

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**  
**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL**

**SAMUEL FREITAS BASTOS**

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICO - PATOLÓGICA DE REPARO TECIDUAL  
COM USO DE GEL CICATRIZANTE COMPOSTO DE PRÓPOLIS VERDE,  
ANDROGRAPHOLIDE E BAICALIN EM FERIDAS CUTÂNEAS DE SUÍNOS**

**BRASÍLIA / DF**  
**NOVEMBRO, 2022**

**SAMUEL FREITAS BASTOS**

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICO - PATOLÓGICA DE REPARO TECIDUAL  
COM USO DE GEL CICATRIZANTE COMPOSTO DE PRÓPOLIS VERDE,  
ANDROGRAPHOLIDE E BAICALIN EM FERIDAS CUTÂNEAS DE SUÍNOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL. ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CLÍNICA E CIRURGIA. LINHA DE PESQUISA: DESENVOLVIMENTO DE HIDROGÉIS CICATRIZANTES A BASE DE PRÓPOLIS, ANDROGRAPHOLIDE E BAICALIN.

**ORIENTADOR:** FÁBIO HENRIQUE BEZERRA XIMENES

**BRASÍLIA / DF  
NOVEMBRO, 2022**

**SAMUEL FREITAS BASTOS**

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA DE REPARO TECIDUAL EM PELE DE  
SUINOS UTILIZANDO GEL CICATRIZANTE COMPOSTO DE PRÓPOLIS  
VERDE, ANDROGRAPHOLIDE E BAICALIN**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. SUBMETIDA AO  
PROGRAMA DE PÓSGRADUAÇÃO EM SAÚDE  
ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE  
MESTRE EM SAÚDE ANIMAL

APROVADO POR:

---

FÁBIO HENRIQUE BEZERRA XIMENES, professor associado (Universidade de Brasília)  
(ORIENTADOR)

---

ANTÔNIO CARLOS LOPES CÂMARA, FAV – UNB (Universidade de Brasília)  
(EXAMINADOR)

---

PATRÍCIA FURTADO MALARD – GESTORA BIOCELL  
(EXAMINADORA)

**BRASÍLIA / DF**  
**NOVEMBRO, 2022**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por me dar oportunidade de trabalhar com o que gosto.

Agradeço aos meus pais Antônio Bastos e Gláucia Freitas que mesmo com dificuldades conseguiram criar três filhos e sempre nos incentivaram a estudar e trabalhar pois sem seu auxílio sei que nunca teria chegado tão longe.

Minha irmã Vívian Freitas (*in memoriam*) por tudo que fez por mim durante a minha vida, que no momento em que passei na prova do mestrado comemorou comigo mas infelizmente não conseguiu ver essa etapa cumprida.

Minha irmã Lílian Freitas que da mesma forma sempre foi meu suporte me ajudando e se preocupando comigo.

A minha companheira Sheila Taíza que está comigo desde o início todos os dias. Sem seu amor e companheirismo não conseguiria realizar nada.

Ao meu orientador Prof. Fábio Henrique Bezerra Ximenes por me conduzir pelo caminho acadêmico e ter paciência comigo.

Agradeço minha amiga Anna Beatriz Veltri por me ajudar a finalizar meu trabalho.

Aos meus amigos Kaíque Nogueira, Verônica Lourença, João Vitor Guedes, Marcel Passos, Lethícia Referino, Ana clara Barreto que passaram e venceram comigo todas as dificuldades que a execução desse trabalho.

Ao Marcelo Buzzi que me apresentou esta linha acadêmica e me deu todo suporte mesmo que de longe para executar esse projeto.

Agradeço todos os residentes, funcionários, tratadores e médicos veterinários do Hospital Veterinário da UNB.

Agradeço aos professores Simone e Leonel pelo excelente trabalho realizado com as amostras de tecido.

## RESUMO

Lesões de pele causam a dissolução da barreira protetora do corpo e vários fatores agressores como diabetes, contaminação, neuropatias e patologias vasculares podem causar dificuldade no fechamento espontâneo das feridas. Devido essas dificuldades o manejo correto da ferida é imprescindível para que possamos acelerar a cicatrização e evitar a cronicidade. Novos estudos são desenvolvidos com ativos fitoterápicos para controle de biofilme e aceleração do fechamento. A combinação dos ativos da Própolis, Andrographolide e Baicalin foram testadas separadas e se mostraram eficientes no controle bacteriano e cicatrização associados a citotoxicidade baixa. No presente estudo hidrogéis formulados com os ativos foram comparados com controles positivos comerciais e negativos de solução salina. O modelo excisional de cicatrização em suínos foi utilizado devido à similaridade fisiológica da pele com humanos. Dois suínos machos castrados e desverminados com 40 quilos foram utilizados para a realização das feridas excisionais de 20mm de diâmetro no dorso. Os curativos e avaliação das feridas foram realizados diariamente. As feridas foram fotografadas com gabarito a cada sete dias e amostras histológicas foram coletadas no E1 nos dias D14 e D28 e no E2 no D21. As feridas tratadas com hidrogéis fecharam de forma eficaz e na análise histológica apresentou melhor depósito de colágeno e epitelização que as demais, porém novos estudos devem ser conduzidos para confirmar sua eficácia.

**PALAVRAS-CHAVE:** Feridas, Modelo suíno, Feridas crônicas, Cicatrização

## **ABSTRACT**

Skin injuries cause dissolution of the body's protective barrier and several aggressive factors such as diabetes, contamination, neuropathies and vascular pathologies can cause difficulties in the spontaneous closure of wounds. Due to these difficulties, the correct management of the wound is essential so that we can accelerate healing and avoid chronicity. New studies are developed with phytotherapeutic actives for biofilm control and closure acceleration. The combination of Propolis, Andrographolide and Baicalin actives were tested separately and proved efficient in bacterial control and healing associated with low cytotoxicity. In the present study, hydrogels formulated with the actives were compared with commercial positive and saline negative controls. The excisional model of healing in pigs was used due to the physiological similarity of the skin with humans. Two castrated and dewormed male pigs weighing 40 kg were used to make excisional wounds measuring 20 mm in diameter on the back. Dressings and assessment of wounds were performed daily. Wounds were photographed with a template every seven days and histological samples were collected on E1 on D14 and D28 and on E2 on D21. The wounds treated with hydrogels closed effectively and in the histological analysis showed better collagen deposition and epithelialization than the others, but further studies must be conducted to confirm their effectiveness.

