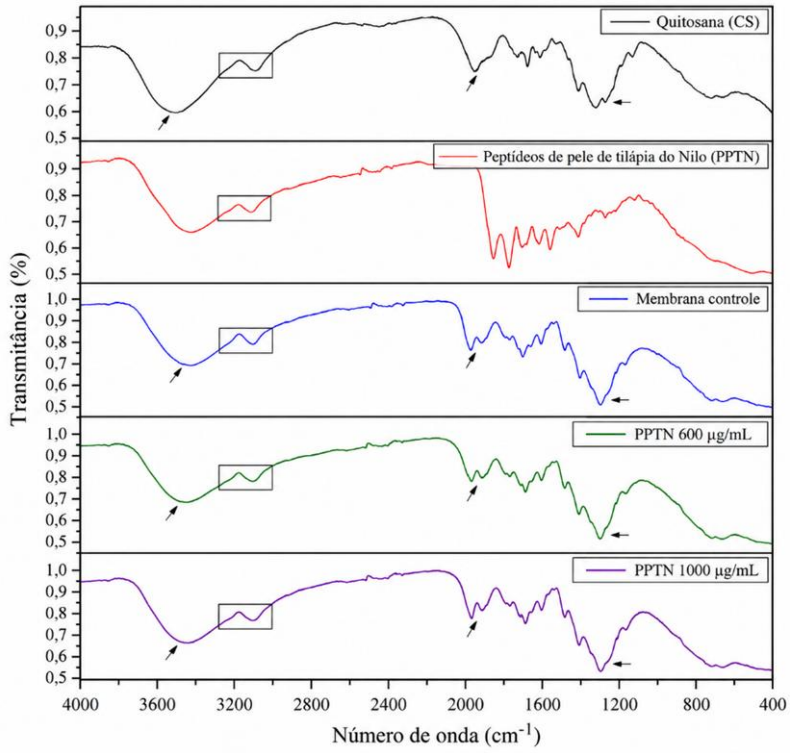
A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) permitiu identificar os principais grupos funcionais presentes na quitosana, nos peptídeos de pele de tilápia do Nilo (PPTN) e nas biomembranas desenvolvidas, contribuindo para a investigação de possíveis interações entre os componentes da matriz polimérica (Fig. 15).

Essa técnica é amplamente utilizada na caracterização de biomateriais poliméricos, permitindo identificar grupos funcionais e modificações espectrais relacionadas à incorporação de compostos bioativos (Li *et al.*, 2020; Becerra *et al.*, 2022).

Os PPTN isolados apresentaram banda de absorção em aproximadamente 3.277 cm^{-1}, atribuída predominantemente às vibrações de estiramento N–H, características da amida A, com possível contribuição de grupos O–H. Na região de 3.070 a 2.874 cm^{-1}, foram identificadas bandas associadas à amida B e às vibrações de estiramento C–H dos grupos CH_2 e CH_3.

Adicionalmente, observaram-se bandas em aproximadamente 1.630 cm^{-1}, correspondentes à amida I, relacionada principalmente ao estiramento C=O das ligações peptídicas, e em 1.530 cm^{-1}, referentes à amida II, associada às vibrações de deformação N–H e estiramento C–N.

Figura 15 – Espectros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) da quitosana isolada (CS), dos peptídeos de pele de tilápia do Nilo (PPTN), da biomembrana controle (CS-PEG) e das biomembranas contendo PPTN nas concentrações de 600 e 1.000 µg/mL (CS-PEG-PPTN).



Fonte: O autor

A comparação entre a quitosana isolada e a membrana controle evidenciou alterações espectrais após o processamento da matriz polimérica. Destacou-se o deslocamento da banda correspondente às vibrações O–H/N–H, de aproximadamente 3.458 para 3.300 cm^{-1}, além de modificações na região de 1.031–1.157 cm^{-1} para aproximadamente 990–1.065 cm^{-1},

relacionada às vibrações C–O–C e C–O. Essas alterações podem estar associadas ao processo de formação das membranas e à presença dos plastificantes polietilenoglicol 400 e glicerina, capazes de modificar o ambiente químico dos grupos funcionais da quitosana. Hasan *et al.* (2021) observaram alterações espectrais em sistemas contendo quitosana e polietilenoglicol, enquanto Li *et al.* (2020) descreveram modificações nas bandas características da quitosana após sua associação com peptídeos.

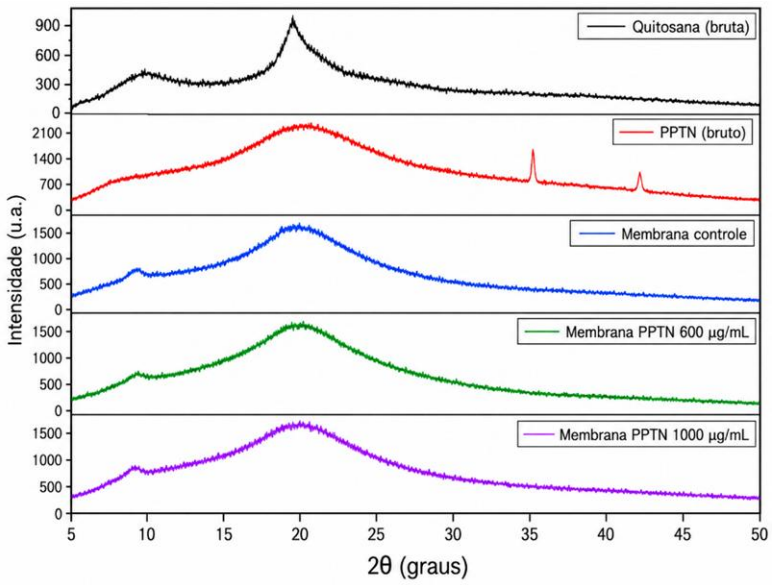
As biomembranas contendo PPTN apresentaram perfis espectrais semelhantes aos da membrana controle, com alterações discretas, possivelmente relacionadas à baixa proporção de peptídeos incorporados e à sobreposição das bandas características dos componentes da formulação. Entretanto, a biomembrana contendo 1.000 µg/mL de PPTN apresentou banda mais pronunciada próxima de 1.560 cm^{-1} em comparação à formulação de 600 µg/mL. Essa alteração pode estar associada à maior concentração de peptídeos e a possíveis interações entre os grupos amino protonados da quitosana ($–NH_3^+$) e os grupos carboxilato dos peptídeos ($–COO^–$). Li *et al.* (2020) observaram modificações espectrais em filmes de quitosana contendo peptídeos de diferentes origens, sugerindo a participação de ligações de hidrogênio e possíveis interações eletrostáticas na organização da matriz.

Em conjunto, os resultados de FTIR são compatíveis com a incorporação dos PPTN à matriz de quitosana e sugerem a participação de interações predominantemente não covalentes, incluindo ligações de hidrogênio e possíveis interações eletrostáticas. Entretanto, a sobreposição das bandas espectrais não permite determinar isoladamente a natureza ou a intensidade dessas interações, sendo necessária cautela na interpretação dos mecanismos moleculares envolvidos. Devernois e Coradin (2023) destacam a complexidade das interações em sistemas poliméricos de quitosana associados a componentes proteicos e a necessidade de caracterizações complementares para compreender sua organização estrutural.

6.4 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A análise por difração de raios X (DRX) foi realizada para investigar as características de organização estrutural da quitosana e as possíveis modificações decorrentes da formação das biomembranas e da incorporação dos peptídeos de pele de tilápia do Nilo (PPTN) (Fig. 16). A técnica permite avaliar qualitativamente a organização cristalina e amorfa de matrizes poliméricas, sendo amplamente utilizada na caracterização de filmes de quitosana e biomateriais destinados à reparação tecidual (Li *et al.*, 2020; Moreira *et al.*, 2023).

Figura 16 – Difratogramas de raios X (DRX) da quitosana isolada (CS), dos peptídeos de pele de tilápia do Nilo (PPTN), da biomembrana controle (CS-PEG) e das biomembranas contendo PPTN nas concentrações de 600 e 1.000 µg/mL (CS-PEG-PPTN).



Fonte: O autor

A quitosana isolada apresentou reflexões largas características de sua natureza semicristalina, localizadas aproximadamente em 2θ = 9–10° e 20°. Esses sinais estão relacionados à presença de domínios relativamente organizados na estrutura polimérica, cuja estabilidade é influenciada, entre outros fatores, por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. Resultados semelhantes foram descritos por Moreira *et al.* (2023), que identificaram reflexões em aproximadamente 10,52° e 19,94°, características da organização semicristalina da quitosana.

Após a formação das biomembranas, observou-se alargamento e menor definição das reflexões características da quitosana, sugerindo modificações na organização das cadeias poliméricas e redução da ordem estrutural relativa da matriz. Esse comportamento pode estar associado às etapas de dissolução, moldagem e secagem, bem como à incorporação de glicerina e polietilenoglicol 400 (PEG 400), que podem interferir na organização das cadeias e na rede de ligações de hidrogênio do polímero. Moreira *et al.* (2023) observaram redução da organização cristalina da quitosana após sua solubilização e formação de filmes. De maneira semelhante, estudos com filmes de quitosana plastificados com glicerina demonstraram modificações na intensidade das reflexões e na organização estrutural da matriz, embora a magnitude e a direção dessas alterações dependam da composição e das condições de processamento (Schnabl *et al.*, 2023).

As biomembranas contendo 600 e 1.000 µg/mL de PPTN apresentaram perfis de difração semelhantes aos da membrana controle, sem surgimento de novas reflexões cristalinas

intensas. Esses resultados sugerem que a incorporação dos peptídeos não promoveu a formação de uma fase cristalina adicional detectável nas condições experimentais empregadas, sendo compatíveis com sua presença em estado predominantemente amorfo ou disperso na matriz polimérica. Li *et al.* (2020), ao investigarem filmes de quitosana contendo peptídeos de diferentes fontes proteicas, observaram modificações nas reflexões características do polímero após a incorporação dos compostos, indicando que as interações entre os componentes podem influenciar a organização dos domínios cristalinos da matriz.

Dessa forma, os resultados de DRX complementam as observações obtidas por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-MEV) e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), indicando que o processamento das membranas modificou a organização estrutural da quitosana, enquanto a incorporação dos PPTN não resultou em alterações cristalinas adicionais expressivas. Entretanto, a ausência de novos picos não comprova, isoladamente, a dispersão molecular homogênea dos peptídeos, nem permite quantificar a cristalinidade sem procedimentos específicos de análise dos difratogramas.

6.5 GRAU DE INTUMESCIMENTO DAS MEMBRANAS DE QT INCORPORADO AO PPTN

Este ensaio avaliou o grau de intumescimento (GI) e a capacidade de absorção de fluido, de membranas de QT puras e incorporadas com PPTN em três meios que simulam os tipos de exsudato produzidos no corpo humano, com diferentes composições físico-químicas, simulando a secreção aquosa, exsudato fluido e exsudato viscoso.

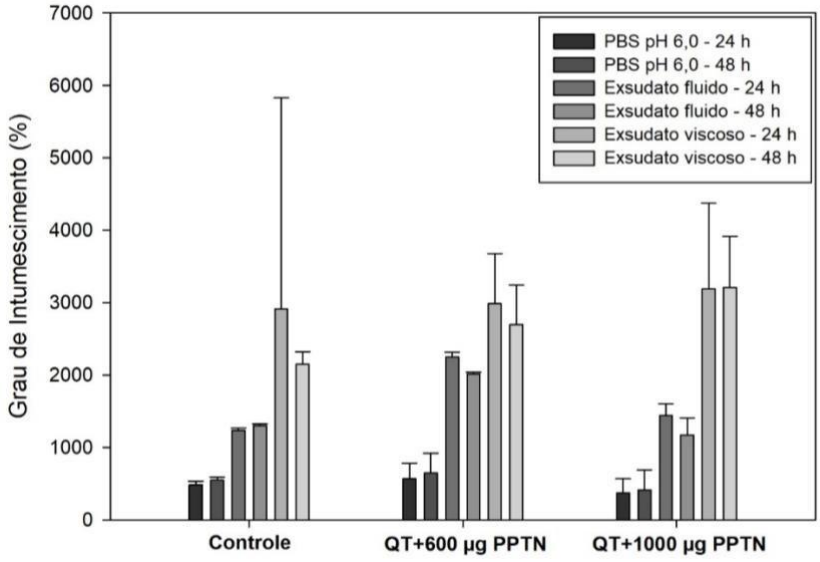
O GI das membranas variou de acordo com a composição da formulação e o meio analisado. Avaliando cada formulação individualmente, houve aumento estatístico do GI da membrana controle nos diferentes meios (PBS < exsudato fluido < exsudato viscoso) tanto após contato por 24 h quanto 48 h. As membranas contendo PPTN também apresentaram variação no GI de acordo com o meio testado, sendo que o GI das amostras com 600 µg/mL nos meios exsudatos fluido e viscoso foi significativamente maior do que em PBS nos dois tempos analisados. Por outro lado, nesta formulação a viscosidade do meio de exsudato não afetou o GI. Já a formulação com 1000 µg/mL apresentou GI significativamente maior no meio mais viscoso nos dois tempos analisados.

O GI das membranas também foi avaliado em cada meio que simula os tipos de exsudato corporal. Em meio aquoso (tampão fosfato pH 6,0) observou-se os menores valores

de GI (Fig 17), sem diferença estatística entre as amostras, tanto no tempo 24h quanto no tempo 48h ($p>0,05$).

No meio exsudato fluido, os valores de absorção de líquido foram mais expressivos que no meio aquoso, em ambos os tempos 24 e 48h. A interação da quitosana com íons bivalentes como Ca^{2+} pode promover uma expansão da matriz, facilitando o intumescimento (Rinaudo *et al.*, 2006).

Figura 17 – Grau de intumescimento (% ± DP) das membranas em diferentes meios simulados (24h e 48h).



Fonte: O autor

Neste meio, a membrana com 600 µg/mL apresentou o maior valor médio de GI em 24 h (2250,39 ± 64,98%) com diferença em relação ao controle QT ($p<0,0001$). O aumento da absorção de líquido pela membrana com 600 µg/mL de peptídeos se deve possivelmente por facilitar a interação de água com o polímero via aminoácidos hidrofílicos presentes nos peptídeos (Zhang *et al.*, 2021). Entretanto, houve leve redução da absorção de fluidos no tempo 48 h, sugerindo reorganização da estrutura ou liberação dos peptídeos. Já a formulação com 1000 µg/mL apresentou menor intumescimento com diferença em relação a formulação com 600 µg/mL em 24 e 48 h ($p=0,0001$ e $p=0,0151$, respectivamente) (Fig 17), o que pode estar relacionado ao efeito de saturação da matriz polimérica, tornando-a mais densa e menos permeável (Szymanska *et al.*, 2015).

Segundo Rinaudo (2006), a QT possui alta capacidade de interação com água e íons, devido aos seus grupos amino livres. A presença de peptídeos hidrofílicos ou hidrofóbicos pode alterar essa afinidade, influenciando diretamente o intumescimento. Além disso, Zhang *et al.* (2021) destacam que as biomoléculas extraídas de tilápia, agregadas a biopolímeros podem

oferecer vantagens funcionais, mas também tornar complexo o comportamento físico-químico do material.

No meio exsudato viscoso, que simula secreções purulentas, todos os grupos apresentaram elevados graus de intumescimento. A matriz polimérica da quitosana é sensível à alteração de pH promovida pelo NaOH, presente na formulação do exsudato viscoso, o que favorece as propriedades higroscópicas da membrana (Costa *et al.*, 2019). Não houve, diferença estatística entre as formulações em 24 h, contudo, a formulação com 1000 μg/mL de peptídeos apresentou maior absorção em 48 h comparado a formulação controle (p=0,0033), sugerindo absorção lenta de fluidos em ambientes viscosos.

Esses resultados sugerem que a adição de peptídeos de tilápia afetaram o desempenho da membrana quanto à absorção de fluidos. Entretanto, a composição do meio simulador também exerceu impacto sobre o comportamento de intumescimento, sendo mais intensa em meios com sais ou componentes viscosos.

6.6 TAXA DE TRANSMISSÃO (TTVA) E PERMEABILIDADE (PVA) AO VAPOR DE ÁGUA

Os resultados obtidos com membranas de QT carregadas com PPTN indicam que a incorporação de PPTN reduziu significativamente a permeabilidade ao vapor de água (PVA) (Tabela 1). Essa redução pode ser atribuída às interações entre os peptídeos e as cadeias poliméricas de QT, que alteram o arranjo da matriz e aumentam a tortuosidade da estrutura interna das membranas de QT carregadas com PPTN, provavelmente reduzindo essas vias de difusão e contribuindo para seus menores valores de permeabilidade (Zhou *et al.*, 2016).

A incorporação de PPTN pode ter melhorado a uniformidade da membrana, ao mesmo tempo que interrompeu parcialmente as interações intermoleculares dentro da rede de QT.

Tabela 1 – Permeabilidade e taxa de transmissão de vapor d'água das biomembranas de QT (controle) e com adição peptídeos de tilápia q 600 e 1000 μg/mL.