**KEYWORDS: Wounds, Porcine model, Chronic wounds, Healing.**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estruturas e camadas que compõem a pele.....	21
Figura 2	Marcação das feridas cirúrgicas.....	34
Figura 3	Punch fabricado para realizar as incisões. ....	34
Figura 4	Divulsão do tecido retirado.....	35
Figura 5	Hemostasia das feridas cirúrgicas.....	35
Figura 6	Curativo oclusivo.....	36
Figura 7	Suíno em recuperação anestésica com a roupa cirúrgica.....	36
Figura 8	Disposição das feridas E1 e E2 com os distanciamentos.....	33
Figura 9	Suíno posicionado na maca de contenção.....	38
Figura 10	Curativo oclusivo utilizado em cada ferida.....	39
Figura 11	Feridas ocluídas.....	39
Figura 12	Posição dos gabaritos.....	40
Figura 13	Feridas com exudato.....	41
Figura 14	MH2, B1 e D2 com hiperemia parcial.....	41
Figura 15	Crosta de coagulação central e debris.....	41
Figura 16	Tecido de granulação.....	42
Figura 17	Retração das feridas.....	42
Figura 18	Feridas com tecido de granulação do Ensaio 2 no D10.....	43
Figura 19	Feridas X, Y e Z com epitelização avançada.....	43
Figura 20	Fechamento das feridas no D21.....	43
Figura 21	Aferição de temperatura.....	44
Figura 22	Feridas em pele suína tratadas com a formulação A. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.....	49
Figura 23	Feridas em pele suína tratadas com a formulação B. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.....	50
Figura 24	Feridas em pele suína tratadas com a formulação C. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.....	50

Figura 25	Feridas em pele suína tratadas com a formulação D. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	51
Figura 26	Feridas em pele suína tratadas no grupo controle com solução salina. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	51
Figura 27	Feridas em pele suína tratadas com Plurogel®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	52
Figura 28	Feridas em pele suína tratadas com Medihoney ®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	52
Figura 29	Feridas em pele suína tratadas com Amerigel®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	53
Figura 30	Feridas em pele suína tratadas com Solução salina. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	54
Figura 31	Feridas em pele suína tratadas com Plurogel ®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	55
Figura 32	Feridas em pele suína tratadas com Amerigel®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	55
Figura 33	Feridas em pele suína tratadas com formulação W. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	56
Figura 34	Feridas em pele suína tratadas com formulação X . Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	56
Figura 35	Feridas em pele suína tratadas com formulação Z. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	57

Figura 36	Feridas em pele suína tratadas com formulação Y . Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução. ....	57
Figura 37	As características histológicas da pele intacta (réplica 1).....	61
Figura 38	Características histológicas da ferida tratada com IWD - a (réplica 1) - A1....	62
Figura 39	Características histológicas da ferida tratada com iwd-a (replicação 2) – A2.....	63
Figura 40	Características histológicas da ferida tratada com IWD - B (réplica 1) – B1.....	63
Figura 41	Características histológicas da ferida tratada com IWD-B (replicação 2) – B2.....	64
Figura 42	Características histológicas da ferida tratada com IWD-C (réplica 1) – C1.....	64
Figura 43	Características histológicas da ferida tratada com IWD-C (replicação 2) – C2.....	65
Figura 44	Características histológicas da ferida tratada com IWD-D (réplica 1) – D1. ...	65
Figura 45	Características histológicas da ferida tratada com IWD-D (replicação 2) – D2.....	66
Figura 46	Características histológicas da ferida tratada com Medihoney (réplica 1) - MH1.....	66
Figura 47	Características histológicas da ferida tratada com Medihoney (replicação 2) – MH2.....	67
Figura 48	Características histológicas da ferida tratada com Amerigel (réplica 1) – AMG 1. ....	67
Figura 49	Características histológicas da ferida tratada com Amerigel (replicação 2) – AMG2. ....	68
Figura 50	Características histológicas da ferida tratada com Plurogel (réplica 1) – PG1. ....	68
Figura 51	Características histológicas da ferida tratada com Plurogel (replicação 2) – PG2. ....	69
Figura 52	Características histológicas da ferida tratada com soro fisiológico (réplica 1) – SAL1.....	69
Figura 53	Características histológicas da ferida tratada com soro fisiológico (replicação 2) -SAL2.....	70
Figura 54	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – C19.....	71

Figura 55	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – C20.....	71
Figura 56	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – Z1.....	72
Figura 57	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – Z2.....	72
Figura 58	Características histológicas da pele intacta (réplica 3) – Z3.....	73
Figura 59	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – X1. ....	74
Figura 60	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – X2. ....	74
Figura 61	Características histológicas da pele intacta (réplica 3) – X3. ....	75
Figura 62	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) –Y 1. ....	76
Figura 63	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) –Y 2. ....	76
Figura 64	Características histológicas da pele intacta (réplica 3) –Y 3. ....	77
Figura 65	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) –W1 .....	77
Figura 66	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) –W2. ....	78
Figura 67	Características histológicas da pele intacta (réplica 3) –W3. ....	79
Figura 68	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) –PG1.....	79
Figura 69	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) –PG2.....	80
Figura 70	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – AMG1.....	80
Figura 71	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – AMG2.....	81
Figura 72	Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – SAL 1.....	81
Figura 73	Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – SAL 2.....	82

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Comparativo de redução das feridas Ensaio1. ....	59
Gráfico 2	Comparativo de redução das feridas Ensaio2. ....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Valores percentuais da ação de anti-biofilme, fator desbridante e hidratante ..	32
Tabela 2	Tabela de evolução de pesos dos suínos em relação com o tempo.....	48
Tabela 3	Tabela de gabarito com a distribuição dos tratamentos no ensaio 1.....	37
Tabela 4	Tabela de gabarito com a distribuição dos tratamentos no ensaio 2.....	38
Tabela 5	Evolução das retrações em mm <sup>2</sup> e % do Ensaio 1. ....	53
Tabela 6	Evolução das retrações em mm <sup>2</sup> e % do Ensaio 2. ....	58

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

%	Porcentagem
A	Tratamento hidrogel A
Amg	Amerigel®
AP	Andrographolide
B	Tratamento hidrogel B
BA	Baicalin
BID	Duas vezes ao dia
C	Tratamento hidrogel C
D	Dia do experimento
D	Tratamento hidrogel D
DAP	Doença arterial periférica
E1	Ensaio 1
E2	Ensaio 2
g	grama
GSH	Glutationa
IL	Interleucina
Image J	Software de leitura das áreas
IWD	Innovacorium wound dressing hydrogel
Kg	Quilograma
mg/kg	Miligramas por quilo
MH	Medhoney®
mm	Milímetros
mm <sup>2</sup>	Milímetros quadrados
NO	Óxido nítrico
NP	Neuropatia periférica
PAF	Fator ativador de plaquetas
PG	Plurogel®
PGE2	Prostaglandina E2
pH	Escala de acidez ou basicidade
PKC	Proteína quinase
PP	Própolis

QS	Quórum sensing
Sal	Solução salina 0,9%
SID	Uma vez ao dia
TGF $\beta$	Fator de crescimento transformante beta
TNF $\alpha$	Fator de crescimento tumoral alfa
TNF $\beta$	Fator de crescimento tumoral beta
tPA	Plasminogênio
UV	Ultra violeta
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial
W	Tratamento hidrogel W
X	Tratamento hidrogel X
Y	Tratamento hidrogel Y
Z	Tratamento hidrogel Z
$\mu\text{m}$	Micrómetro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>18</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS. ....</b>	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
4.1	ANATOMOFISIOLOGIA .....	20
4.1.1	Tecido tegumentar (pele) .....	20
4.1.2	Epiderme .....	21
4.1.3	Derme .....	22
4.1.4	Hipoderme.....	22
<b>5</b>	<b>FERIDA.....</b>	<b>23</b>
<b>6</b>	<b>PROCESSO DE REPARO TECIDUAL.....</b>	<b>24</b>
6.1	FASE INFLAMATÓRIA.....	24
6.2	FASE PROLIFERATIVA.....	24
6.3	FASE DE REMODELAÇÃO .....	25
<b>7</b>	<b>PRINCÍPIOS ATIVOS PRESENTE NA FORMULAÇÃO.....</b>	<b>26</b>
7.1	PRÓPOLIS .....	26
7.2	BAICALIN.....	27
7.3	ANDROGRAPHOLIDE .....	27
<b>8</b>	<b>MODELO SUÍNO .....</b>	<b>29</b>
8.1	COMPARAÇÃO ENTRE PELE SUÍNA E HUMANOS .....	29
<b>9</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
<b>10</b>	<b>CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE TRATAMENTO</b> <b>Erro! Indicador não definido.</b>	
<b>11</b>	<b>PROCEDIMENTO CIRÚRGICO DE REALIZAÇÃO DAS FERIDAS</b> <b>EXCISIONAIS DE PROFUNDIDADE TOTAL .....</b>	<b>32</b>
<b>12</b>	<b>CURATIVO E MANEJO DAS FERIDAS.....</b>	<b>37</b>
12.1	RETRAÇÃO DAS FERIDAS.....	39

12.2	COLETA DE DADOS E MATERIAL .....	44
12.2.1	Parâmetros ambientais .....	44
12.2.2	Parâmetros do suíno.....	44
12.2.3	Coleta de material histológico das feridas.....	45
12.2.4	Histologia.....	45
13	ANALISE ESTATÍSTICA .....	47
14	RESULTADOS.....	48
14.1	ÁREA DA FERIDA.....	58
14.2	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA FERIDA .....	60
15	CONCLUSÃO .....	86
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	87
	ANEXO I.....	Erro! Indicador não definido.

## 1 INTRODUÇÃO

Na espécie humana, cicatrização por segunda intenção de feridas leva a formação de uma cicatriz que é formada por tecido fibrótico. Camundongos e coelhos são animais que em experimentos de laboratório demonstram regeneração aprimorada mesmo quando existe uma lesão de 60% do dorso desses animais, regenerando até mesmo o folículo piloso, porém esses animais possuem uma característica denominada de pele solta, ou seja, não possuem muita conexão entre as estruturas da derme com a estruturas subdérmicas (WANG et al., 2004; LI et al., 2020). No entanto, existem espécies que possuem fortes conexões entre essas estruturas, como nos humanos, por isso é importante que em pesquisas utilizem animais com estruturas semelhantes, pois a capacidade regenerativa da pele é limitada (LI et al., 2020). Há vários anos os suínos tornaram-se relevantes para pesquisa biomédica principalmente por suas inúmeras semelhanças fisiológicas com os seres humanos. A pele suína quando comparada com a de roedores, têm mais aspectos semelhantes em questões fisiológicas e anatômicas, o que é questionando de porque os porcos são considerados modelos mais relevantes quando o estudo é sobre cicatrização de feridas em humanos (T.P. et al., 2001; SEATON; HOCKING; GIBRAN, 2015). Além da espécie animal ser fisiologicamente relevante para os estudos, é necessário também que as feridas sejam representadas com precisão a condição clínica humana (BARELLI et al., 2018).

O processo de cicatrização de feridas é um evento complexo que envolve uma série de eventos celulares e bioquímicos, incluindo a coagulação e hemostasia, inflamação, regeneração, migração e proliferação de células do parênquima e do tecido conjuntivo, síntese de proteínas da matriz extracelular, epitelização e remodelação do tecido conjuntivo que atua na contração da ferida e na deposição de tecido fibro-elástico formando a cicatriz (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018).

Como uma nova via de tratamento, os fitoterapêuticos são utilizados como substitutos por não apresentarem efeitos adversos. (ASTRADA et al., 2019). A própolis verde é um eficaz antimicrobiano que reduz o crescimento de bactérias patogênicas e previne doenças por ter atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antitumorais (ROCHA et al., 2022). O Andrographolide é produzido pela planta *Andrographis paniculata* e possui atividades anti-inflamatórias e anti-agregação plaquetária e potenciais propriedades inibitórias de crescimento de biofilme bacteriano (GRAÇA et al., 2020; ZHANG et al., 2020). O Baicalin, um fito composto ativo extraído da planta medicinal *Scutellaria baicalensis*, é

conhecido por inibir a formação de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* e potencializa os efeitos de vários antibióticos convencionais (MAO et al., 2021).