Grupo	TTVA ($g \cdot m^{-2} \cdot dia^{-1}$)	PVA ($g \cdot mm \cdot m^{-2} \cdot dia^{-1} \cdot kPa^{-1}$)
Membrana de controle	156,11 ± 12,04 a	2,80 ± 0,22 a
PPTN 600 μg/mL	148,15 ± 13,36 a	1,78 ± 0,16 b
PPTN 1000 μg/mL	127,80 ± 19,15 a	1,63 ± 0,24 b

Fonte: O autor

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 3). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os grupos, conforme determinado pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Um curativo ideal deve manter um ambiente úmido, prevenindo a desidratação excessiva ou o acúmulo de exsudato. Curativos com permeabilidade muito baixa podem levar à retenção excessiva de umidade e à maceração do tecido circundante, enquanto materiais

altamente permeáveis podem causar desidratação do leito da ferida, prejudicando a migração celular e a regeneração tecidual (Boateng *et al.*, 2008). Os valores de TTVA sugerem que as membranas de QT carregadas com PPTN permitem a troca controlada de vapor de água, o que pode ajudar a manter a hidratação adequada do local da ferida e melhorar as propriedades de barreira do curativo, permitindo ainda o equilíbrio da umidade (Rhim *et al.*, 2006).

6.7 PROPRIEDADES MECÂNICAS

A membrana de QT controle apresentou a maior resistência à tração (54,61 MPa), com diferença estatística em relação à membrana de QT carregada com 1000 µg/mL de PPTN (p=0,0181), com tensão máxima de 36,32 MPa (Tabela 2). Apesar da melhoria na uniformidade estrutural resultante da incorporação de PPTN, conforme visualizado nas imagens de FEG-MEV, a resistência à tração diminuiu com a incorporação do peptídeo, sugerindo que o PPTN interrompeu parcialmente as interações intermoleculares dentro da rede de QT, alterando as propriedades mecânicas da matriz (Rinaudo *et al.*, 2006).

Tabela 2 – Propriedades mecânicas das membranas de QT controle e das membranas contendo PPTN nas concentrações de 600 e 1000 µg/mL.

Grupo	Resistência à tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)	Módulo de Young (MPa)
QT (Controle)	54,61 ± 7,02 a	7,62 ± 4,97 a	1582,96 ± 141,63 a
QT + 600 µg/mL PPTN	45,29 ± 10,85 a,b	5,29 ± 5,18 a	2226,52 ± 782,51 a
QT + 1000 µg/mL PPTN	36,32 ± 8,49 b	6,26 ± 7,25 a	1734,61 ± 341,44 a

Fonte: O autor

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 5). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os grupos, conforme determinado pela ANOVA e pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As deformações foram semelhantes entre os grupos, mas com alta variabilidade (coeficiente de variação 5%), indicando heterogeneidade estrutural. Apesar de não haver diferença estatística, a maior taxa de deformação média foi observada também na membrana controle QT. O que corrobora com os dados que apontando maior resistência a tração para a membrana QT, sugerindo que a adição de biomoléculas como os peptídeos, pode alterar a maleabilidade da estrutura (Alemdaroğlu *et al.*, 2006).

O parâmetro de módulo de Young apresentou maior valor médio, sem diferença estatística, na membrana com 600 µg/mL (2226,52 MPa), o que pode ser reflexo de interações intermoleculares intensas entre QT, peptídeos e plastificantes. Contudo, o comportamento da membrana 1000 µg/mL reduziu o módulo para 1734,61 MPa, sugerindo que a adição dos PPTN

aumentou a interação destes com agentes plastificantes, reduzindo a resistência estrutural da membrana (Zhang *et al.*, 2021).

Portanto, os ensaios de tração mecânica demonstraram que a incorporação de peptídeos bioativos da pele de tilápia às membranas de QT com glicerina e PEG, influenciaram suas propriedades físicas e mecânicas, em particular na membrana 1000 µg/mL.

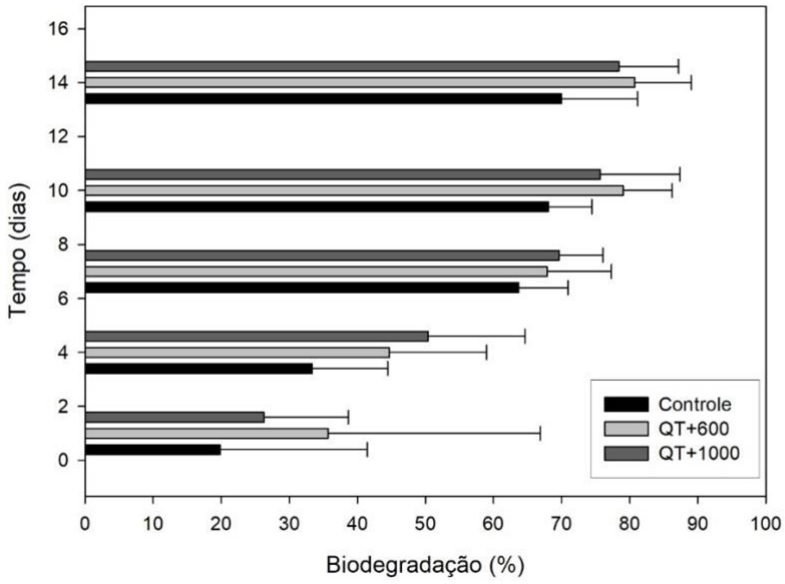
Esses achados reforçam que o equilíbrio entre os componentes estruturais da membrana é essencial para o desempenho mecânico adequado, especialmente em aplicações biomédicas como curativos para feridas. A formulação com 600 µg/mL aponta para um ponto de equilíbrio interessante entre rigidez e flexibilidade, enquanto a formulação com 1000 µg/mL pode ser mais indicada para contextos em que se deseje maior maleabilidade e menor resistência.

6.8 BIODEGRADAÇÃO *in vitro*

O ensaio de biodegradação *in vitro* foi realizado em solução de lisozima, com o objetivo de avaliar a perda de massa das biomembranas em condições de exposição enzimática controlada. A lisozima é uma enzima presente em diferentes secreções biológicas, como saliva, lágrimas e muco, que pode participar da degradação de determinados polímeros. A biodegradação foi avaliada por meio da perda percentual de massa (%) ao longo de 14 dias, com medições nos dias 1, 4, 7, 10 e 14. Os resultados demonstraram aumento progressivo da perda de massa nas biomembranas controle de quitosana (QT) e nas formulações contendo peptídeos de pele de tilápia do Nilo (PPTN), evidenciando a suscetibilidade desses materiais às condições experimentais empregadas.

As biomembranas de QT (controle) apresentaram perda de massa inicial variável, com valores individuais entre 0 e 43% no primeiro dia, aumentando progressivamente até o décimo quarto dia, quando foram observadas perdas entre 57 e 78%. As formulações contendo 600 e 1.000 µg/mL de PPTN apresentaram comportamento temporal semelhante, com variações numéricas nas médias de degradação durante o período experimental (Fig. 18). Entretanto, as comparações realizadas entre as formulações em cada período de avaliação não demonstraram diferenças estatisticamente significativas, indicando que a incorporação dos peptídeos, nas concentrações investigadas, não produziu alterações estatisticamente demonstráveis na perda de massa em relação à biomembrana controle.

Figura 18 – Perda de massa percentual média (± DP) das biomembranas de quitosana incubadas em solução de lisozima (1,5 mg/mL) a 37°C nos dias 1, 4, 7, 10 e 14.



Fonte: O autor

A biomembrana contendo 600 µg/mL de PPTN apresentou perda média de massa de 35,71 ± 25,40% no primeiro dia, 44,71 ± 11,63% no quarto dia, 79,04 ± 7,19% no décimo dia e 80,75 ± 8,35% no décimo quarto dia. Foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre D1 e D10 ($p = 0,0045$), D1 e D14 ($p = 0,0030$), D4 e D10 ($p = 0,0334$) e D4 e D14 ($p = 0,0232$). Esses resultados evidenciam aumento significativo da perda de massa ao longo de determinados intervalos experimentais dentro dessa formulação, sem caracterizar superioridade em relação às demais biomembranas.

A formulação contendo 1.000 µg/mL de PPTN apresentou perda média de massa de 34,62 ± 3,30% no primeiro dia, aumentando para 69,64 ± 6,43% no sétimo dia, 75,63 ± 11,70% no décimo dia e 78,42 ± 8,76% no décimo quarto dia. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre D1 e D7 ($p = 0,0044$) e entre D1 e D10 ($p = 0,0010$), demonstrando aumento da perda de massa durante o período de incubação. Embora os valores médios tenham aumentado ao longo do experimento, esse comportamento não permite estabelecer maior capacidade de biodegradação em comparação à biomembrana controle ou à formulação contendo 600 µg/mL de PPTN.

A biomembrana controle, constituída exclusivamente pela matriz de QT sem incorporação de PPTN, também apresentou aumento progressivo da perda de massa, atingindo 68,05 ± 6,37% no décimo dia e 69,96 ± 11,18% no décimo quarto dia. A análise estatística demonstrou diferenças significativas entre D1 e D7 ($p = 0,0039$), D1 e D10 ($p = 0,0014$), D1 e D14 ($p = 0,0009$), D4 e D10 ($p = 0,0308$) e D4 e D14 ($p = 0,0204$). A proximidade entre os

valores médios obtidos nos dias 10 e 14 sugere menor variação da perda de massa nesse intervalo final, embora não permita afirmar estabilização do processo sem confirmação estatística específica.

Esse comportamento é compatível com a suscetibilidade da quitosana à degradação em meio enzimático contendo lisozima, conforme descrito por Berger *et al.* (2004). A quitosana é um polissacarídeo cujas ligações glicosídicas β-(1→4) podem ser suscetíveis à clivagem enzimática, sendo a extensão da degradação influenciada por características como o grau de desacetilação, a organização das cadeias poliméricas, a acessibilidade dos sítios de ação enzimática e as condições do meio experimental.

A avaliação comparativa das formulações em cada período experimental não identificou diferenças estatisticamente significativas. Aos 14 dias, as biomembranas contendo 600 e 1.000 µg/mL de PPTN apresentaram perdas médias de massa de 80,75 ± 8,35% e 78,42 ± 8,76%, respectivamente, enquanto a biomembrana controle apresentou perda de 69,96 ± 11,18%. Embora as médias das formulações contendo peptídeos tenham sido numericamente maiores à do controle, a ausência de significância estatística impede concluir que a incorporação dos PPTN tenha promovido aumento da biodegradação da matriz polimérica.

As variações numéricas observadas podem estar relacionadas às características físico-químicas das formulações, incluindo a presença de componentes hidrofílicos e possíveis modificações na organização da matriz polimérica. A incorporação de peptídeos pode influenciar as interações intermoleculares e o comportamento de hidratação das membranas, com possíveis repercussões sobre a acessibilidade do meio enzimático. Estudos envolvendo sistemas poliméricos modificados por componentes bioativos discutem a influência da composição e da organização estrutural sobre propriedades como absorção de água, permeabilidade e degradação (Liu *et al.*, 2022; Gomes *et al.*, 2017). Entretanto, no presente estudo, essas possibilidades devem ser consideradas hipóteses explicativas, uma vez que não foram demonstradas diferenças estatisticamente significativas entre as formulações quanto à perda de massa.

Adicionalmente, a presença de grupos polares e de aminoácidos hidrofílicos nos peptídeos pode modificar as interações entre os componentes da formulação e o meio aquoso, influenciando potencialmente a hidratação e a organização da matriz. Essas interações são relevantes para a compreensão do comportamento de sistemas poliméricos contendo componentes bioativos (Zhang *et al.*, 2020; Liang *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2019). Contudo, os resultados obtidos não permitem afirmar que os PPTN tenham facilitado diretamente a hidrólise enzimática da quitosana ou acelerado a degradação das biomembranas.

Deve-se considerar, ainda, que a perda de massa determinada pelo método empregado pode resultar tanto da degradação da matriz polimérica quanto da solubilização ou liberação de componentes presentes nas formulações. Dessa forma, os valores obtidos não representam necessariamente, de maneira exclusiva, a clivagem enzimática das cadeias de quitosana. Além disso, o ensaio realizado com lisozima constitui um modelo experimental simplificado, não reproduzindo integralmente a diversidade de enzimas, células e mediadores presentes no microambiente de uma ferida.

Em conjunto, os resultados demonstram que todas as biomembranas apresentaram perda progressiva de massa durante os 14 dias de incubação em solução de lisozima, com diferenças estatisticamente significativas entre determinados períodos dentro de cada formulação. Embora as membranas contendo PPTN tenham apresentado médias numericamente superiores às do controle ao final do experimento, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. Portanto, os resultados sustentam a suscetibilidade das biomembranas à degradação nas condições avaliadas, mas não permitem atribuir à incorporação dos PPTN um efeito comprovado de aceleração da biodegradação. Esse comportamento contribui para a caracterização físico-química dos materiais desenvolvidos e fornece informações relevantes para sua investigação como coberturas bioativas destinadas ao tratamento de feridas.

6.9 RETRAÇÃO CICATRICIAL

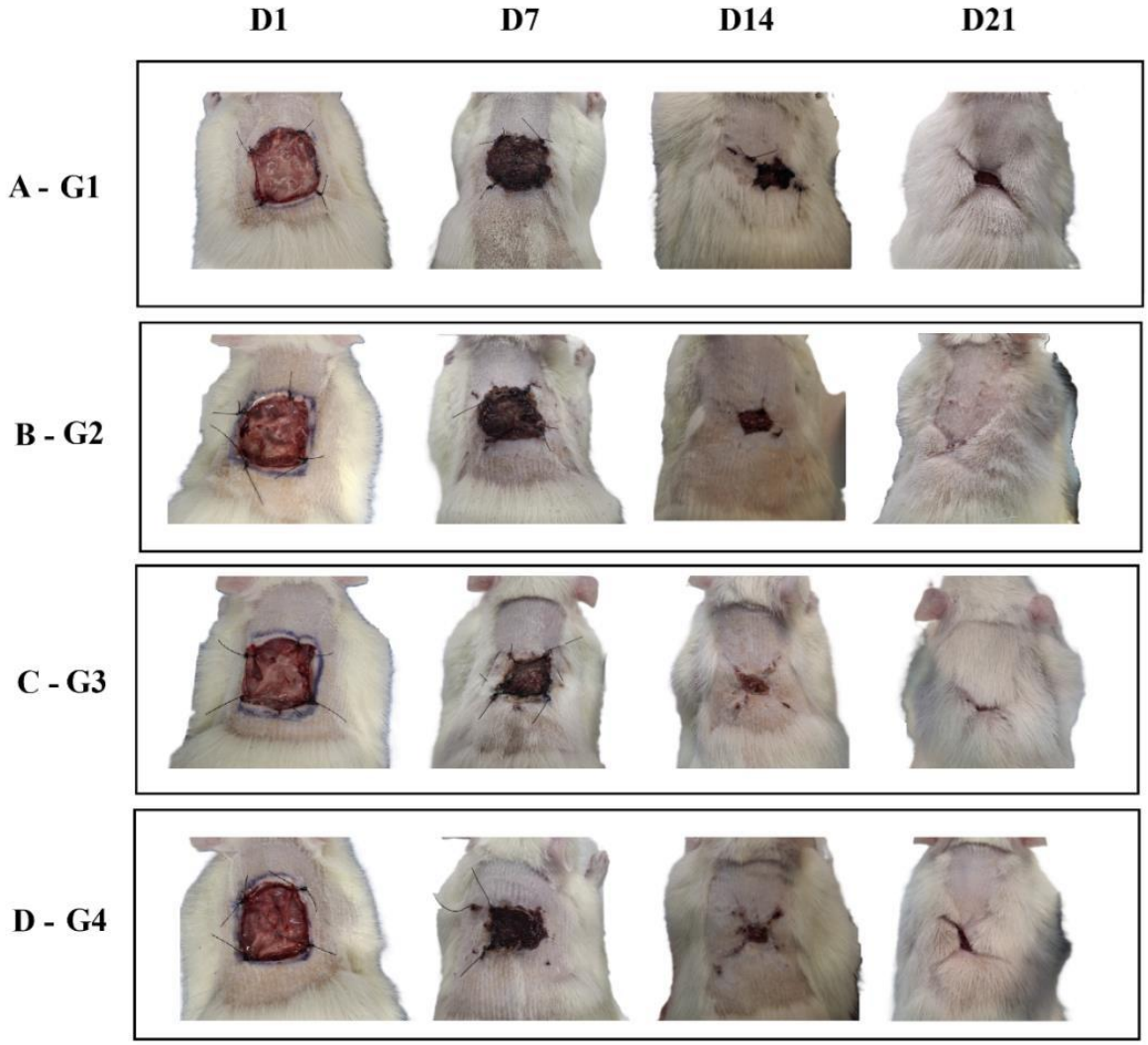
A retração da ferida é um fenômeno essencial para a redução da área lesionada durante a cicatrização, resultado da ação coordenada de fibroblastos, miofibroblastos e reorganização da matriz extracelular, podendo ser considerada um marcador indireto da eficiência da cicatrização. (Hinz, 2007).

Observou-se um aumento progressivo na retração da ferida em todos os grupos experimentais (G1-G4) ao longo do tempo, com efeitos estatisticamente significativos do tratamento, do tempo e da sua interação ($p < 0,0001$; Fig. 19).

No sétimo dia, os grupos com membrana de QT + PPTN (G2 e G3) exibiram percentagens de retração da ferida mais elevadas (45,56 ± 8,22% e 55,73 ± 15,39%) em comparação com os grupos de controle G1 e G4 (36,60 ± 3,36% e 9,97 ± 2,98%, respetivamente), com uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) em relação ao G4 (membrana de QT + PPB), que apresentou os valores de contração mais baixos e uma resposta inicial menos pronunciada (Fig. 19).