## **2 OBJETIVO GERAL**

Com base na pesquisa realizada a equipe de pós-graduação em saúde animal desenvolveu um experimento de modelo excisional em pele de suínos para testar hidrogéis formulados com base no andrographolide, baicalin e própolis (controle de hidrogel) comparadas com tratamentos comerciais (Medhoney®, Plurogel® e Amerigel como controles positivos) e solução salina (soro fisiológico 0,9% para controle negativo). Sendo utilizado análise histológica, para compara a eficácia dos tratamentos quanto a formação da cicatriz e o índice de retração de ferida.

### **3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

Através de fotos seriadas fazer a avaliação das feridas utilizando um programa que comparando o gabarito consegue realizar a mensuração da área lesionada e assim descobrir qual tratamento obteve cicatrização mais rápida.

De forma visual avaliar a evolução das feridas quanto fechamento, produção de debris, secreção, inflamação, coloração, dor e rubor.

Realizar o exame histológico das amostras coletadas de forma seriada para avaliar inflamação, epitelização, morfologia, e deposição de colágeno.

Avaliar os dados coletados e correlacionar com o melhor resultado.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

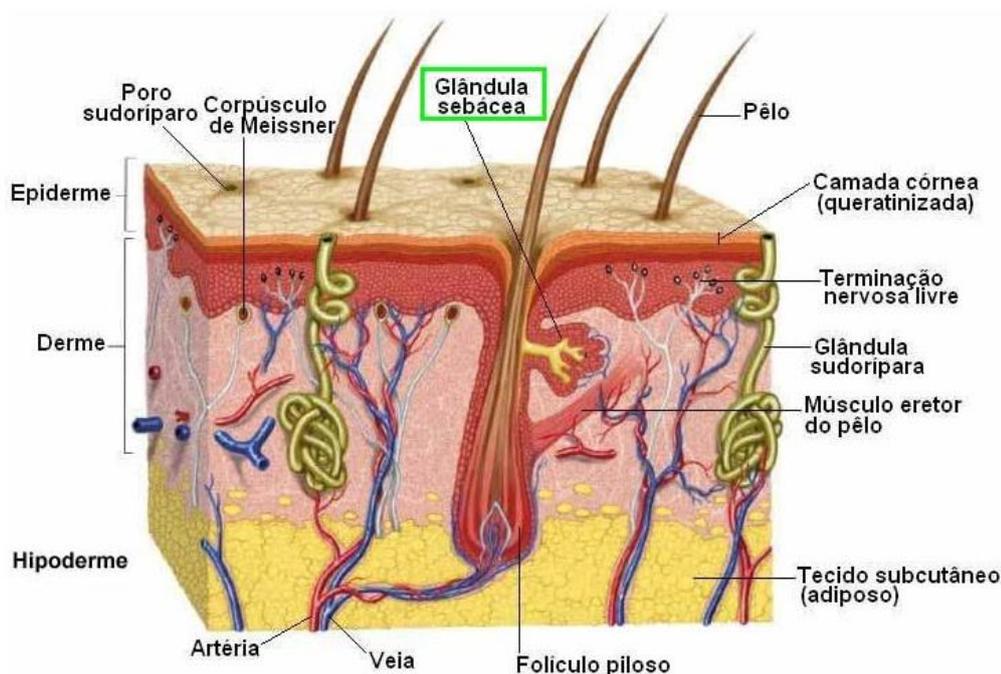
### 4.1 ANATOMOFISIOLOGIA

#### 4.1.1 Tecido tegumentar (pele)

A pele é um órgão complexo que recobre todo o corpo e possui propriedades físico-químicas que funcionam como barreira de defesa do corpo contra agentes externos. Devido ser o maior órgão do corpo, ela pode pesar até 15% do peso do indivíduo e separa o meio interno do meio externo, fazendo uma barreira seletiva, impermeável, protetora, e controladora de entrada e saída de eletrólitos. Como primeira linha de contato com o exterior temos o tecido de revestimento, que faz o processo de defesa imunológica contra agentes patológicos. Devido a capacidade de filtrar os raios ultravioletas ela consegue amenizar os danos causados pela fotossensibilização, queimaduras, envelhecimento e fotocarcinogênese. (DURSUN, 2012; BOER et al., 2016; LEUNG et al., 2016).

A estrutura é dividida em epiderme, derme e camada subcutânea possuindo várias estruturas (Figura 1). O estrato córneo é a camada mais superficial da pele e pode variar de espessura de acordo com a região do corpo. A termorregulação corporal é feita pela vascularização e glândulas sudoríparas. A sensibilidade ao calor, frio, dor, tato é feita por células nervosas específicas. A derme e a epiderme são as duas camadas mais superficiais e abaixo delas se encontra o subcutâneo (hipoderme) onde se localiza a camada de gordura que age como reserva energética, proteção e controle de temperatura (BOER et al., 2016; SHPICHKA et al., 2019).

Figura 1 — Estruturas e camadas que compõem a pele.



Fonte: [www.colegioweb.com.br/biologia/tecido-epitelial](http://www.colegioweb.com.br/biologia/tecido-epitelial)

#### 4.1.2 Epiderme

Constitui a camada exterior da pele e possui tecido epitelial queratinizado estratificado pavimentoso queratinizado de espessura entre 0,05mm a 1,5 mm. Os queratinócitos formam 95% da sua constituição e os melanócitos, células de Merkel e células de Langherans contribuem com os outros 5%. As células de Langerhans atuam fundamentalmente em reações imunes e as células de merkel não possuem função totalmente esclarecida. Não possui vasos sanguíneos e sua nutrição ocorre por difusão da junção epiderme/derme. A sua espessura é bastante variável de acordo com a área, sendo que as com pêlos são mais finas e as sem pelos são mais grossas, como palmas e solas (LANIGAN; ZAIDI, 2010; BOER et al., 2016; SHPICHKA et al., 2019).

A epiderme é constituída por cinco camadas e a camada basal é a mais importante por ser constituída por células cuboides, fazendo o limite entre a epiderme e a derme (CATARINA, 2018). A camada basal também é conhecida como camada germinativa e nela são encontradas a maior parte das células tronco da epiderme e acima dela se encontram as camadas espinhosa, granulosa, lúcida e a córnea. A lâmina basal liga a epiderme e a derme

através dos elementos de matriz celular como a laminína e colágeno tipo IV (BOER et al., 2016; CATARINA, 2018).

### **4.1.3 Derme**

É a camada mais flexível e elástica sendo constituída por fibras protéicas, terminações nervosas, órgãos sensoriais, glândulas, músculos eretores de pelo e pela alta vascularização, é responsável pela nutrição e termorregulação da pele. A espessura pode ser variável, mas na região dorsal é maior que na ventral podendo variar de 1mm a 4 mm. (BRINGEL, 2011; SUMMERFIELD; MEURENS; RICKLIN, 2015b; PICOLOTTO et al., 2019; JUNCOS BOMBIN; DUNNE; MCCARTHY, 2020). As células residentes (fibroblastos, macrófagos, mastócitos, plasmócitos e células adiposas) são formadas no tecido e nele permanecem, porém os leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e basófilos) atravessam os capilares e vênulas por diapedese. A derme possui duas camadas distintas sendo que a derme papilar e delgada é constituída por tecido conjuntivo frouxo e a camada reticular é composta por tecido conjuntivo denso não modelado (BRINGEL, 2011).

### **4.1.4 Hipoderme**

A hipoderme também é chamada de subcutâneo e composta principalmente por tecido adiposo e tecido conjuntivo frouxo e não faz parte da pele. Tem como origem a mesoderme e separa a derme da fáscia muscular. Tem como função principal a reserva de energia, proteção mecânica, termorregulação e fixação de estruturas (OLIVEIRA; DIAS, 2012; CATARINA, 2018; SHPICHKA et al., 2019).

## 5 FERIDA

Por definição, ferida é a dissolução de continuidade da barreira protetora (pele) e pode ser causada por lesão física, química ou térmica (O'CALLAGHAN et al., 2020). De acordo com a sua gravidade e tempo de fechamento, as feridas podem ser classificadas como agudas ou crônicas. Feridas agudas conseguem no prazo de oito a doze semanas passar por todas as fases de cicatrização, porém as crônicas são de difícil resolução, pois permanecem na fase inflamatória sendo incapazes de fazer a transição para as fases subsequentes podendo se estender por meses ou anos. Feridas crônicas não conseguem transpor a fase inflamatória devido a fatores agressores e destrutivos como falta de vascularização, infecção, doenças crônicas (diabetes), imunossupressão e tratamento inadequado da ferida (OLIVEIRA; DIAS, 2012; DAI; SHIH; KHACHEMOUNE, 2020; O'CALLAGHAN et al., 2020).

A Diabetes *Mellitus* ocorre em decorrência de alterações metabólicas que causam elevação da glicemia prejudicando a atuação/ produção de insulina. As feridas crônicas na Diabetes Mellitus são causadas pela Neuropatia Periférica (NP) e pela Doença Arterial Periférica (DAP). No organismo a hiperglicemia de forma contínua e por vários anos provoca a perda progressiva de sensibilidade somatosensorial dos nervos periféricos devido a disfunção nas bainhas de mielina que prejudica a comunicação entre os neurônios (VIEIRA; ARAÚJO, 2018; ACCESS, 2022; RODR; HECHAVARRIA; HERN, 2022). A Doença Arterial Periférica advém da formação de placas de arteriosclerose e disfunção endotelial que por sua vez causa estreitamento, estenoses e obstrução da luz arterial levando a hipóxia do tecido periférico (FERREIRA; BARROSO; DUARTE, 2010; FEDERAL; PAULISTA, 2022).

## 6 PROCESSO DE REPARO TECIDUAL

A capacidade autorregenerativa de feridas visa substituir os componentes teciduais perdidos e de forma rápida impedir a invasão de patógenos através da recomposição funcional do tecido lesionado. Após ocorrer a lesão três fases distintas são desencadeadas sendo que elas ocorrem de forma sobreposta, contínua e temporal e resultam de eventos tissulares e celulares. As fases da cicatrização são: fase inflamatória, fase proliferativa e fase de deposição de matriz celular e remodelação (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

### 6.1 FASE INFLAMATÓRIA

Logo após a lesão das células endoteliais do organismo, ocorre uma série de processos para que haja a reparação tecidual. Essa fase é conhecida como inflamatória e apresenta os sinais clínicos de dor, rubor, calor, edema e perda de função. Esses estágios da cicatrização compreendem o período de um a três dias (CATARINA, 2018; NURHASTUTI, 2019).

Na lesão ocorre o cisalhamento do tecido epitelial e junto ocorre a ruptura de vasos e para que não ocorra perda excessiva de sangue, o primeiro mecanismo fisiológico para cessar o extravasamento é a hemostasia desses vasos. O tamponamento se dá pela liberação de tromboxano A<sub>2</sub> e prostaglandinas que fazem vasoconstrição e concomitantemente a ativação de fatores plaquetários que formam trombos nos vasos. Após o controle da hemorragia os constituintes circulatórios fornecem matriz preliminar para a migração de células de reparação. Após a hemostasia os fatores inflamatórios causam vasodilatação na ferida promovendo o aumento da permeabilidade celular e com isso acontece a migração de neutrófilos, macrófagos e polimorfonucleares (BOBBO MORESKI; GIACOMINI BUENO; VIEIRA DE SOUZA LEITE-MELLO, 2018; NURHASTUTI, 2019; LALOZE; FIÉVET; DESMOULIÈRE, 2021).

### 6.2 FASE PROLIFERATIVA

Essa fase é formada por quatro etapas fundamentais: reepitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno e compreendem o período de quatro a vinte e um dias. Nesse período haverá o aumento da produção de colágeno e a matriz extracelular é trocada por tecido conjuntivo mais resistente e elástico. Na epitelização caso

não ocorra lesão na lâmina basal as células epiteliais se deslocam para a superfície da ferida com o intuito de fechá-la. Porém, se houver dano na membrana basal, as células responsáveis pela epitelização serão produzidas na borda da ferida por proliferação (CHOUHAN; MANDAL, 2020).

Na angiogênese, duas citocinas estão correlacionadas sendo uma o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e outra pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ). Devido a hipóxia tecidual e a diminuição do Ph os tromboxanos e prostaglandinas interagem com os macrófagos e produzem duas citocinas, o fator de crescimento vascular endotelial e o fator de necrose tumoral alfa, que servem como marcadores quimiotáticos e potente mitógeno das células endoteliais que migram para formar novos vasos (CHOUHAN; MANDAL, 2020; DAI; SHIH; KHACHEMOUNE, 2020).