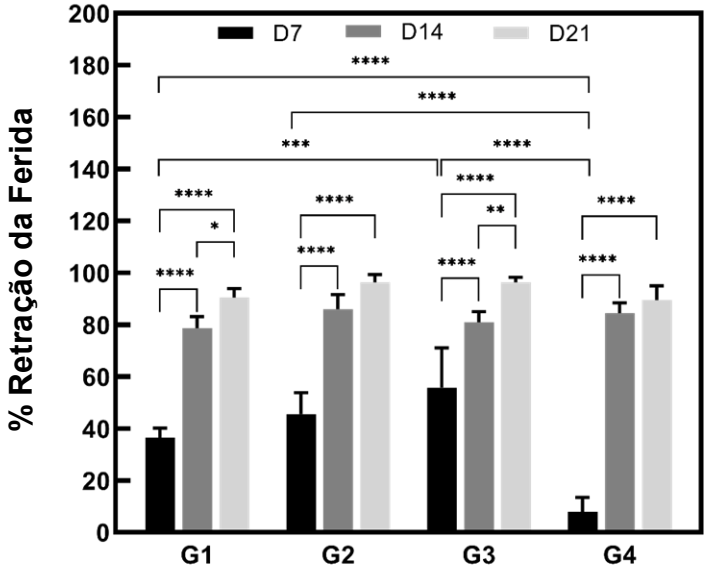
Tais resultados, apontam que a aplicação tópica dos PPTN na matriz sólida da membrana promoveu um efeito bioestimulante sobre os fibroblastos e miofibroblastos, quando comparado aos controles. Peptídeos de colágeno de peixes, especialmente os derivados da pele de tilápia, vêm sendo apontados como potentes agentes cicatrizantes, através da ativação de genes que promovem a expressão de fatores de crescimento como TGF-β e VEGF (Huang *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2021).

Figura 19 – Retração da ferida nos grupos experimentais nos dias 1, 7, 14 e 21. G1: membrana de QTcontrole (negativo); G2: membrana de QT carregada com 600 µg/mL de PPTN; G3: membrana de QT carregada com 1000 µg/mL de PPTN; G4: membrana de QT carregada com PPB (controle positivo).



Fonte: O autor

Figura 20 – Percentual de retração. Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 4). Diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de duas vias e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Significância estatística: ($p \geq 0,05$); *$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$; ****$p < 0,0001$.



Fonte: O autor

Ainda, tais achados sugerem que, embora os PPB sejam bem estabelecidos como um material bioativo, o PPTN induziu um efeito estimulatório inicial mais intenso sobre a retração cicatricial em relação ao tratamento controle com PPB. Esta resposta inicial aumentada está de acordo com a capacidade relatada dos peptídeos de colágeno de origem marinha em regular positivamente mediadores-chave deste processo, promovendo assim a ativação de fibroblastos e acelerando a contração da ferida (Gao *et al.*, 2024).

A área de contração da ferida aumentou acentuadamente em todos os grupos no 14º dia, entretanto, o grupo G2 membrana de QT + PPTN 600 µg/mL, manteve uma diferença estatisticamente significativa em comparação com G3 ($p = 0,0157$) e G4 ($p = 0,0016$), demonstrando um desempenho de retração superior. Esses achados sugerem uma modulação mais eficiente da fase proliferativa. A contração sustentada observada em G2 pode estar associada a uma interação mais favorável entre o PPTN e a matriz de QT, promovendo bioatividade local prolongada, ativação celular e remodelação da matriz extracelular (Moura *et al.*, 2013; Zimba *et al.*, 2024).

No 21º dia, todos os grupos apresentaram alta contração da ferida, com G2 e G3 exibindo os valores mais elevados. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas entre os grupos nesta fase ($p > 0,05$), o grupo G2 manteve a maior contração média, sugerindo um processo de remodelação tardia mais eficiente. De modo geral, as membranas de QT + PPTN promoveram a contração inicial e a remodelação tecidual

sustentada, com a formulação de 600 µg/mL (G2) apresentando desempenho consistentemente superior. Esses achados destacam o papel crucial da concentração do peptídeo na modulação da biodisponibilidade e das respostas biológicas.

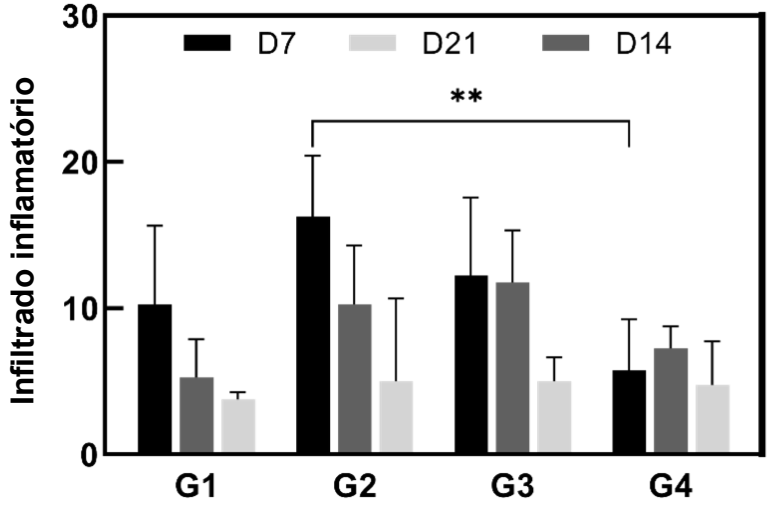
6.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Com base nos dados avaliados no experimento *in vivo,* tendo o infiltrado de neutrófilos como parâmetro, analisados por histologia nas três fases distintas do processo inflamatório, foi possível interpretar o comportamento celular neutrofílico ao longo do tempo (dias 7, 14 e 21) nos diferentes grupos experimentais.

A análise histológica da infiltração de neutrófilos induzida pelo tratamento com as membranas com PPTN e PPB foi utilizada para avaliação do grau de inflamação aguda por se tratar de um marcador clássico da fase inflamatória inicial da cicatrização tecidual (Eming *et al.*, 2007).

No dia 7 (D7), observou-se que o grupo G2 (membranas com PPTN 600 µg/mL) apresentou infiltrado inflamatório médio de 13,00 ± 4,25, com diferença estatística (p=0,023) em relação ao grupo controle positivo (G4) com média e desvio de 5,75 ± 3,50 neutrófilos respectivamente (Fig 21). Dessa forma, a resposta celular inflamatória para o grupo G2, sugere que o tratamento com esta forma farmacêutica e concentração, proporciona uma resposta aguda inicial intensa (Fig 22). Conhecidos por seu potencial cicatrizante os PPTN estimulam uma resposta inflamatória inicial induzida por quimiotaxia. Essa resposta pode ser benéfica, pois a inflamação controlada é essencial para a progressão ordenada da cicatrização (Spiller *et al.*, 2017).

Figura 21 – Infiltrado de células inflamatórias (principalmente neutrófilos), nos dias 7, 14 e 21 nos grupos G1 a G4. Diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de duas vias e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Significância estatística: **$p < 0,01$.



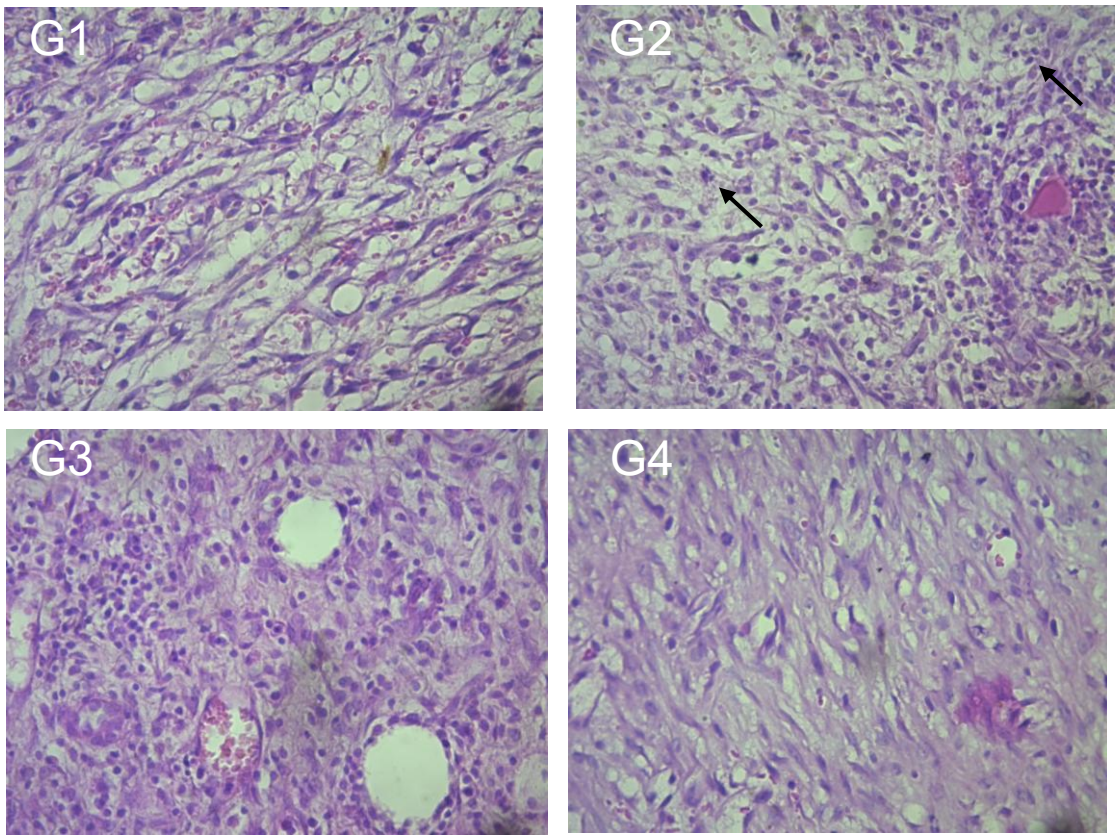
Fonte: O autor

No dia 14 (D14) do experimento, o grupo G3 ainda apresentava níveis elevados de células inflamatórias dentre os grupos com 9,5 ± 3,35 neutrófilos, apresentando diferença estatística com G1 (p=0,035). Tais resultados sugerem que a liberação de peptídeos na membrana foi mais prolongada e possivelmente manteve a ativação de células do sistema imune inato. Os PPTN, como sugerido por Liang *et al.* (2015), podem estimular o recrutamento celular prolongado e angiogênese, mesmo após o pico inflamatório.

Estes resultados estão de acordo com estudos que mostram que a combinação de biomateriais contendo ativos derivados de proteína animal como QT + PPTN, podem desencadear uma resposta inflamatória inicial intensa, como forma de reconhecimento e degradação do material e prolongá-la por mais tempo (Anderson *et al.*, 2008).

No dia 21, o grupo G4 (PPB com 1000 µg/mL) apresentava o mais elevado infiltrado inflamatório (5,0 ± 1,75). Isso sugere que a formulação com peptídeos bovinos pode estar associada a uma ativação de resposta imunológica tardia, que pode retardar resolução da inflamação e potencialmente interferir negativamente no processo cicatricial.

Figura 22 – Fotomicrografia com aumento de 400× em lâminas coradas com hematoxilina e eosina no 7º dia nos grupos G1 a G4, setas negras indicam infiltrado de células de neutrófilos mais intenso em G2.



Fonte: O autor

A literatura já demonstrou que peptídeos colagênicos bovinos, embora biocompatíveis, podem conter epítopos antigênicos residuais, capazes de estimular uma resposta imune mais tardia e intensa, especialmente em formulações sem tratamento imunomodulador (Silva *et al.*, 2020).

Além disso, proteínas e aminoácidos de fonte bovina são potencialmente mais reconhecidos como xenógenos por hospedeiros não bovinos, aumentando o risco de resposta inflamatória crônica ou formação de granulomas (Aamodt *et al.*, 2019).

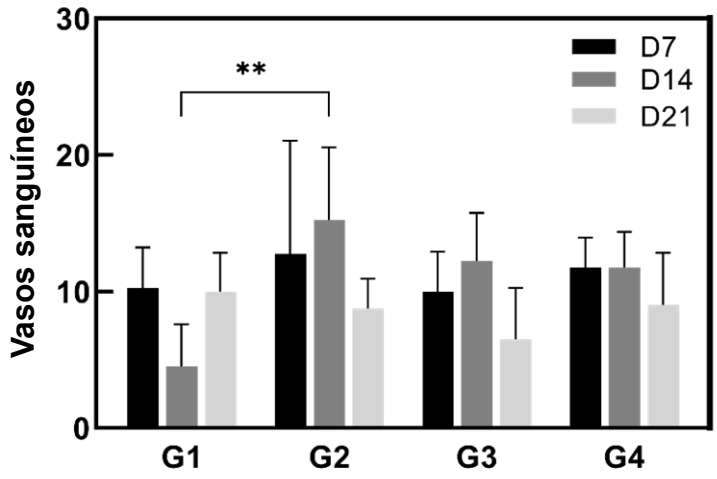
A neovascularização e angiogênese, são eventos chave na fase proliferativa da cicatrização tecidual, essencial para oxigenação, aporte de nutrientes e remoção de resíduos metabólicos no leito da ferida (Tonnesen *et al.*, 2000).

Portanto, na fase inflamatória D7, não ocorreram diferenças estatísticas significativas entre os grupos, sugerindo ação pró-angiogênica equivalente entre os tratamentos nos grupos avaliados durante este período.

No D14 os grupos G2 e G3 da membrana de QT com PPTN apresentaram o maior número de vasos sanguíneos, com diferença estatística para G2 em relação a G1 (Fig. 23). Portanto o grupo G2 se destaca com 11,00 ± 3,35 vasos contra (4,25 ± 1,22 vasos) de G1 (Fig.

23), demonstrando que a membrana PPTN 600 μg/mL, foi mais eficiente. Esses dados corroboram estudos que indicam que o PPTN promove a expressão de VEGF e a migração de células endoteliais (Lima *et al.*, 2021).

Figura 23 – Contagem de vasos sanguíneos, neovascularização no 14º dia. Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 4). Diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de duas vias e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Significância estatística $^{**}p < 0,01$.

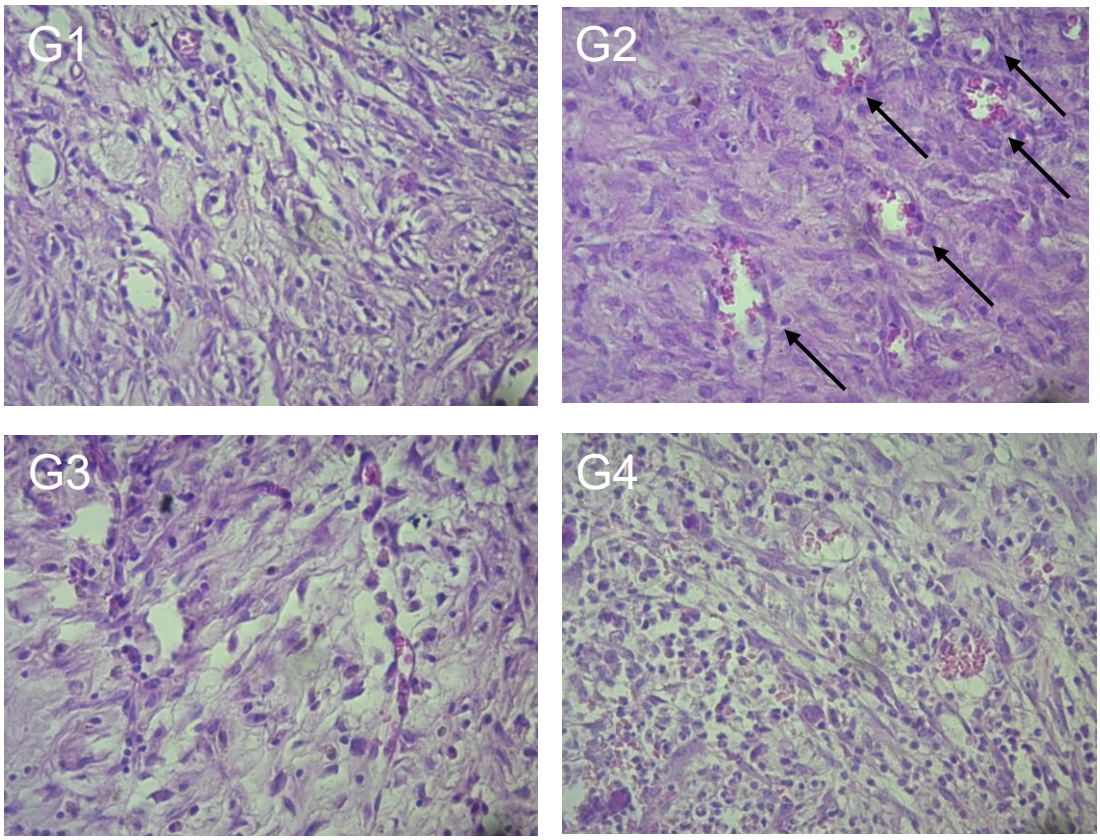


Fonte: O autor

Portanto, tais dados indicam que a QT isolada induziu angiogênese menos expressiva, possivelmente por sua estrutura polimérica menos bioativa do que a matriz incorporada com compostos ativos (Jayakumar *et al.*, 2011).