O tecido de granulação tem esse nome devido a sua forma granulada e avermelhada e para sua formação os fibroblastos secretam fibronectina formando uma matriz frouxa que sustenta os componentes (Fibroblastos, macrófagos, colágeno e novos vasos). Cada componente tem uma função específica sendo que os macrófagos retiram fragmentos de necrose, os neovasos fazem aporte sanguíneo e nutrição do tecido mesenquimal e os fibroblastos depositam colágeno para reparação. Gradativamente as fibras colágenas são depositadas e se tornam substrato para migração de células epiteliais.

A contração da ferida acontece para que as bordas se aproximem e haja a reparação tecidual mais rápida e através do fator de crescimento transformante beta (TGF $\beta$ ) os que estimulam os fibroblastos a produzir colágeno de tipo I e modificá-los em miofibroblastos, sendo estes responsáveis pela tração das bordas. Após essa etapa os macrófagos diminuem a sua quantidade dando espaço para os queratinócitos que são células hiperproliferativas e migratórias (CAMPOS; BORGES-BRANCO; GROTH, 2007; DAI; SHIH; KHACHEMOUNE, 2020).

### 6.3 FASE DE REMODELAÇÃO

A remodelação é a fase final do processo de reparação tecidual, mas é considerada a mais extensa, pois pode durar por meses ou anos. Nesse estágio acontece a remodelação do colágeno que alterna a produção com a lise orientando as fibras na direção e natureza das tensões para dar mais resistência mecânica a cicatrização. Finalmente há a involução dos vasos neoformados por apoptose, esse processo é conhecido como regressão endotelial.

Anexos de pele como glândulas, folículos pilosos não se regeneram totalmente e a cicatriz tem um aspecto pálido devido a deficiência de melanócitos (LALOZE; FIÉVET; DESMOULIÈRE, 2021; LI et al., 2021).

## 7. PRINCÍPIOS ATIVOS PRESENTE NA FORMULAÇÃO

### 7.1. PRÓPOLIS

O própolis é um sub produto feito pela abelha, que e composto por um complexo de substâncias vegetais resinosas colhidas de brotos, flores, folhas, cascas e plantas que são misturadas com secreções salivares, cera e pólen. A própolis e utilizado para a higiene do interior da colmeia e isolamento do meio externo. Em sua composição geral é encontrada 50% de resinas e bálsamo vegetal, 30% de ceras, 10% de óleos essenciais, aromáticos e 5% de outras substâncias (MACHADO et al., 2016; ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018).

Historicamente, a própolis vem sendo usada por egípcios, persas e romanos em feridas através da formulação de pomadas curativas (ASTRADA et al., 2019). Nos últimos cinquenta anos, pesquisadores provaram que existem substancias ativas na sua composição que atuam ativamente na regeneração de tecidos (KWIECIŃSKA-PIRÓG et al., 2020). A própolis e um produto natural e não-tóxico que e produzida pelas abelhas sendo utilizada para selar e proteger a colmeia conta bactérias e fungos. E constituída geralmente por 50% de triptenos, 30% de cera, 10% de óleos essenciais, 5% de pólen e 5% de outras substâncias, porém sua composição pode ser alterada de acordo com a flora, região, tempo de coleta, altitude e disponibilidade de alimentos (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018; KWIECIŃSKA-PIRÓG et al., 2020; STOJKO et al., 2020).

Com mais de 200 substâncias a própolis possui isofalvonóides como pinocembrina, crisina e pinobanksina que são conhecidos por suas atividades antioxidantes, antivirais e antibactericidas (BATISTA et al., 2012). A própolis dificulta a invasão de bactérias, pois elas não conseguem aderir aos queratinócitos atrapalhando a formação do biofilme bacteriano, sendo importante pois o mesmo dificulta a cicatrização (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018; ETRA et al., 2019; MUJICA et al., 2019). São encontrados basicamente três tipos de própolis sendo o verde, marrom e vermelho que se diferem basicamente na proporção de compostos fenólicos. A própolis verde brasileira e sintetizada por abelhas criadas próximas a campos de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) e possui em sua composição ativos com efeitos antimicrobianos e antitumorais (PRZYBYŁEK; KARPIŃSKI,

2019). Foi comprovada a sua capacidade imunomoduladora devido o aumento da glutathione (GSH), recrutamento de leucócitos, fatores de necrose tumoral (TNF $\alpha$  e TNF $\beta$ ) e interleucina (IL) em amostras da lesão. Porém não foi encontrada essas alterações no soro sanguíneo demonstrando que o uso tópico é benéfico sem causar alterações sistêmicas. Os glicosaminoglicanos são polissacarídeos aniônicos necessários para a formação do tecido de granulação e a própolis estimula a síntese e liberação fazendo com que acelere a reparação do tecido e fechamento da ferida. No exame histopatológico com feridas tratadas foi encontrado maior formação e deposição de colágeno e diferença de até 25% a mais de tecido conjuntivo comparado com o grupo controle (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI, 2018; ETRA et al., 2019; MUJICA et al., 2019; PICOLOTTO et al., 2019).

## 7.2. BAICALIN

O composto baicalin é um monômero flavonóide proveniente da planta *Scutellaria baicalensis* e seu extrato (baicalina) possui atividades farmacológicas como efeito antitumoral, antiinflamatório, antioxidantes, bacteriostático e antifibrótico. Devido essa capacidade antibiótica ele inibe a formação de biofilme e potencializa os efeitos de outros antibióticos. Como fator antitumoral ele causa apoptose em células cancerígenas (WANG et al., 2015; GAO et al., 2017; CAI et al., 2021).

Devido sua alta biocompatibilidade o baicalin consegue atenuar os efeitos tóxicos do peróxido de hidrogênio nas feridas auxiliando o fechamento. Na fase inflamatória age por duas vias isolando e protegendo a ferida contra os patógenos e inibindo os níveis de óxido nítrico e TNF $\alpha$ . O extrato de baicalin encontra dificuldade de absorção devido a sua baixa solubilidade então para utilizarmos melhor o composto de ser incorporado a um polifenol nano carreador como o hidrogel. Análises histopatológicas de feridas demonstram que o grupo tratado tem mais epitelização, angiogênese e melhora do infiltrado inflamatório em 90% dos casos (MANCONI et al., 2018; ZENG et al., 2020; MAO et al., 2021).

## 7.3. ANDROGRAPHOLIDE

O andrographolide é um diptereno extraído das folhas do *Andrographis paniculata* e possui fatores medicinais como antibiótico, antiesclerótico e antioxidantes sendo usado em larga escala na cicatrização de feridas. Países como China, Índia, Japão e Coreia utilizam a

mais de 2000 anos para doenças nos seres humanos inibindo a proliferação de bactérias, aliviando sintomas de inflamação, e regulando o sistema imunológico (HOSSAIN et al., 2014).

Devido possuir varias atividades terapêuticas existem varias linhas de ação do ativo. Os efeitos anti-inflamatórios deste agente estão relacionados à inibição da produção de óxido nítrico (NO) e prostaglandinas E2 (PGE2), que são importantes no papel inflamatório dos macrófagos. Este composto age inibindo a biossíntese dos iso-icosanóides e do fator ativador de plaquetas (PAF), sendo assim inibindo a agregação plaquetária. Nas plaquetas ativadas, essas três vias de sinalização estão a jusante da ativação da integrina mediada pela ligação do colágeno e influenciam a associação do fibrinogênio com seus receptores. Além das atividades anti-inflamatórias e anti-agregante plaquetário, esse composto possui ação inibitória de crescimento de biofilme bacteriano (AMROYAN et al., 1999; JAYAKUMAR et al., 2013; MUSSARD et al., 2019)

Sistema QS (quórum sensing) funciona com uma sistema de comunicação entre as bactérias para mensurar sua população. Através da produção de substâncias chamada auto indutores que vão se ligar a receptores celulares levando para dentro das células informação de qual a população geral. Se a população as bactérias estiver elevada elas alteram sua expressão genética modificando assim a sua patogenicidade e formação de biofilme. O andrographolide inibe a formação de biofilme e fatores de patogenicidade agindo efetivamente no sistema QS das *Pseudomonas aeruginosa* (ZHANG et al., 2020).

O desenvolvimento e uso de novos tratamentos deve seguir uma linha tênue que passa pela eficácia antiinflamatória/antibiótica versus a possível atividade tóxica que o ativo pode gerar (DAVIS et al., 2017).

## 8. MODELO SUÍNO

No estudo da cicatrização de pele vários modelos podem ser utilizados para mimetizar no processo os eventos e mecanismos específicos que a ferida possa ter de acordo com o tratamento estipulado. Devido à dificuldade de experimentação em humanos seja por falta de semelhança entre os seres, dificuldade na coleta de dados ou por lesões éticas os modelos de experimentação em feridas são projetados para que sob condições clínicas a ferida se comporte da mesma forma que nos humanos. Durante a seleção da espécie animal deve – se levar em conta fatores como: custo, disponibilidade, manejo, semelhança anatômica e funcional e intimidade do pesquisador com a espécie. Por vários anos pequenos mamíferos (Coelhos e camundongos) foram utilizados em larga escala, pois eram fáceis de manipular e econômico, porém eles possuem desvantagens como densa camada de pêlos, epiderme e derme finas e principalmente a forma de cicatrização que ocorre por contração de ferida devido uma fina camada muscular (Panículo carnosos) abaixo da epiderme diferentemente dos humanos que ocorre por reepitelização (JAMES et al., 2018; KLEIN et al., 2018).

### 8.1. COMPARAÇÃO ENTRE PELE SUÍNA E HUMANOS

O modelo experimental em suínos é bastante utilizado devido sua pele possuir 83% de semelhança com a do ser humano. O suíno possui epiderme com espessura de 30 a 140  $\mu\text{m}$  e o ser humano possui de 50 a 120  $\mu\text{m}$  e ambos têm em comum papilas dérmicas e tecido adiposo em grande quantidade na hipoderme. O suíno possui elasticidade cutânea maior em comparativo com as outras espécies utilizadas em testes clínicos, porém, mesmo assim, a elasticidade é maior que a da pele humana (CARNEY et al., 2021). De forma comparativa a vascularização cutânea do suíno é similar no tamanho, orientação e distribuição e os anexos são mais espaçados porém idênticos. Na cicatrização a funcionalidade de ambas espécies são as mesmas pois o tempo de epitelização, o tipo de proteínas queratinosas e composição lipídica do estrato córneo tem as mesmas estruturas. Devido todas as semelhanças de composição cutânea a fisiologia geral, anatomia e função dos órgãos e sistemas. O suíno é considerado um excelente modelo animal para o estudo pré-clínico de feridas com espessura total pois é um animal de fácil aquisição, manejo e possui igualdade genética o que aumenta a acurácia dos resultados (RANAMUKHAARACHCHI et al., 2016). Modelos excisionais.

Estudos anteriores utilizavam camundongos como modelo experimental devido o fácil manejo e aquisição, porém abaixo da pele existe uma camada de musculatura que após a lesão tecidual se retrai aproximando os bordos da ferida e diminuindo o tempo de cicatrização além de não possuir o complexo biológico ambiental e mecânico que a pele humana possui (BLACKSTONE et al., 2017).

A partir de 1976 foi proposto o uso de suínos para modelos de estudo pré-clínico de excisão total de pele e neste modelo foram feitas lesões de 6x6 polegadas no dorso e no flanco com o auxílio de um dermatótomo. Após quatro meses foram observadas cicatrizes com hipercontração, hiperpigmentação, colágeno desorganizado, deposição de nódulos de colágeno e aumento do número de miofibroblastos bastante semelhantes a cicatrização humana. Suínos como modelos excisionais são bastante utilizados, pois existe a facilidade de encontrar indivíduos geneticamente similares, facilidade no manejo (ABREU; MCBAIN; SIMÕES, 2012; ZUO; YU; LU, 2016a).