No dia 21 a regressão fisiológica dos vasos formados é evidenciada pela redução na contagem de vasos em todos os grupos. Ainda assim, os grupos G2 e G3 mantiveram níveis mais elevados de vasos neoformados, sugerindo que os PPTN podem prolongar a atividade angiogênica, retardando a regressão capilar, o que pode ser vantajoso em feridas crônicas ou de difícil cicatrização.

Figura 24 – Fotomicrografia com aumento de 400× em lâmina corada com hematoxilina e eosina no 14º dia nos grupos G1 a G4. Setas negras apontam maior contagem de vasos sanguíneos (neovascularização) no tratamento membrana PPTN 600 µg/mL.



Fonte: O autor

A adição de PPTN a matrizes de QT na forma de membranas, demonstrou efeito positivo na indução e manutenção da neovascularização em feridas. A dose de 600 µg/mL mostrou-se mais eficaz em todos os tempos, especialmente no período crítico de 14 dias. Tais resultados reforçam o potencial terapêutico dos PPTN no reparo tecidual, que promoveram angiogênese robusta e sustentada.

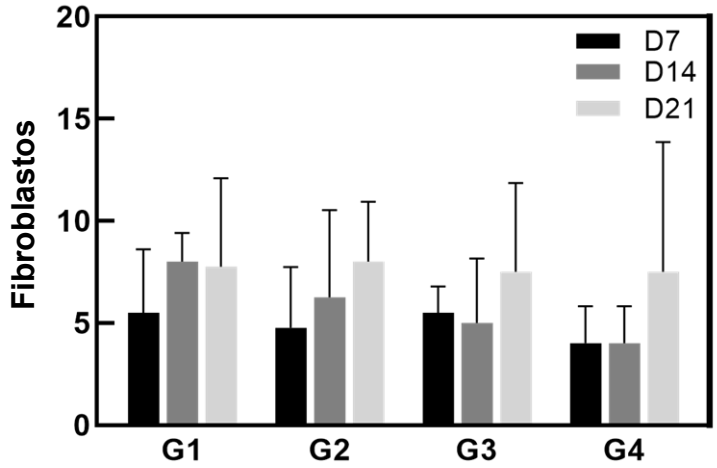
A avaliação histológica das estruturas vasculares permitiu caracterizar aspectos da vascularização presentes no tecido de reparação durante os períodos experimentais. Entretanto, a contagem de vasos, isoladamente, não constitui evidência suficiente para demonstrar angiogênese funcional, uma vez que não foram realizadas avaliações específicas da perfusão, maturação ou funcionalidade vascular. Assim, os resultados devem ser interpretados como alterações na quantidade de estruturas vasculares identificadas histologicamente, sem permitir afirmar que a incorporação dos PPTN tenha promovido formação de uma rede vascular funcional.

A presença e a atividade dos fibroblastos são essenciais no processo de cicatrização de feridas, especialmente durante as fases de proliferação e remodelamento. Esses elementos celulares são responsáveis pela síntese de colágeno e matriz extracelular, essenciais para a formação do tecido de granulação e reorganização tecidual (Zhang *et al.*, 2019).

Apesar de não ocorrerem diferenças significativas, os resultados demonstraram tendências a maiores contagens médias de fibroblastos para os grupos que receberam tratamento com PPTN grupos G2, G3 (Fig. 25 e 26).

As contagens médias de fibroblastos para o grupo G3 (membrana 1000 µg/mL de PPTN) nos dias 14 e 21 do experimento (Fig. 25), sugerem que esta concentração de peptídeos pode induzir a migração precoce deste grupo celular, ainda na fase proliferativa, possivelmente pelo aumento na expressão do gene FGF-β, que estimula o crescimento e proliferação de fibroblastos.

Figura 25 – Contagem de fibroblastos nos grupos G1 a G4, dias e,14 e 21. Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 4). Diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de duas vias e teste de Bonferroni ($p < 0,05$).



Fonte: O autor

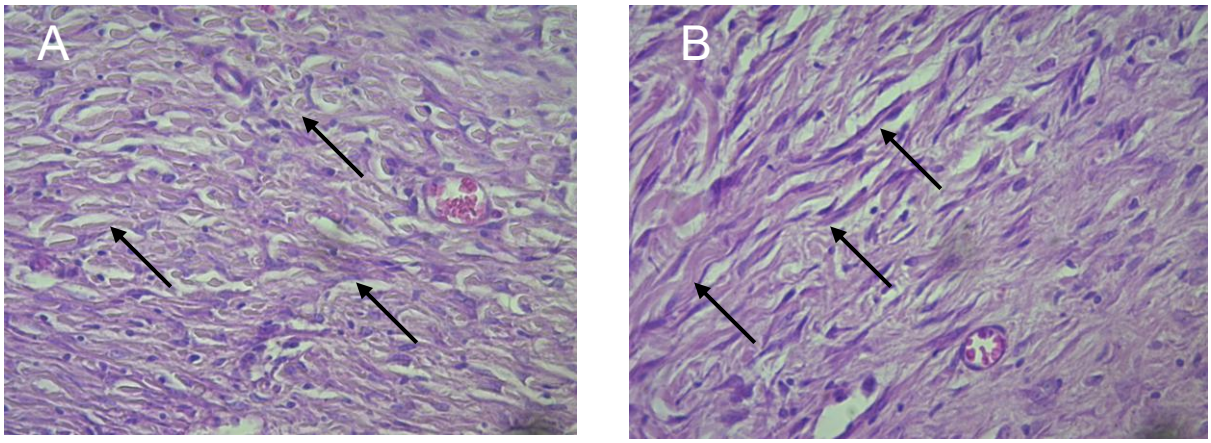
Esses achados corroboram com estudos que demonstram que peptídeos derivados da pele de tilápia possuem propriedades bioativas capazes de modular a resposta inflamatória e estimular a proliferação de fibroblastos, além de promover a angiogênese e reorganização do tecido lesionado (Lima *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2019).

Esta resposta ainda que discreta, nesta fase do processo cicatricial, pode refletir o tempo necessário para ativação celular e recrutamento eficiente dos fibroblastos. Esse padrão é condizente com o que é descrito por Chai *et al.* (2017), que observaram que matrizes a base de QT, liberaram de forma ativa peptídeos bioativos de tilápia, com a capacidade de modular a

migração e ativação dos fibroblastos. O grupo controle, com QT pura (G1) embora sem diferenças estatísticas significativas manteve as menores médias de fibroblastos nos dias 14 e 21. Isso evidencia que, embora a QT tenha propriedades bioativas, a ausência de peptídeos limitou sua eficácia na estimulação fibroblástica.

A análise histológica dos fibroblastos revelou variações nas contagens médias entre as formulações e os períodos experimentais. Embora tenham sido observadas diferenças numéricas entre determinados grupos, essas variações não apresentaram significância estatística nas comparações correspondentes. Portanto, os resultados devem ser descritos como tendências numéricas, não sendo possível afirmar que a incorporação dos PPTN tenha promovido aumento significativo da população fibroblástica. A interpretação desses achados deve considerar a variabilidade das amostras e a necessidade de investigações complementares para determinar possíveis efeitos dos peptídeos sobre a atividade e a proliferação dessas células.

Figura 26 – Fotomicrografia com aumento de 400× em lâmina corada com hematoxilina e eosina no 14º dia no grupo G2 (A) e 21º dia no grupo G3 (B). Setas negras apontam presença fibroblastos nos tratamentos membrana PPTN 600 µg/mL e 1000 µg/mL nos dias 14 e 21 respectivamente.



Fonte: O autor

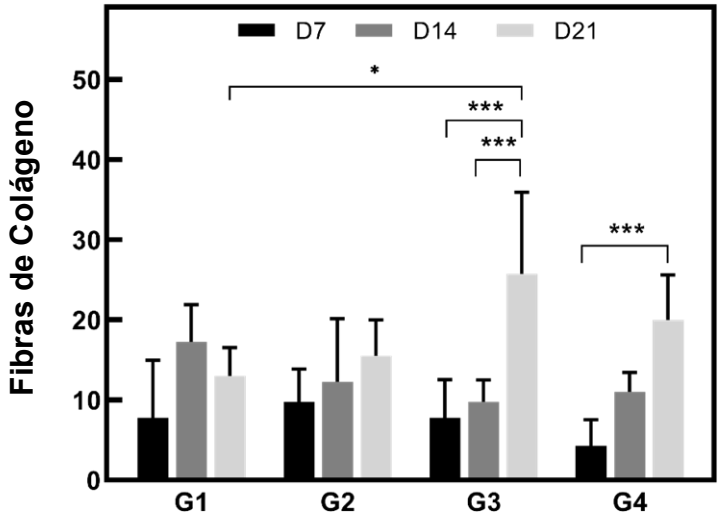
A contagem de colágeno apresentou contagens médias mais elevadas no grupo tratado com a membrana de QT carregada com 1000 µg/mL de PPTN (G3), particularmente no 21º dia, similar ao controle positivo, o grupo carregado com PPB (Fig. 26). O tratamento com PPTN na dose de 1000 µg/mL resultou em um aumento estatisticamente significativo de colágeno do 7º ao 21º dia ($p = 0,0002$), o que pode estar relacionado ao aumento progressivo na contagem de fibroblastos para este grupo, com maior presença de fibras de colágeno e mais densas sugerindo uma remodelação tecidual eficaz, estruturada e organizada.

O colágeno tipo I, representado pelas fibras vermelhas nas lâminas coradas com Picrossirius Red nos dias 14 e 21 (Fig. 27), forneceu dados essenciais sobre a maturação da

matriz extracelular durante a cicatrização da pele. O colágeno tipo I é a forma predominante em estágios avançados da cicatrização e está associado ao aumento da resistência mecânica da ferida (Darby *et al.*, 2014).

O colágeno tipo III, representa a forma imatura do colágeno depositada nas fases iniciais do processo de reparação tecidual. Sua síntese é estimulada principalmente durante a fase proliferativa da cicatrização, sendo produzida por fibroblastos recém-ativados para constituir uma matriz extracelular provisória, caracterizada por fibras mais finas, frouxamente organizadas e com menor resistência tênsil quando comparadas ao colágeno tipo I (Xue *et al.*, 2015).

Figura 27 – Contagem de contagem de fibras de colágeno nos grupos G1 a G4, dias 7,14 e 21. Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 4). Diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de duas vias e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Significância estatística: ($p \geq 0,05$); *$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$; ****$p < 0,0001$.



Fonte: O autor

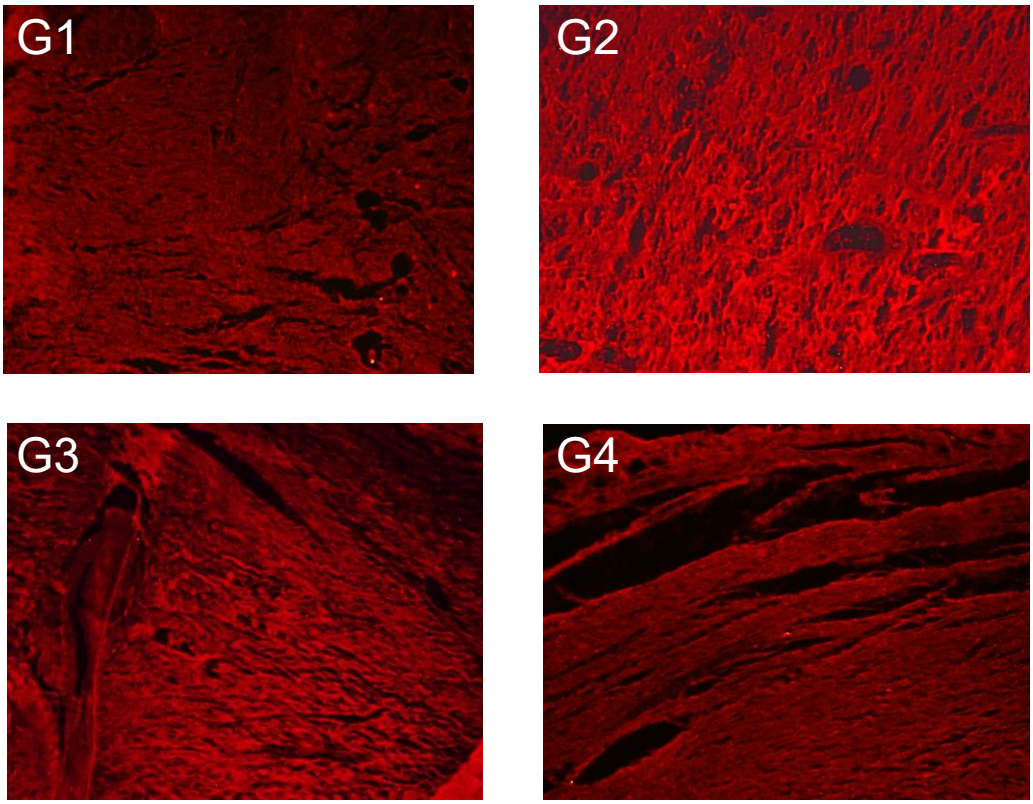
Embora não tenha havido diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,873$), observou-se uma tendência de maiores progressões médias de colágeno tipo I no dia 14 para o grupo G2 e no dia 21 para o grupo G3 (Fig. 27), ambos os grupos receberam os PPTN nas concentrações 600 e 1000 µg/mL respectivamente, reforçando o potencial no estímulo à deposição de colágeno maturo, para as formulações com a adição de PPTN, sendo promissora para futuros estudos e ensaios clínicos.

Ainda, ressalta-se que a QT pode atuar como *scaffold* bioativo, estimulando fibroblastos e síntese colagênica, o que pode ter influenciado de forma positiva a deposição de colágeno. Ademais, formulações de liberação lenta com quitosana e peptídeos bioativos da pele

de tilápia, demonstraram acelerar a reorganização da matriz extracelular e estimular a deposição de colágeno tipo I, favorecendo a maturação do colágeno (Zhang *et al.*, 2022).

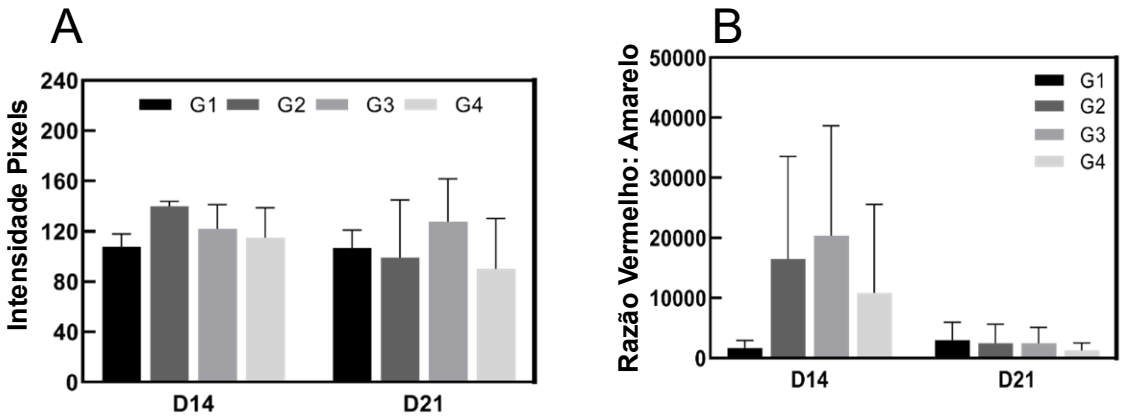
As leituras por coloração de picrosirius para quantificar a presença de colágeno III, não apontou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0.799$), nem entre os tempos de tratamento ($p = 0.243$). Apesar disso, observou-se variabilidade individual, com valores mais baixos de colágeno tipo I e elevados de colágeno III, no grupo G1 dia 14 (Fig. 28).

Figura 28 – Fotomicrografia com aumento de 400× em lâmina corada pela técnica de Picrossirius Red no 2 dia nos grupos G1 a G4.



Fonte: O autor

Figura 29 – Colágeno tipo I (vermelho) e III (amarelo) no 14º e 21º dias em vermelho (A) Intensidade do tipo I; (B) Razão entre os tipos I e III. Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 4). Diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de duas vias e teste de Bonferroni ($p < 0,05$).



Fonte: O autor

Este achado pode estar associado a uma possível resposta inflamatória exacerbada ou acúmulo prolongado de matriz imatura. Portanto a formulação apenas com quitosana, sem a presença de peptídeos bioativos de tilápia, demonstrou resultados menos expressivos na maturação colagênica.

Apesar da resposta heterogênea e da ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, observou-se uma tendência de maior conversão do colágeno imaturo (tipo III) para sua forma madura (colágeno tipo I) nos grupos que receberam membranas de quitosana incorporadas com peptídeos da pele de tilápia (PPTN).

Esse achado pode estar relacionado à capacidade bioativa desses peptídeos em modular a atividade fibroblástica e promover um microambiente favorável ao remodelamento tecidual. Estudos têm demonstrado que peptídeos derivados do colágeno de peixes atuam como matrikinas, estimulando a migração e proliferação de fibroblastos, aumentando a síntese de componentes da matriz extracelular e regulando fatores de crescimento envolvidos na cicatrização, como o fator de crescimento transformador beta (TGF-β1), um importante mediador da deposição e maturação do colágeno (Zhang *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2019).

6.11 ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA

O fator de necrose tumoral alfa e a interleucina-6, desempenham papéis fundamentais na regulação das diferentes fases da cicatrização cutânea, atuando desde a modulação da resposta inflamatória inicial até os eventos relacionados à angiogênese e ao remodelamento tecidual (Landén *et al.*, 2016).

A avaliação imuno-histoquímica de TNF-α e IL-6 forneceu informações importantes sobre a modulação inflamatória induzida pelas membranas de QT incorporadas com PPTN durante o processo de cicatrização (Fig. 29 e 30). Os perfis de expressão temporal dessas citocinas são indicadores críticos do equilíbrio entre a sinalização pró-inflamatória e a cicatrização, o que impacta diretamente na qualidade e tempo do reparo tecidual.

No sétimo dia de avaliação, os níveis de expressão de TNF-α e IL-6 foram significativamente maiores nos grupos tratados com membranas contendo PPTN, com destaque para o G2 ($p < 0,0001$) (Fig. 31 A e 31 B). Esse aumento pode ser correlacionado aos achados histológicos observados no mesmo período, caracterizados por maior infiltrado inflamatório e pico de angiogênese, bem como à contração macroscópica mais acentuada das feridas.

Considerando o papel dessas citocinas na fase inflamatória inicial do reparo tecidual, os resultados sugerem que os PPTN foram capazes de modular a resposta imune local. A síntese e liberação destes mediadores é essencial para o recrutamento celular, neovascularização e a progressão ordenada da cicatrização (Martin *et al.*, 2015).

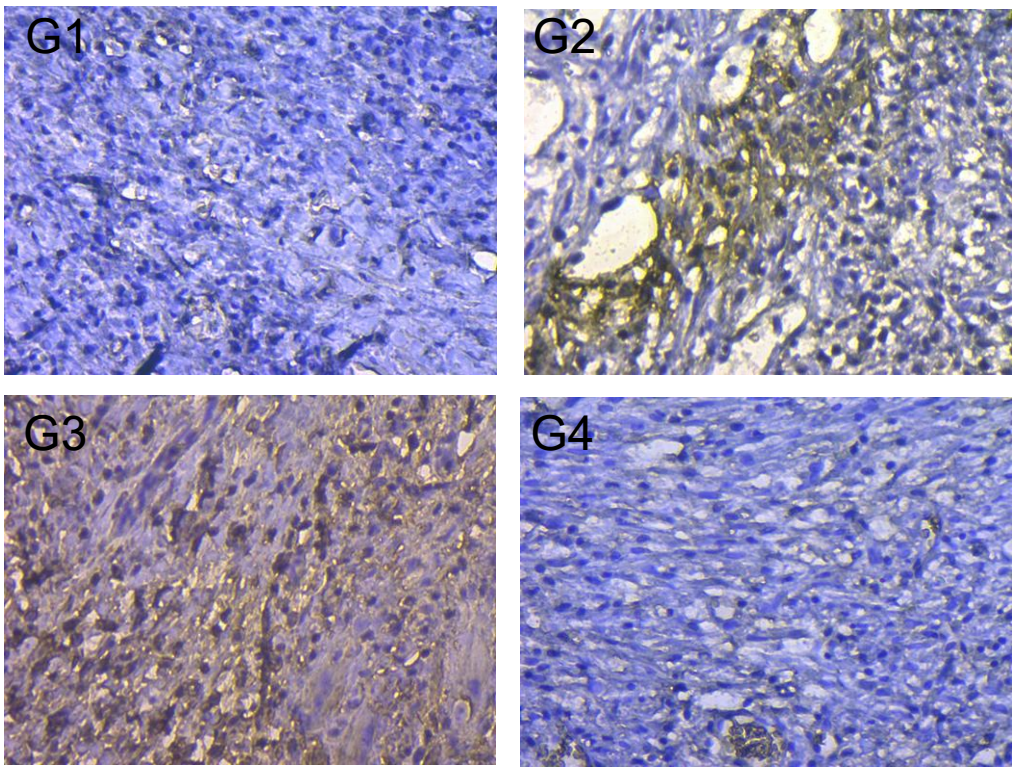
No dia 14 a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) persistiu entre os grupos de tratamento (G2 e G3) em relação aos grupos controle negativo (G1) e controle positivo (G4). Essa expressão elevada reflete uma ativação inflamatória benéfica e controlada e duradora, consistente com relatos de que os PPTN modulam a produção de citocinas e aceleram o reparo tecidual (Huang *et al.*, 2024; Mei *et al.*, 2020).

Além disso, a IL-6 contribui para a formação de tecido de granulação e deposição de matriz extracelular, corroborando o aumento na contagem de fibroblastos e na síntese de colágeno observado histologicamente (Johnson *et al.*, 2014).

A resposta inicial mais intensa de citocinas no grupo G2 está diretamente associada ao seu desempenho macroscópico superior, particularmente às maiores taxas de contração da ferida nos dias 7 e 14, sugerindo que 600 μg /mL proporciona um equilíbrio ideal entre ativação inflamatória e regeneração. A inflamação controlada é essencial para uma cicatrização eficaz, pois promove a liberação de fatores de crescimento (VEGF e TGF-β), impulsionando assim a angiogênese e a ativação de fibroblastos (Spiller *et al.*,2017; Tonnensen *et al.*, 2000).

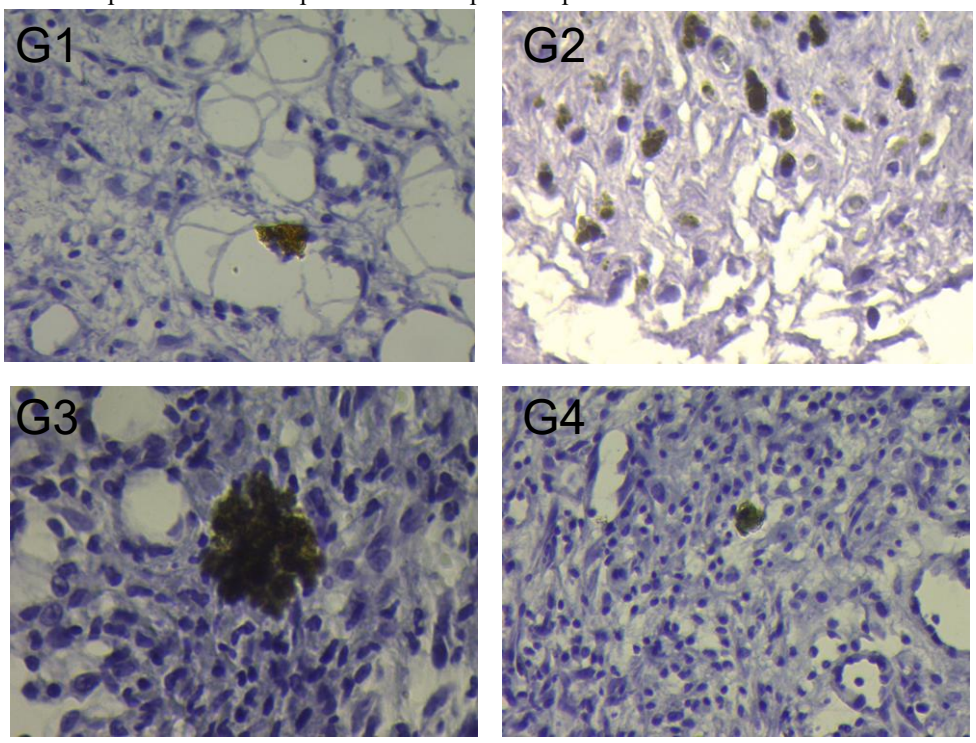
No dia 21 a expressão de TNF-α e IL-6 diminuiu significativamente em todos os grupos, particularmente no G2 ($p < 0,05$), correlacionando-se com a redução do infiltrado inflamatório, o aumento da organização do colágeno e o fechamento avançado da ferida. Essa regulação negativa é crucial para prevenir a inflamação crônica e a fibrose, permitindo, assim, a remodelação adequada do tecido (Barrientos *et al.*, 2008; Di Pietro *et al.*, 2010).

Figura 30 – Avaliação imuno-histoquímica de IL-6 no 14º dia. Nos grupos G1 a G4. Fotomicrografia representativa da expressão da área positiva para IL-6 coradas em castanho.



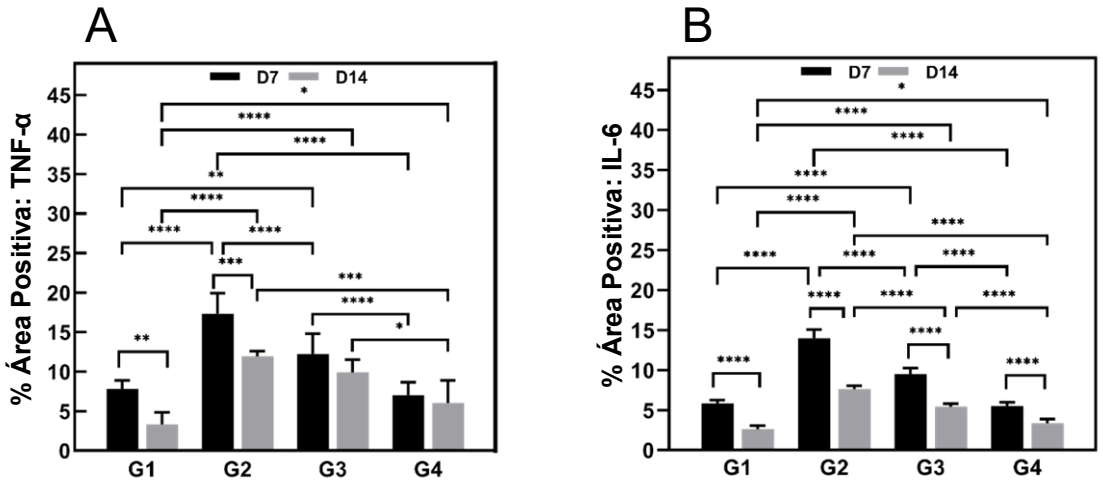
Fonte: O autor

Figura 31 – Avaliação imuno-histoquímica de TNF-α no 14º dia nos grupos G1 a G4. Fotomicrografia representativa da expressão da área positiva para TNF-α coradas em castanho.



Fonte: O autor

Figura 32 – Avaliação imuno-histoquímica de TNF-α e IL-6 no 7º e 14º dias. Área positiva para TNF-α (%) em cada grupo no 7º e 14º dias; (A) Área positiva para IL-6 (%) em cada grupo no 7º e 14º dias (B). Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. As diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de duas vias e teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Significância estatística: ($p \geq 0,05$); *$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$; ****$p < 0,0001$.



Fonte: O autor

Observou-se um efeito dose-dependente, com G3 (1000 μg /mL) apresentando um declínio menos acentuado nos níveis de citocinas, sugerindo sinalização inflamatória prolongada. Essa descoberta está de acordo com evidências histológicas de aumento da atividade de fibroblastos e deposição de colágeno, sugerindo estimulação proliferativa sustentada, mas resolução inflamatória retardada em concentrações mais elevadas do peptídeo (Rodrigues *et al.*, 2019).

O aumento inicial de TNF-α e IL-6 promove o recrutamento imune, a angiogênese e a ativação de fibroblastos, enquanto sua subsequente redução favorece a remodelação da matriz extracelular e a maturação tecidual. Assim, a formulação de 600 μg /mL apresentou o perfil imunomodulador mais favorável. Os resultados imuno-histoquímico são consistentes com os achados macroscópicos e histológicos, demonstrando que as membranas de QT incorporadas com PPTN modulam a cicatrização por meio de uma resposta inflamatória coordenada.

Assim, o perfil imuno-histoquímico reforça ainda mais a relação entre composição, desempenho e resposta biológica observada nas membranas de QT contendo os PPTN. A formulação de 600 μg/mL combinou desempenho físico-químico adequado com um aumento inicial na expressão de TNF-α e IL-6, seguido por uma redução em estágios posteriores. Esse padrão temporal de citocinas sugere que a membrana não apenas suprimiu a inflamação, mas também promoveu uma resposta inflamatória regulada, compatível com a progressão das fases inflamatória para as fases proliferativa e de remodelação. Em contraste, a formulação de 1000

μg/mL, embora bioativa, apresentou um perfil menos equilibrado, com resistência mecânica reduzida e sinais de sinalização inflamatória mais prolongada.

Dessa forma, os achados moleculares reforçam as evidências histológicas e macroscópicas, indicando que a indução transitória de TNF-α e IL-6 pelos PPTN está diretamente relacionada à intensificação dos eventos iniciais do reparo, contribuindo para a dinâmica temporal e, potencialmente, para a qualidade do processo cicatricial.

7 CONCLUSÃO

As biomembranas de quitosana incorporadas com peptídeos da pele de tilápia do Nilo (PPTN) foram desenvolvidas com sucesso e apresentaram propriedades físico-químicas compatíveis com seu potencial emprego como curativos bioativos. A incorporação dos PPTN promoveu alterações nas características morfológicas, no grau de intumescimento, na permeabilidade ao vapor de água e na biodegradação enzimática das membranas, com destaque para a formulação contendo 600 μg/mL, que apresentou desempenho favorável nos parâmetros avaliados. As análises por FTIR e DRX evidenciaram alterações estruturais na matriz de quitosana, compatíveis com a incorporação dos PPTN e possíveis interações não covalentes, sem formação de novas fases cristalinas detectáveis. Associados à FEG-MEV, esses resultados sustentam a viabilidade físico-química das biomembranas desenvolvidas.

Nos ensaios *in vivo*, as membranas contendo PPTN apresentaram diferenças na retração cicatricial em determinados períodos experimentais, evidenciando influência da concentração dos peptídeos e do tempo de tratamento sobre esse parâmetro. A avaliação histológica demonstrou variações na resposta inflamatória, na neovascularização e na presença de fibroblastos entre os grupos e períodos analisados. Embora tenham sido observadas médias superiores de fibroblastos em alguns grupos tratados com PPTN, essas diferenças não foram estatisticamente significativas, não permitindo afirmar que os peptídeos estimularam diretamente sua proliferação ou recrutamento.

Em relação à deposição de colágeno, observou-se aumento significativo da quantidade de fibras entre o 7º e o 21º dia no grupo tratado com 1000 μg/mL de PPTN ($p = 0,0002$). Entretanto, as análises específicas de colágeno dos tipos I e III não demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, impossibilitando concluir que os PPTN promoveram maior maturação ou reorganização da matriz extracelular em comparação aos controles.

A avaliação imuno-histoquímica demonstrou diferenças significativas na expressão de TNF-α e IL-6 entre os grupos experimentais, com maior expressão dessas citocinas na formulação contendo 600 μg/mL de PPTN nos períodos avaliados e redução de seus níveis entre o 7º e o 14º dia. Esses resultados indicam alterações no perfil temporal de expressão dos mediadores inflamatórios avaliados, compatíveis com uma possível influência dos PPTN sobre a resposta inflamatória local. Entretanto, a avaliação isolada de TNF-α e IL-6 não permite estabelecer os mecanismos envolvidos nem comprovar uma resolução inflamatória mais eficiente.

Em conjunto, os resultados demonstram que a incorporação dos PPTN à matriz de quitosana modifica suas propriedades físico-químicas e está associada a alterações em determinados parâmetros do processo cicatricial. A formulação contendo 600 µg/mL apresentou resultados favoráveis em diferentes avaliações, embora não tenha demonstrado superioridade estatística em todos os desfechos investigados. Dessa forma, as biomembranas desenvolvidas apresentam potencial para futuras aplicações no tratamento de feridas, sendo necessários estudos complementares para investigar seus mecanismos de ação, a cinética de liberação dos peptídeos, a segurança e a eficácia em outros modelos experimentais e em condições clínicas.

REFERÊNCIAS

AAMODT, J. M. *et al.* Immunogenicity of bovine-derived collagens. **Tissue Engineering Part A**, v. 25, n. 7-8, p. 475-484, 2019.

ABASI, N. *et al.* Enhancement spectra resolution for spectrophotometric simultaneous determination of triamcinolone, neomycin, and nystatin based on continuous wavelet transform and first derivative transform in commercial ointment formulation. **Optik**, v. 226, p. 165315, 2021.

ABEL-SAYED, P. *et al.* Cell therapies for skin regeneration: An overview of 40 years of experience in burn units. **Swiss Medical Weekly**, v. 149, p. w20079, 2019.

ACAR, A. *et al.* Comparison of silver-coated dressing (Acticoat®), chlorhexidine acetate 0.5% (Bactigrass®) and nystatin for topical antifungal effect in Candida albicanscontaminated, full-skin-thickness rat burn wounds. **Burns**, v. 37, n. 5, p. 882-885, 2011.

ADERIBIGBE, B. Hybrid-based wound dressings: combination of synthetic and biopolymers. **Polymers**, v. 14, n. 18, p. 3806, 2022.

AHMAD, S. I. *et al.* Quitina e seus derivados: Propriedades estruturais e aplicações biomédicas. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 164, p. 526-539, 2020.

AIDAR UGRINOVICH, L. G. P. S. *et al.* Principais patógenos envolvidos em casos de sepse em pacientes queimados: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 15, n. 3, p. 164-168, 2016.

AL KHATEB, K. *et al.* In situ gel-forming systems based on Pluronic F127 for ocular drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 502, n. 1-2, p. 70-79, 2016.

ALAVI, M. *et al.* Antibacterial and wound healing activities of silver nanoparticles embedded in cellulose compared to other polysaccharides and protein polymers. **Cellulose**, v. 28, n. 13, p. 8295-8311, 2021.

ALEMDAROĞLU, C. *et al.* An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. **Burns**, v. 32, n. 3, p. 319-327, 2006.

ALJABALI, A. A. A. *et al.* Zinc oxide nanoparticle-loaded hydrogels improve burn wound healing and reduce bacterial infection. **International Journal of Nanomedicine**, [S. l.], v. 15, p. 5173-5185, 2020.

ALLER-GARRIDO, H. *et al.* Allogeneic mesenchymal stem cells, but not culture modified monocytes, improve burn wound healing. **Burns**, v. 40, n. 8, p. 1450-1458, 2014.

ALMADANI, Y. *et al.* Wound healing: a comprehensive review. **Seminars in plastic surgery**, v. 35, n. 03, p. 141-144, 2021.

ALMEIDA, I. F. *et al.* Chitosan-based biomaterials in wound healing: Mechanisms and clinical perspectives. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 180, p. 612-620, 2021.

ALVES, R. M. *et al.* Características e complicações associadas às queimaduras de pacientes em unidade de queimados. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 17, n. 1, p. 8-13, 2018.

ANDERSON, J. M. *et al.* Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, v. 20, n. 2, p. 86-100, 2008.

ANDRADE, M. G. L. *et al.* Evidências de alterações do processo de cicatrização de queimaduras em indivíduos diabéticos: revisão bibliográfica. **Rev Bras Queimaduras**, v. 12, n. 1, p. 42-48, 2013.

ANGSPATT, A. *et al.* Carboxymethylchitosan, alginate and tulle gauze wound dressings: a comparative study in the treatment of partial-thickness wounds. **Asian Biomedicine**, v. 5, n. 3, p. 4136, 2011.

ARANAZ, I. *et al.* Chitosan: an overview of its properties and applications. **Polymers**, v. 13, n. 19, p. 3256, 2021. DOI: 10.3390/polym13193256.

ASWATHY, S. H. *et al.* Commercial hydrogels for biomedical applications. **Heliyon**, v. 6, n. 4, 2020.

AZUMA, K. *et al.* Chitin, chitosan, and its derivatives for wound healing: old and new materials. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 6, n. 1, p. 104-142, 2015.

BAGHIROVA, L. *et al.* Evaluation of cell proliferation and wound healing effects of vitamin A palmitate-loaded PLGA/chitosan-coated plga nanoparticles: Preparation, characterization, release, and release kinetics. **ACS omega**, v. 8, n. 2, p. 2658-2668, 2023.

BAKSHI, P. S. *et al.* Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 1072-1083, 2020.

BARKAT, A. H. *et al.* Old Wine in new Bottles: Silver Sulfadiazine Nanotherapeutics for Burn Wound Management. **The International Journal of Lower Extremity Wounds**, v. 0, n. 0, 2023.

BAZAZ, M. R. *et al.* Pharmaceutical application of frog skin on full-thickness skin wound healing in mice. **Pharm. Biol.**, v. 51, p. 1600-1606, 2013.

BECERRA, J. *et al.* Chitosan-collagen-hydroxyapatite membranes for tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 33, art. 18, 2022. DOI: 10.1007/s10856-022-06643-w.

BECKMAN, J. M. *et al.* Complications associated with bacitracin powder in surgical wounds. **Journal of Neurosurgery: Pediatrics**, v. 16, n. 6, p. 719-725, 2015.

BHARDWAJ, D. *et al.* Multifunctional bilayer dressings: a next generation biomaterial for enhanced wound healing. **Biomaterials Science**, 2025, Advance Article. DOI: 10.1039/D5BM00095E.

BHATTARAI, N. *et al.* Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 83-99, 2010.

BOLGIANI, M. C. V. F. S. **Queimaduras condutas clínica e cirúrgicas**. 1. ed. São Paulo, SP: Atheneu, 2020.

BOONSONGRIT, Y. *et al.* Chitosan drug binding by ionic interaction. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 62, n. 3, p. 267-274, 2006.

BORENA, B. M. *et al.* Regenerative Skin Wound Healing in Mammals: State-of-the-Art on Growth Factor and Stem Cell Based Treatments. **Cell Physiol Biochem**, v. 36, p. 1-23, 2015.

BRAUMANN, C. *et al.* Clinical experiences derived from implementation of an easy to use concept for treatment of wound healing by secondary intention and guidance in selection of appropriate dressings. **International wound journal**, v. 8, n. 3, p. 253-260, 2011.

BROUGHTON, G. *et al.* Wound healing: an overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 117, n. 7 Suppl., p. 1e S-32e S, jun. 2006.

BRUM, I. V. *et al.* **Protocolo hospitalar de cuidados tópicos e curativos para lesões de pele com perda de continuidade em dermatoses graves**. 2023. Diss. – [s. n.], 2023.

BUHIMSCHI, C. S. *et al.* Myometrial wound healing post cesarean delivery in the MRL/MpJ mouse model of uterine scarring. **American Journal of Pathology**, v. 177, n. 1, p. 197-207, 2010.

CAETANO, G. F. *et al.* Chitosan alginate membranes accelerate wound healing. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 103, n. 5, p. 1013-1022, 2015.

CALIARI-OLIVEIRA, C. *et al.* Xenogeneic mesenchymal stromal cells improve wound healing and modulate the immune response in an extensive burn model. **Cell Transplantation**, v. 25, n. 2, p. 201-215, 2016.

CAMPBELL JR., D. R. *et al.* Engineering tissue-informed biomaterials to advance pulmonary regenerative medicine. **Frontiers in medicine**, v. 8, p. 647834, 2021.

CAMPEBELL, R. C. *et al.* Evaluation of Bacterial Cellulose/Alginate-Based Hydrogel and Frog Skin Dressings in Equine Skin Wound Healing. **Gels**, v. 11, n. 2, p. 107, 2025.

CAÑEDO, D. *et al.* Skin acute wound healing: a comprehensive review. **International journal of inflammation**, n. 1, p. 3706315, 2019.

CARDOSO, R. R. *et al.* Positive Effect of Peptides Obtained from Nile Tilapia (Oreochromis niloticus) on Inflammation Regulation and Wound Healing. **Cosmetics**, v. 11, n. 4, p. 133, 2024.

CARVALHO, F. S. Nanotechnology-based Polymeric Bio(muco)Adhesive Platforms for Controlling Drug Delivery - properties, Methodologies and Applications. **Ciência e Tecnologia**, v. 24, n. 2, p. 203-213, 2014.

CASTRO, I. J. *et al.* Polylactic acid and polycaprolactone nanocomposites for subdermal tissue regeneration. **Prospectiva**, v. 22, n. 2, 2024. ISSN 1692-8261.

CHENG, Y. *et al.* Sponges of Carboxymethyl Chitosan Grafted with Collagen Peptides for Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 07, p. 3890-3917, 2019.

CHENITE, A. *et al.* Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. **Biomaterials**, v. 21, n. 21, p. 2155-2161, 2000.

CHEREDDY, K. K. *et al.* Combined effect of PLGA and curcumin on wound healing activity. **Journal of controlled release**, v. 171, n. 2, p. 208-215, 2013.

CHEREDDY, K. K. *et al.* PLGA nanoparticles loaded with host defense peptide LL37 promote wound healing. **Journal of Controlled Release**, v. 194, p. 138-147, 2016.

CHOI, H. S. *et al.* Targeted near-infrared fluorescence imaging for regenerative medicine. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 5, p. 433-442, 2019.

COSTA, R. O. R. *et al.* Swelling behavior of chitosan membranes incorporated with bioactive peptides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 137, p. 1084-1092, 2019.

CROMPTON, R. *et al.* Oestrogen promotes healing in a bacterial LPS model of delayed cutaneous wound repair. **Lab. Investig.**, v. 96, p. 439-449, 2016.

DAL PONTE, E. **Efeitos de membranas eletrofiadas de quitosana na caracterização de feridas em ratos**. 2021. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, 2021.

DARBY, I. A. *et al.* Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 7, p. 301-311, 2014.

DASH, M. *et al.* Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n. 8, p. 981-1014, 2011.

DAVE, U. *et al.* Applications of Chitin in Medical, Environmental, and Agricultural Industries. **J. Mar. Sci. Eng.**, v. 9, p. 1173, 2021.

DEVERNOIS, E.; CORADIN, T. Synthesis, characterization and biological properties of type I collagen–chitosan mixed hydrogels: a review. **Gels**, v. 9, n. 7, art. 518, 2023. DOI: 10.3390/gels9070518.

DHIVYA, S. *et al.* Wound dressings – a review. **BioMedicine**, v. 5, n. 4, p. 22, 2015.

DHOOGHE, P. *et al.* Reduction of burn progression with topical delivery of anti-TNF-α–hyaluronic acid conjugates. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 101A, n. 5, p. 1228-1235, 2013.

DIEHR, S. *et al.* Do topical antibiotics improve wound healing? **Journal of family practice**, v. 56, n. 2, 2007.

DOCHERTY, J. Understanding the elements of a holistic wound assessment. **Nurs Stand**, v. 35, n. 10, p. 69-76, 30 Sept. 2020.

DRAELOS, Z. D. *et al.* A comparison of post-procedural wound care treatments: do antibiotic-based ointments improve outcomes? **J Am Acad Dermatol**, v. 64, n. 3 suppl, p. S23-S29, 2011.

EL AYADI, A. *et al.* Current approaches targeting the wound healing phases to attenuate fibrosis and scarring. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 3, p. 1105, 2020.

ELBIALY, A. *et al.* A smart scaffold composed of three-dimensional printing and electrospinning techniques and its application in rat abdominal wall defects. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 11, p. 533, 2020.

ELLIS, S. *et al.* Immunology of wound healing. **Current dermatology reports**, v. 7, p. 350-358, 2018.

EMING, S. A. *et al.* Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 514-525, 2007.

ESKANDARINIA, A. *et al.* A propolis enriched polyurethane-hyaluronic acid nanofibrous wound dressing with remarkable antibacterial and wound healing activities. **International journal of biological macromolecules**, v. 149, p. 467-476, 2020.

ESMAEILI, A. *et al.* Xenograft-based skin substitutes: A critical review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, p. 105613, 2024.

FAKHARI, A. *et al.* Thermogelling properties of purified poloxamer 407. **Heliyon**, v. 3, n. 8, 2017.

FELICIAN, F. F. *et al.* Collagen from Marine Biological Sources and Medical Applications. **Chemestry & Biodiversity**, v. 15, n. 5, p. 132-139, 2018.

FOLEY, E. *et al.* Skin substitutes and dermatology: a review. **Current Dermatology Reports**, v. 2, p. 101-112, 2013.

FRANCO, P. *et al.* PCL/Mesoglycan devices obtained by supercritical foaming and impregnation. **Pharmaceutics**, v. 11, p. 631, 2019.

FRANCO, P.; DE MARCO, I. The use of Poly(N-vinyl pyrrolidone) in the delivery of drugs: a review. **Polymers (Basel)**, v. 12, n. 5, p. 1114, maio 2020. DOI: 10.3390/polym12051114.

FU, L. *et al.* Evaluation of bacterial nanocellulose-based uniform wound dressing for large area skin transplantation. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 5, p. 2995-3000, 2013. ISSN 0928-4931.

GÁL, P. *et al.* Open wound healing *in vivo*: Monitoring binding and presence of adhesion/growth-regulatory galectins in rat skin during the course of complete reepithelialization. **Acta Histochemica et Cytochemica**, v. 44, n. 5, p. 191-199, 2011.

GALLI, S. J. *et al.* Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. **Nat Immunol**, v. 12, p. 1035-1044, 2011.

GAO, M. *et al.* Regulation of inflammation during wound healing. **Frontiers in Pharmacology**, v. 15, 2024. DOI: 10.3389/fphar.2024.1345779.

GAO, T. *et al.* Patterned Polyvinyl Alcohol Hydrogel Dressings with Stem Cells Seeded for Wound Healing. **Polymers**, v. 11, n. 1, p. 171, 2019.

GARRIDO-CASTELLS, M. *et al.* Tissue Engineering and Regenerative Medicine 2019: The Role of Biofabrication - A Year in Review. **Tissue Engineering Part C: Methods**, v. 25, n. 1, p. 1-13, 2019.

GARRITY, C. *et al.* Tilapia fish skin treatment of third-degree skin burns in murine model. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 10, p. 512, 2023.

GHERMAN, S. P. *et al.* Biomaterials based on chitosan and polyvinyl alcohol as a drug delivery system with wound-healing effects. **Gels**, v. 9, n. 2, p. 122, 2023.

GIEREK, M. *et al.* Biological dressings as a substitutes of the skin in the treatment of burn wounds. **Polish Journal of Surgery**, v. 85, n. 6, p. 354-359, 2013.

GIULIANO, E. *et al.* Mucosal applications of poloxamer 407-based hydrogels: An overview. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 3, p. 159, 2018.

GOBI, R. *et al.* Biopolymer and synthetic polymer-based nanocomposites in wound dressing applications: a review. **Polymers**, v. 13, n. 12, p. 1962, 2021.

GOMATHY, M. A Systematic Review of Fish-Based Biomaterial on Wound Healing and Anti-Inflammatory Processes. **Advances in wound care**, v. 13, n. 12, p. 12-32, 2022.

GONZALEZ, A. C. O. *et al.* Wound healing – A literature review. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, n. 5, p. 614-620, 2016.

GORDON, A. J. *et al.* Evidence for healing diabetic foot ulcers with biologic skin substitutes: a systematic review and meta-analysis. **Annals of plastic surgery**, v. 83, n. 4S, p. S31-S44, 2019.

GREENHALGH, D. G. Topical antimicrobial agents for burn wounds. **Clinics in plastic surgery**, v. 36, n. 4, p. 597-606, 2009.

GUO, S.; DIPIETRO, L. A. Factors affecting wound healing. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 3, p. 219-229, 2010.

HADDAD, A. G. *et al.* Skin substitutes and bioscaffolds: temporary and permanent coverage. **Clinics in plastic surgery**, v. 44, n. 3, p. 627-634, 2017.

HALLER, H. L. *et al.* Porcine xenograft and epidermal fully synthetic skin substitutes in the treatment of partial-thickness burns: a literature review. **Medicina**, v. 57, n. 5, p. 432, 2021.

HARPER, D. *et al.* The physiology of wound healing. **Surgery (Oxford)**, v. 32, n. 9, p. 445-450, 2014.

HASAN, M. M. *et al.* Fabrication and characterization of chitosan-polyethylene glycol (Ch-Peg) based hydrogels and evaluation of their potency in rat skin wound model. **International Journal of Biomaterials**, v. 2021, art. 4877344, 2021. DOI: 10.1155/2021/4877344.

HASHEMI, S. S. *et al.* Effect of dermal fibroblasts and mesenchymal stem cells seeded on an amniotic membrane scaffold in skin regeneration: a case series. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 20, n. 12, p. 4040-4047, 2021.

HERNANDEZ, M. J. H. Effect of the incorporation of polycaprolactone (Pcl) on the retrogradation of binary blends with cassava thermoplastic starch (tps). **Polymers (Basel)**, v. 13, p. 1-19, 2021.

HEYER, K. *et al.* Effectiveness of advanced versus conventional wound dressings on healing of chronic wounds: systematic review and meta-analysis. **Dermatology**, v. 226, n. 2, p. 172-184, 2013.

HINZ, B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, n. 3, p. 526-537, 2007.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, supl., p. 18-23, 2012. DOI: 10.1016/j.addr.2012.09.010.

HONG, W. *et al.* Synthesis, construction, and evaluation of self-assembled nano-bacitracin A as an efficient antibacterial agent *in vitro* and *in vivo*. **International journal of nanomedicine**, p. 4691-4708, 2017.

HOSSAIN, S. M. *et al.* Hyaluronic acid: A key ingredient in the therapy of inflammation. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 10, p. 1012, 2021.

HU, P. *et al.* In-situ formable dextran/chitosan-based hydrogels functionalized with collagen and EGF for diabetic wounds healing. **Biomaterials Advances**, v. 133, 2022.

HUANG, A. H. *et al.* Tensile properties of engineered cartilage formed from chondrocyte- and MSC-laden hydrogels. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 16, n. 9, p. 1074-1082, 2008.

HUANG, H. N. *et al.* Use of tilapia piscidin 3 (TP3) to protect against MRSA infection in mice with skin injuries. **Oncotarget**, v. 6, n. 15, p. 12955-69, 30 May 2015.

HUANG, Y. *et al.* Collagen peptides from tilapia skin enhance cutaneous wound healing via activating the TGF-β1/Smad signaling pathway. **Food & Function**, v. 10, p. 7193-7204, 2019.

HUNT, J. A. *et al.* Hydrogels for tissue engineering and regenerative medicine. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 33, p. 5319-5338, 2014.

IJAOLA, A. O. *et al.* Polymeric biomaterials for wound healing applications: A comprehensive review. **Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition**, v. 33, n. 15, p. 1998-2050, 2022. DOI: 10.1080/09205063.2022.2088528.

ISHIBE, L. *et al.* Novel bilayer wound dressing based on electrospun gelatin/keratin nanofibrous mats for skin wound repair. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, 2017. DOI: (não disponível).

JACOBI, L. *et al.* Hyaluronic acid-based nanogels and hydrogels for controlled drug delivery. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1485, 2020.

JAYAKUMAR, R. *et al.* Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 3, p. 322-337, 2011.

JESCHKE, M. G. *et al.* Burn injury. **Nat Rev Dis Primers**, v. 6, n. 11, 2022.

JI, M. *et al.* Advances in chitosan-based wound dressings: modifications, fabrications, applications and prospects. **Carbohydrate Polymers**, v. 297, p. 120058, 2022. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.120058.

JIANG, Y. *et al.* Recent progress of food derived bioactive peptides: extraction, purification, function, and encapsulation. **Food Frontiers**, v. 5, n. 3, p. 1240-1264, 2024.

JIN, G. *et al.* Purification and identification of antioxidant peptides from simulated gastrointestinal digests of tilapia (Oreochromis niloticus) skin gelatin. **Food Chemistry**, v. 134, n. 2, p. 1340-1348, 2012.

JOHNSON, B. Z. *et al.* The role of IL-6 in skin fibrosis and cutaneous wound healing. **Biomedicines**, v. 8, n. 5, p. 101, 2020.

JOHNSON, K. E. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair. **Advances in Wound Care**, v. 3, n. 10, p. 647-661, 2014.

JOHNSTONE, B. *et al.* Tissue engineering for articular cartilage repair – The state of the art. **European Cells and Materials**, v. 25, p. 248-267, 2013.

JØRGENSEN, B. *et al.* The Silver Releasing Foam Dressing, Contreet Foam, Promotes Faster Healing of Critically Colonised Venous Leg Ulcers: A Randomised. Controlled Trial. 2005.

JUNKER, J. P. E. *et al.* Wound dressings – The clinical role of basic materials. **Plastic and Aesthetic Research**, v. 2, n. 5, p. 254-260, 2015. DOI: 10.4103/23479264.160891.

KALANTARI, K. *et al.* Wound dressings functionalized with silver nanoparticles: promises and pitfalls. **Nanoscale**, v. 12, n. 4, p. 2268-2291, 2020.

KAMOUN, E. A. *et al.* A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. **Journal of Advanced Research**, v. 8, n. 3, p. 217-233, 2017.

KARAPOLAT, S. *et al.* The Effects of Nitrofurazone on Wound Healing in Thoracoabdominal Full-thickness Skin Defects. **Wounds: a Compendium of Clinical Research and Practice**, v. 32, n. 5, p. 134-141, 2020.

KARIMI, K. *et al.* Acute Cutaneous Necrosis: A Guide to Early Diagnosis and Treatment. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 21, n. 5, p. 425-437, 2017.

KAUR, M. *et al.* Chitosan-based polymer blends for drug delivery systems. **Polymers**, v. 15, n. 9, art. 2028, 2023. DOI: 10.3390/polym15092028.

KEAN, T.; THANOU, M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 3-11, 2010.

KHIL, M. S. *et al.* Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 67, n. 2, p. 675-679, 2003.

KIM, D. J. *et al.* Cutaneous wound healing in aging small mammals: a systematic review. **Wound Repair Regen.**, v. 23, n. 3, p. 318-39, 2015.

KIM, W. S. *et al.* Wound healing effect of adipose derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. **Journal of Dermatological Science**, v. 48, n. 1, p. 15-24, 2007.

KOLIMI, P. *et al.* Innovative treatment strategies to accelerate wound healing: trajectory and recent advancements. **Cells**, v. 11, n. 15, p. 2439, 2022.

KRAKOWSKI, A. C. *et al.* Cadexomer iodine for wound treatment: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Wound Care**, v. 28, n. 5, p. 293-304, 2019.

KUMAR, P. T. S. *et al.* Chitosan and its derivatives for wound healing applications. **Current Pharmaceutical Design**, v. 27, n. 12, p. 1445-1455, 2021.

KURAKULA, M. *et al.* Pharmaceutical assessment of polyvinylpyrrolidone (PVP): as excipient from conventional to controlled delivery systems with a spotlight on COVID-19 inhibition. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 60, p. 102046, set. 2020. DOI: 10.1016/j.jddst.2020.102046.

KUS, K. J. B.; RUIZ, E. S. Wound Dressings – A Practical Review. **Curr Dermatol Rep.**, v. 9, n. 4, p. 298-308, 2020.

KUTSCH, J.; OTTINGER, D. Neonatal skin and chlorhexidine: a burning experience. **Neonatal Netw**, v. 33, p. 19-23, 2014.

LABIB, A.; WINTERS, R. Complex Wound Management. *In:* **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025 Jan–. PMID: 35015410. Jul 4, 2023.

LANDÉN *et al.* Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, p. 3861-3885, 2016.

LARANJEIRA, M. C. M. *et al.* Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 672-678, 2009.

LEANDRO, J. G. R.; SILVINO, A. C. Policaprolactona: Poliéster Com Potencial Aplicação Na Confecção De Curativos. **Revista Foco**, v. 17, n. 11, p. e6741-e6741, 2024.

LI, C. *et al.* Development of chitosan/peptide films: physical, antibacterial and antioxidant properties. **Coatings**, v. 10, n. 12, art. 1193, 2020. DOI: 10.3390/coatings10121193.

LI, Y. *et al.* Human acellular amniotic membrane as skin substitute and biological scaffold: a review of its preparation, preclinical research, and clinical application. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 9, p. 2249, 2023.

LIANG, Y. *et al.* Tilapia skin peptides promote wound healing: potential application in biomedical dressings. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 30, n. 1, p. 60-70, 2015.

LIMA, I. S.; AIROLDI, C. A thermodynamic investigation on chitosan–divalent cation interactions. **Thermochimica Acta**, v. 421, n. 1-2, p. 133-139, 2004.

LIMA JUNIOR, E. M. *et al.* Nile tilapia fish skin use in regenerative medicine: Current status and future perspectives. **Rev Bras Queimaduras**, v. 19, n. 1, p. 78-83, 2022.

LIN, Q. *et al.* The use of stem cells in burn wound healing: a review. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-10, 2015.

LINDFORD, A. J. *et al.* The dermis graft: another autologous option for acute burn wound coverage. **Burns**, v. 38, n. 2, p. 274-282, 2012.

LIPSKY, B. A.; HOEY, C. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds. **Clinical infectious diseases**, v. 49, n. 10, p. 1541-1549, 2009.

LIU, C. W. *et al.* Investigations on the wound healing potential of tilapia piscidin (TP) 2-5 and TP2-6. **Marine Drugs**, v. 20, n. 3, p. 205, 2022.

LIU, S. *et al.* Recent Progress on Hyaluronan-Based Products for Wound Healing Applications. **Polymers**, 2022.

LIU, T. *et al.* NF-κB signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 2, n. 023, p. 339-387, 2017.

LIU, Y. *et al.* Synthesis and biomedical applications of self-healing hydrogels. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, p. 569, 2018. DOI: 10.3389/fchem.2018.00569. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00569. Acesso em: 18 ago. 2025.

LIU, Y. *et al.* Development of hydrogel-based sprayable wound dressings for second- and third-degree burns. **Advanced NanoBiomed Research**, v. 1, n. 1, p. 2000144, 2021. DOI: 10.1002/anbr.202000144.

LIU, Y. *et al.* A Novel Pentapeptide From Tilapia Skin Gelatin Gastrointestinal Digests Which Inhibits Scar Formation Through Anti-Inflammatory and Antiangiogenesis. **Journal of Food Biochemistry**, v. 2024, n. 1, p. 8863473, 2024.

LOPES, A. L. *et al.* Pisicultura Cresce 5,93% em um ano marcado por semestres distintos. Pisicultura Peixe BR 2021. **Anuário Brasileiro da Pisicultura**, p. 12-15, 2021.

LOPES, M. S. *et al.* Desenvolvimento de sepse em pacientes queimados, uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, e3279119901, 2020.

LUNINA, N. A. *et al.* Zebrafish xenographs in oncology and personalized medicine. **Molecular Biology**, v. 58, n. 3, p. 381-401, 2024.

MACESIC, N.; WINGARD, J. R. N. **Kucers The Use of Antibiotics**. [S. l.]: CRC Press, 2017. p. 2646-2652.

MACHADO, H. A. *et al.* Release of a wound-healing agent from PLGA microspheres in a thermosensitive gel. **BioMed Research International**, v. 2013, n. 1, p. 387863, 2013.

MAHYUDIN, F. *et al.* Modern and classic wound dressing comparison in wound healing, comfort and cost. **Jurnal Ners**, v. 15, n. 1, p. 31-36, 2020.

MAJEED, A. *et al.* Development of sodium alginate/chitosan composite hydrogels for wound healing: physicochemical and biological evaluations. **Pharmaceuticals**, [S. l.], v. 17, n. 2, 2024.

MANDY, S. H. A. *et al.* New primary wound dressing made of polyethylene oxide gel. **Journal of Dermatologic Surgery & Oncology**, v. 9, n. 2, p. 153-155, 1983. DOI: 10.1111/j.1524-4725.1983.tb00778.x.

MANSILLA, E. *et al.* Outstanding survival and regeneration process by the use of intelligent acellular dermal matrices and mesenchymal stem cells in a burn pig model. **Transplantation Proceedings**, v. 42, n. 10, p. 4275-4278, 2010.

MARANDA, E. L. *et al.* The application of mesenchymal stem cells to treat thermal and radiation burns. **Burns**, v. 43, n. 4, p. 517-530, 2017.

MARTIN, P. *et al.* Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. **British Journal of Dermatology**, v. 173, n. 2, p. 370-378, 2015.

MARTINI, C. A. N. *et al.* Comparative analysis of the effects of Copaifera multijuga oilresin and nitrofurazona in the cutaneous wound healing process. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 43, n. 6, p. 445-451, 2016.

MATHEW-STEINER, S. *et al.* Collagen in wound healing. **Bioengineering**, v. 8, n. 5, p. 63, 2021.

MC KNIGH, G. T. *et al.* Physiology of the skin. **Surgery (Oxford)**, v. 42, n. 11, p. 788-792, 2024. ISSN 0263-9319.

MEDEIROS, M. M. L. *et al.* A Influência Das Polineuropatias Diabéticas Na Cicatrização Das Feridas: Uma Revisão Integrativa. **Revista Contemporânea**, v. 4, n. 9, e5861, 2024.

MEI, T. *et al.* Collagen Peptides Isolated from Salmo salar and Tilapia Nilotica Skin Acellerate Wound Healing by Altering Cutaneous Microbiome via Upregulate NOD2 and BD14. **Agriculture Food and Chemestry**, v. 68, n. 6, p. 1621-1633, 2020.

MI, F. L. *et al.* Fabrication and characterization of sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing. **Biomaterials**, v. 22, p. 165-173, 2001.

MILAGRES, A. O. *et al.* O uso da pele de Tilápia do Nilo como curativo oclusivo temporário no tratamento de queimaduras térmicas: revisão sistemática. **Interdisciplinary Journal Of Ciências Médicas**, v. 6, n. 2, p. 60-67, 2022.

MOGOSANU, G. D.; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 127-136, 2013. ISSN 0378-5173.

MOHANDAS, A. *et al.* Wound healing potential of chitosan-based biomaterials loaded with collagen peptides in murine models. **Materials Science and Engineering: C**, v. 132, p. 112527, 2022.

MOLINIER, C. E. *et al. in vivo* Confocal Raman Microspectroscopy of the Human Skin: Highlighting of Spectral Markers Associated to Aging via a Research of Correlation between Raman and Biometric Mechanical Measurements. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 407, p. 8363-8372, 2015.

MORAES, F. C. A. *et al.* Nile Tilapia skin xenograft versus silver-based dressings in the management of partial-thickness burn wounds: a systematic review and meta-analysis. **Journal of clinical medicine**, v. 13, n. 6, p. 1642, 2024.

MOREIRA, V. M. *et al.* Pentoxifylline/chitosan films on wound healing: *in vitro*/*in vivo* evaluation. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 4, art. 1122, 2023. DOI: 10.3390/pharmaceutics15041122.

MOURA, L. I. F. *et al.* Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment - A review. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 7, p. 7093-7114, 2013.

MUKTA, N. A. *et al.* Effect of core-sheath bi-polymeric scaffolds fabricated from acidsoluble collagen and poly (lactic acid) derivatives on wound healing. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 141, n. 28, p. 10-23, 2024.

MURPHY, K. C. *et al.* Engineering fibrin hydrogels to promote the wound healing potential of mesenchymal stem cell spheroids. **Acta Biomaterialia**, v. 64, p. 176-186, 2017.

MUZZARELLI, R. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. **Carbohydr Polym**, v. 76, n. 2, p. 167-182, 2009.

NAGARKAR, R.; JATIN, P. Polyvinyl alcohol: a comprehensive study. **Acta Sci. Pharm. Sci**, v. 3, n. 4, p. 34-44, 2019.

NANDHINI, J. *et al.* Advancing engineered approaches for sustainable wound regeneration and repair: Harnessing the potential of green synthesized silver nanoparticles. **Engineered Regeneration**, v. 5, n. 3, p. 306-325, 2024.

NAPAVICHAYANUN, S. *et al.* The safety and efficacy of bacterial nanocellulose wound dressing incorporating silk sericin and polyhexamethylene biguanide for wound treatment. **Archives of Dermatological Research**, v. 308, n. 2, p. 123-132, 2016.

NEUMAN, M. G. *et al.* Hyaluronic acid and wound healing. **Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences**, v. 18, n. 1, p. 53-60, 2015.

NGONDA, F. Evaluation of the wound healing potential of Trichodesma zeylanicum (Burm. f.) formulation in excision wounds in albino rats. **Annual Research & Review in Biology**, v. 4, n. 6, p. 828, 2014.

NOGA, E. *et al.* Piscidin 4, a novel member of the piscidin family of antimicrobial peptides. **Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.**, v. 152, n. 4, p. 299-305, 2021.

NOOR, A. *et al.* Dressings for burn wound: a review. **J Mater Sci**, v. 57, p. 6536-6572, 2022.

NOSBAUM, A. *et al.* Cutting edge: regulatory T cells facilitate cutaneous wound healing. **J Immunol**, v. 196, p. 2010-2014, 2016.

NYAME, T. T. *et al.* Clinical applications of skin substitutes. **Surgical Clinics**, v. 94, n. 4, p. 839-850, 2014.

NYAMWEYA, N. N. Applications of polymer blends in drug delivery. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, art. 18, 2021. DOI: 10.1186/s43094-020-00167-2.

OKUNO, E. C. *et al.* Candida parapsilosis isolates from burn wounds can penetrate an acellular dermal matrix. **Microb Pathog**, v. 118, p. 330-335, May 2018.

OUYANG, Q. Q. *et al.* Chitosan hydrogel in combination with marine peptides from tilapia for burns healing. **International journal of biological macromolecules**, v. 112, p. 1191-1198, 2018.

PÁDUA, A. S. *et al.* Electrospun poly (N-vinylpyrrolidone) membranes with Ag nanoparticles for wound dressings: Production and characterization. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 101, p. 106303, 2024.

PAKYARI, M. *et al.* Critical role of transforming growth factor beta in different phases of wound healing. **Advances in wound care**, v. 2, n. 5, p. 215-224, 2013.

PAL, R. *et al.* The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: a new paradigm for cell-free regeneration. **Cytotherapy**, v. 18, n. 1, p. 13-24, 2016.

PALLASKE, F. *et al.* The significance of collagen dressings in wound management: a review. **Journal of Wound Care**, v. 27, n. 10, p. 692-702, 2018.

PARK, S. N. *et al.* Characterization of porous polyurethanes with different hydrophilicities for wound dressing. **Biomaterials Research**, v. 20, n. 1, p. 1-7, 2016. DOI: 10.1186/s40824-016-0063-.

PAUCI, S. *et al.* Natural and synthetic polymeric biomaterials for application in wound management: a comprehensive review. **Polymers**, v. 15, n. 10, p. 1-26, 2023.

PEREIRA, A. M. M. B. **Insights into the mechanism of antimicrobial activity and its exploitation for developing new therapies against clinically relevant bacteria**. 2020. Tese (Doutorado) – Universidade do Minho, Portugal, 2020.

PEREIRA, R. F. *et al.* Regenerative medicine: from protocols to patient care. *In:* STEINHOFF, G. (ed.). **Regenerative medicine – from protocol to patient**. Cham: Springer, 2016. p. 203-232.

PERUGINI, P. *et al.* Study on glycolic chitosan as delivery system for antitumor drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 257, n. 1-2, p. 153-160, 2003.

PHAM, C. H. *et al.* The role of collagenase ointment in acute burns: A systematic review and meta-analysis. **Journal of wound care**, v. 28, n. Sup2, p. S9-S15, 2019.

POZZOLINI, M. *et al.* Photoprotective, and Wound-Healing Properties of CollagenDerived Peptides from the Marine Sponge Chondrosia reniformis. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute**, v. 16, n. 12, p. 465-477, 2018.

QIU, X. *et al.* Zwitterionic dextran hydrogels as wound dressing materials with excellent healing activities. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 6, p. 7060-7069, 2021.

RAIMER, D. W. *et al.* Porcine xenograft biosynthetic wound dressings for the management of postoperative Mohs wounds. **Dermatology online journal**, v. 17, n. 9, 2021.

RANGATCHEW, F. *et al.* Mesenchymal stem cell therapy of acute thermal burns: A systematic review of the effect on inflammation and wound healing. **Burns**, v. –, p. –, 2020.

REDDY, N.; YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 702-711, 2020.

RHIM, J. W. *et al.* Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial properties. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 3, p. 554-560, 2013.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: properties and applications. **Prog Polym Sci**, v. 31, n. 7, p. 603-632, 2006.

RODRIGUES, A. *et al.* Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial activity, bioadhesion, biocompatibility, and fibrogenesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 100, p. 71-81, 2014.

RODRIGUES, M. *et al.* Wound healing: a cellular perspective. **Physiological Reviews**, v. 99, n. 1, p. 665-706, 2019.

RODRIGUEZ, G. *et al.* Synthetic polymeric scaffolds design and fabrication for skin regeneration. 2021.

RONGTHONG, P. *et al.* Chitosan/starch/gelatin hydrogels with silver nanoparticles for wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 192, p. 612-620, 2021.

RUSZCZAK, Z. Effect of collagen matrices on dermal wound healing. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 55, n. 12, p. 1595-1611, 2003.

SAHEBI, S. *et al.* Preparation and characterization of chitosan–sodium alginate–silver nanoparticle films for wound dressing applications. **Gels**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. 427, 2023.

SAIFZADEH, S. *et al.* Biopolymer-based wound healing scaffolds with antioxidant and angiogenic properties. **Polymers**, v. 13, n. 17, p. 2933, 2021.

SANTOS, E. A. *et al.* Quitosana e suas aplicações em filmes biodegradáveis com aditivos bioativos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 2020.

SANTOS, F. S. *et al.* Avaliação da atividade bioativa e expressão de fatores de crescimento em nanomateriais para engenharia tecidual. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 106, n. 5, p. 1234-1245, 2018.

SARAIVA, M. M. *et al.* Alginate/polyvinyl alcohol films for wound healing: Advantages and challenges. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 111, n. 1, p. 220-233, 2023.

SARTORI, F. F. *et al.* Aplicação de esponjas de prata iônica no paciente queimado pediátrico. relato de caso. **Rev Bras Queimaduras**, v. 17, n. Supl, p. 1-82, 2018.

SASAKI, M. *et al.* Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell types. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 4, p. 2581-2587, 2008.

SASTRI, N. C. A. A. *et al.* A comparative study of full-thickness wound healing in rats using Nile tilapia skin and fresh human amnion. **Bali Medical Journal**, v. 11, n. 3, p. 1945-1952, 2022.

SCHAPER, N. C. *et al.* IWGDF Practical guidelines on the prevention and management of diabetic foot disease. **Diabetes Metab Res Rev.**, v. 36, n. S1, e3266, 2020.

SCHMITZ, M. *et al.* Wound treatment costs comparing a bio-cellulose dressing with moist wound healing dressings and conventional dressings. **Wound Medicine**, v. 6, p. 11-14, 2014.

SCHNABL, K. B. *et al.* Green additives in chitosan-based bioplastic films: physical, mechanical, and chemical properties. **ChemSusChem**, v. 16, n. 20, art. e202300585, 2023. DOI: 10.1002/cssc.202300585.

SCHREML, S. *et al.* Wound healing in the 21st century. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 63, n. 5, p. 866-881, 2010.

SCHULTZ, G. S. *et al.* Dynamic reciprocity in the wound microenvironment. **Wound Repair Regen**, n. 2, p. 134-148, 2011. MED: 21362080.

SEATON, M. *et al.* Porcine Models of Cutaneous Wound Healing. **ILAR Journal**, v. 56, n. 1, p. 127-138, 2015.

SEBASTIAN, A. *et al.* Acceleration of cutaneous healing by electrical stimulation: degenerate electrical waveform down-regulates inflammation, up-regulates angiogenesis and advances remodeling in temporal punch biopsies in a human volunteer study. **Wound Repair Regen**, v. 19, p. 693-708, 2011.

SEIDI, F. *et al.* Chitosan-based blends for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1818-1850, 2021. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.003.

SENGUPTA, S. *et al.* The principles of directed cell migration. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 22, n. 8, p. 529-547, 2021.

SHAH, J. *et al.* Recent advancements in chitosan-based biomaterials for wound healing. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 16, n. 2, p. 45, 2025. DOI: 10.3390/jfb16020045.

SHAHIN, H. *et al.* Dextran hydrogel scaffolds enhance angiogenic responses and promote complete skin regeneration during burn wound healing. **Burns & Trauma**, v. 8, p. 1-13, 2020.

SHERMAN, R. A. Maggot therapy takes us back to the future of wound care: new and improved maggot therapy for the 21st century. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 3, n. 2, p. 336-344, mar. 2009.

SHI, C. *et al.* Recent advances in synthetic wound dressings: A mini review. **Biomedicines**, v. 9, n. 9, p. 1235, 2021. DOI: 10.3390/biomedicines9091235.

SILVA, L. F. *et al.* Biopolymeric films containing peptides: Advances and challenges for wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 205, p. 279-292, 2022.

SILVA, T. H. *et al.* Marine origin collagens and their potential in regenerative medicine: Biomedical properties and biofabrication strategies. **Marine Drugs**, v. 18, n. 12, p. 622, 2020.

SILVEIRA, R. B. *et al.* Desenvolvimento de membrana eletrofiada antbacteriana de policaprolactona (PCL) e nanopartículas de ZnO para aplicação em reparo tecidual. 2024.

SINGH *et al.* The physiology of wound healing. **Surgery (Oxford)**, v. 35, n. 9, p. 473-477. N. 2017.

SIVATHASAN, N. K.; RAMAMURTHY, R. S. P. Chemical burns associated with chlorhexidine-alcohol solution: an avoidable complication? **J Burn Care Res**, v. 31, p. 833, 2010.

SKÓRKOWSKA-TELICHOWSKA, K. *et al.* Wound coverage by the linen dressing accelerates ulcer healing. **Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii**, v. 38, n. 5, p. 827-841, 2021.

SMITH, F.; SHARP, A. Undertaking a person-centred assessment of patients with chronic wounds. **Nurs Stand**, v. 34, n. 10, p. 77-82, 27 Sept. 2019.

SMITH, J. *et al.* Advances in interactive and bioactive wound dressings: A comprehensive review of materials and clinical applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 108, n. 6, p. 2223-2237, 2020.

SMITH, T. J. *et al.* A suction blister model reliably assesses skin barrier restoration and immune response. **J Immunol Methods**, v. 417, p. 124-130, 2015.

SNYDER, R. J. *et al.* Macrophages: a review of their role in wound healing and their therapeutic use. **Wound Repair and Regeneration**, v. 24, n. 4, p. 613-629, 2016.

SOMAN, M. *et al.* Tilapia fish skin in medicine: a comprehensive review of its therapeutic potential. **Community Practitioner**, v. 21, n. 2, p. 234-252, 2024.

SONG, H. J. *et al.* Bioactive peptide-loaded chitosan hydrogels for enhanced wound healing. **Biomacromolecules**, v. 19, n. 12, p. 4708-4718, 2018.

SONG, W.-K. *et al.* Physicochemical and biocompatibility properties of type I collagen from the skin of Nile tilapia (Oreochromis niloticus) for biomedical applications. **Marine drugs**, v. 17, n. 3, p. 137, 2019.

SORG, H. *et al.* Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts. **European surgical research**, v. 58, n. 1-2, p. 81-94, 2017.

SORUSHANOVA, A. *et al.* The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development. **Adv. Mater.**, v. 31, e1801651, 2019.

SOSCIA, D. A. *et al.* Antibiotic-loaded PLGA nanofibers for wound healing applications. **Advanced Engineering Materials**, v. 12, n. 4, p. B83-B88, 2010.

SOUZA, T. *et al.* Tratamento De Feridas Em Cães E Gatos. 2021.

SPILLER, K. L. *et al.* Sequential delivery of immunomodulatory cytokines to facilitate the M1-to-M2 transition of macrophages and enhance vascularization of bone scaffolds. **Biomaterials**, v. 37, p. 194-207, 2017.

SRITHARADOL, R. *et al.* Development of a topical mupirocin spray for antibacterial and wound-healing applications. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 10, p. 1715-1728, 2017.

STOJADINOVIC, O. *et al.* Growth factors and cytokines in wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 16, n. 5, p. 585-601, 2008.

STREY, F. W. *et al.* Cutaneous adverse drug reaction associated with topical use of benzyl benzoate in a dog. **Ciência Rural**, v. 55, n. 4, p. e20240220, 2025.

SU, J. *et al.* Hemostatic and antimicrobial properties of chitosan-based wound healing dressings: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 306, pt. 2, p. 141570, 2025. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.141570.

SUN, G. *et al.* Dextran hydrogel scaffolds enhance angiogenic responses and promote complete skin regeneration during burn wound healing. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**, v. 108, n. 52, p. 20976-20981, dez. 2011.

SUN, L. *et al.* A collagen-based bi-layered composite dressing for accelerated wound healing. **Journal of Tissue Viability**, v. 31, n. 1, p. 180-189, fev. 2022. DOI: 10.1016/j.jtv.2021.09.003.

SUN, Y. *et al.* Electrospun fibers and their application in drug controlled release, biological dressings, tissue repair, and enzyme immobilization. **RSC advances**, v. 9, n. 44, p. 25712-25729, 2019.

TAN H, C. R. *et al.* Injectable in situ forming biodegradable chitosan–hyaluronic acid based hydrogels for cartilage tissue engineering. **Biomaterials**, v. 30, n. 13, p. 2499-2506, 2009. ISSN 0142-9612.

TANG, J. *et al.* Biocompatibility of Novel Type I Collagen Purified from Tilapia Fish Scale: An *in vitro* Comparative Study. **Biologic Medicine Ressearch International**, v. 15, 2015. DOI: 139476.

THEMA, K. *et al.* Evaluating alternatives to zinc-bacitracin antibiotic growth promoter in broilers: Physiological and meat quality responses. **Animals**, v. 9, n. 12, p. 1160, 2019.

TOMASEK, J. J. *et al.* Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 3, p. 349-363, maio 2002.

TONNENSEN, M. G. *et al.* Angiogenesis in wound healing. **J Investig Dermatol Symp Proc**, v. 5, n. 1, p. 40-46, 2000.

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

TOZETTO, R. *et al.* Study of the Antioxidant, Antimicrobial, and Wound Healing Properties of Raw Hydrolyzed Extract from Nile Tilapia Skin (Oreochromis niloticus). **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, n. 11, e202300863, 2023.

TRUCILLO, P. Drug Carriers: Classification, Administration, Release Profiles, and Industrial Approach. **Processes**, v. 9, p. 470, 2021.

TWILLEY, D. *et al.* Mupirocin promotes wound healing by stimulating growth factor production and proliferation of human keratinocytes. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 862112, 2022.

VARAEI, S. *et al.* Comparison of the effectiveness of Aloe Vera Gel with 2% Nitrofurazone ointment on the healing of superficial second-degree burns. Randomised clinical trial, 28. PREPRINT (Version 2) available at **Research Square**, 2020.

VARAPRASAD, K. *et al.* Alginate-based composite materials for wound dressing application: A mini review. **Carbohydr. Polym.**, v. 236, p. 116025, 2020.

VONDERMUHLL, S. *et al.* **Alginate-based hydrogels**: ionic crosslinking, gelation mechanism and biomedical applications. [S. l.]: IntechOpen, 2020.

VOWDEN, K. *et al.* Primeira linha de curativos interativos: revisão abrangente das evidências. **Advances in Wound Care Journal (AWC)**, 2019.

VYAS, K. S.; VASCONEZ, H. C. Wound Healing: Biologics, Skin Substitutes, Biomembranes and Scaffolds. **Healthcare (Basel)**, v. 2, n. 3, p. 356-400, 10 Sept. 2014.

WALLACE, H. A. *et al.* Wound healing phases. 2017.

WAN, X. *et al.* Narrative review of the mechanism of natural products and scar formation in wound repair. **Annals of translational medicine**, v. 10, n. 4, p. 236, 2022.

WANG, S. *et al.* Starch structure and functionality: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 12, p. 1984-2001, 2021.

WANG, Y. *et al.* A biomimetic composite bilayer dressing composed of alginate and fibroin for enhancing full-thickness wound healing. **Macromolecular Bioscience**, v. 22, n. 4, 2022. DOI: 10.1002/mabi.202100352.

WILD, T. *et al.* Basics in nutrition and wound healing. **Nutrition**, v. 26, n. 9, p. 862-866, 2010.

WILHELM, K. P. *et al.* Models of wound healing: an emphasis on clinical studies. **Skin Research and Technology**, v. 23, n. 1, p. 3-12, 2017.

WRIGHT, H. L. *et al.* Efects of IL-6 and IL-6 blockade on neutrophil function *in vitro* and *in vivo*. **Rheumatology**, v. 53, p. 1321-1331, 2014.

WU, Y. *et al.* Injectable and thermosensitive hydrogel composed of chitosan and collagen peptides for skin wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 153, p. 240-248, 2020.

WU, Z. *et al.* Wound dressings from naturally-occurring polymers: a review on homopolysaccharide-based composites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 302-313, 2018.

XIONG, X. *et al.* The wound healing effects of the Tilapia collagen peptide mixture TY001 in streptozotocin diabetic mice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 7, p. 2848-2858, 2020.

XIU, Q. *et al.* The dextrans as vehicles for gene and drug delivery. **Future Medicinal Chemistry**, revista, 2019.

XU, D. *et al.* Smart and bioactive electrospun dressing for accelerating wound healing. **Chemical Engineering Journal**, v. 496, p. 153748, 2024.

XU, R. *et al.* Recent Advances in Biodegradable and Biocompatible Synthetic Polymers Used in Skin Wound Healing. **Materials**, v. 16, n. 15, p. 5459, 2023.

XU, R. *et al.* Polysaccharide- and protein-based hydrogel dressings that enhance wound healing: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 280, p. 135482, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.135482.

XUE, M. *et al.* Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 3, p. 119-136, 2015. DOI: 10.1089/wound.2013.0485.

XUE, Y. *et al.* Scaffold-free, human mesenchymal stem cell-based tissue engineered blood vessels. **Scientific Reports**, v. 5, p. 15116, 2015.

YAMAMOTO, T. *et al.* Skin xenotransplantation: Historical review and clinical potential. **Burns**, v. 44, n. 7, p. 1738-1749, 2018.

YAN, X. *et al.* PEC films prepared from chitosan-alginate coacervates. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, n. 7, p. 941-946, 2000.

YANG, J. *et al.* Application and prospect of hydrogels in diabetic wound treatment. **archives preprint**, 2024. DOI: 10.48550/arXiv.2406.00297.

YI, H. *et al.* Efficacy assessment of mesenchymal stem cell transplantation for burn wounds in animals: a systematic review. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 11, p. 372, 2020.

YOUNG, A. *et al.* The physiology of wound healing. **Surgery (Oxford)**, v. 29, n. 10, p. 475-479, 2011. ISSN 0263-9319.

YOUSEF, H. *et al.* Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. *In:* **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. PMID: 29262154.

YU, W. *et al.* Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **Burns**, v. 39, n. 5, p. 1173-1183, 2013.

ZHANG, C. *et al.* Marine collagen peptides from tilapia skin attenuate inflammation and oxidative stress in mice with DSS-induced colitis. **Journal of Functional Foods**, v. 46, p. 10-18, 2018.

ZHANG, C. *et al.* Marine collagen-based biomaterials for skin wound healing. **Marine Drugs**, v. 19, n. 12, p. 703, 2021.

ZHANG, C. *et al.* Chitosan degradation products promote healing of burn wounds of rat skin. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 1002437, 2022.

ZHANG, J. *et al.* Antimicrobial activity and molecular mechanism of collagen-derived peptides from Nile tilapia skin. **Marine Drugs**, v. 18, n. 8, p. 389, 2020.

ZHANG, L. *et al.* Marine collagen peptides promote angiogenesis via upregulation of VEGF-A in endothelial cells. **Mar Drugs**, v. 17, n. 6, p. 398, 2019.

ZHANG, S. *et al.* A novel bilayer wound dressing composed of a dense polyurethane/propolis membrane and a biodegradable polycaprolactone/gelatin nanofibrous scaffold. **Polymers (Basel)**, 2020.

ZHANG, W. *et al.* Research progress and application of chitosan dressings in hemostasis: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 282, pt. 1, p. 136421, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.136421.

ZHANG, X. *et al.* Polyurethane-modified graphene oxide composite bilayer wound dressing with long-lasting antibacterial effect. **Journal of Controlled Release**, 2020.

ZHANG, X. *et al.* Bio-HyGs: Bioactive hydrogels. Emerging trends in drug delivery. **Polymers for Advanced Technologies**, 2025. DOI: 10.1002/pat.70132.

ZHANG, Y. *et al.* Anti-inflammatory activity of collagen peptides derived from sea cucumber in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells. 2010.

ZHONG, Y. *et al.* Natural polymer-based antimicrobial hydrogels without synthetic antibiotics as wound dressings. **Biomacromolecules**, v. 21, n. 8, p. 2983-3006, 2020.

ZHOU, T. *et al.* Electrospun tilapia collagen nanofibers accelerating wound healing via inducing keratinocytes proliferation and differentiation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 143, p. 415-422, 2019.

ZIMBA, B. *et al.* Utilizing tilapia fish skin biomaterial for burn wound dressing: A systematic review. **Scientific African**, v. 24, 2024. ISSN 2468-2276.

ZOGHI, N. *et al.* Characterization of minocycline loaded chitosan/polyethylene glycol/glycerol blend films as antibacterial wound dressings. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 138, n. 32, art. 50781, 2021. DOI: 10.1002/app.50781.

ZULKIFLEE, I. *et al.* Characterization of Dual-Layer Hybrid Biomatrix for Future Use in Cutaneous Wound Healing. **Materials**, v. 16, n. 3, p. 1162, 20.