## 9. MATERIAIS E MÉTODOS

### 9.1. Animais

O experimento foi realizado nas dependências do Hospital Veterinário de Grandes Animais da Universidade de Brasília (HVET – UNB) e todos os protocolos foram aprovados pelo Conselho de Ética e Uso Animal da Universidade de Brasília (Anexo I) de protocolo n° 023/2020. Foram utilizados para o estudo dois suínos machos da raça Large White, castrados, desverminados com 40 quilos. O experimento foi dividido em duas etapas: Ensaio 1 (E1) e Ensaio 2 (E2) devido a formulação de hidrogéis e utilização de controles positivos. Os animais passaram dez dias em adaptação ambiental e alimentar antes do início do experimento. As baias possuíam tamanho de 3,5 m<sup>2</sup> com bebedor tipo chupeta para fornecimento de água e cocho onde a alimentação era servida durante o dia não passando do limite de 1.5% do peso vivo de ração de manutenção de 25% de proteína. O controle de temperatura e umidade foi realizado através de um Ventisol® CLI 45 PRO. O experimento foi realizado com um animal por vez.

### 9.2. CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE TRATAMENTO

No presente estudo foram utilizados quatro produtos hidrogéis para tratamento de feridas conforme a seguir:

Grupo de controle positivo sendo representado por três tratamentos comerciais que já tem sua eficácia testada e aprovada pelo FDA – Food and Drug Administration.

AMERIGEL® - Hydrogel Wound Dressing (Amerex Healthcare Corp., USA). Hidrogel composto de Extrato de Carvalho (*Quercus robur*) e extrato de ulmeira (*Filipendula ulmaria*) e acetato de zinco.

MEDIHONEY GEL® – Wound and Burn Dressing (Derma Sciences, Inc., USA). Emulsão Gel compost de Mel de Manuka (Meal Ativo de *Leptospermum sp.*).

PLUROGEL® - Burn and Wound Dressing (Medline Industries, LP, USA). Hidrogel composto de Poloxamer polimerizado e glicóis.

No Ensaio 1 o grupo com a formulação a ser testada sendo representado os tratamentos no como A, B, C e D. No Ensaio 2 os tratamentos foram designados como X, Y, Z e W. Os hidrogéis possuem propriedades anti-biofilme, fator desbridante e fator hidratante descritos na Tabela 1 respectivamente abaixo.

IWD® – Innovacorium Wound Dressing Hydrogel (Innovacorium, Inc., USA). Hidrogel composto de Extrato de Própolis Verde (*Baccharis dracunculifolia* própolis) e

Extrato de Escutelaria (*Scutellaria baicalensis*) em gel de celulose. Foi recebido do fabricante amostras do hidrogel com diferentes concentrações dos ingredientes antimicrobianos e com diferentes consistências de gel conforme a Tabela 1.

Tabela 1 — Valores percentuais da ação de anti-biofilme, fator desbridante e hidratante

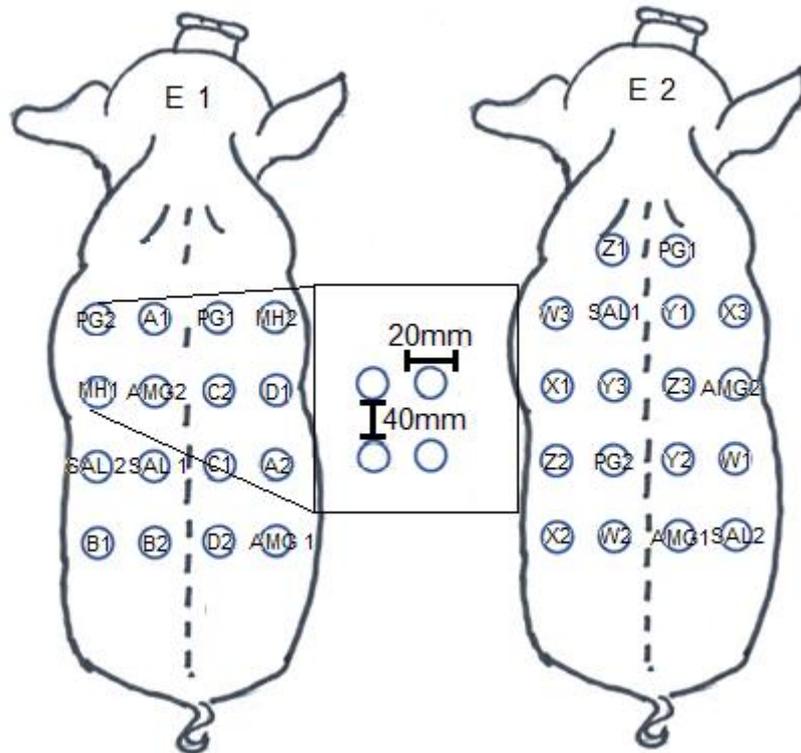
Amostras testes	Anti – biofilme (%)	Fator Desbridante (%)	Fator Hidratante (%)
A	5.0	3.0	3.5
B	2.5	3.0	3.5
C	1.25	3.0	3.5
D	7.0	3.0	3.5
W	4.0	3.0	3.5
X	4.0	3.0	1.75
Y	4.0	0.75	3.5
Z	4.0	0.75	1.75

No grupo de controle negativo somente foi realizada a limpeza com solução fisiológica a 0,9% de cloreto de sódio.

### 9.3. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO DE REALIZAÇÃO DAS FERIDAS EXCISIONAIS DE PROFUNDIDADE TOTAL

Os animais foram mantidos em jejum de 8 horas antes do procedimento cirúrgico de retirada dos círculos cutâneos que configuram as lesões para observação da cicatrização. No dia do procedimento (D0), os animais foram pesados (Tabela 2), canulados com cateter 22g e logo após sedados com acepromazina (0,05 mg/kg), midazolam (0,5 mg/kg) e cetamina (5 mg/kg) como medicação pré anestésica. A indução foi feita com propofol (5 mg/kg) e manutenção com isoflurano. O paciente foi monitorado no trans cirúrgico por eletrocardiograma, oximetria de pulso, pressão arterial invasiva e capnografia. O suíno foi posicionado em decúbito ventral e foi feita a tricotomia dos pelos com a máquina Oster® e lâmina de 50 mm. A antissepsia foi realizada em duas etapas de cinco minutos com Clorexidine Riohex® 2% e escova de degermação, finalizando com gaze estéril e álcool 70%. Um gabarito de aço cirúrgico foi fabricado contendo 4 círculos de 20mm espaçados entre por 40mm (Figura 1) e utilizado para padronizar as feridas no dorso do animal, com as marcações sendo realizadas com caneta cirúrgica.

Figura 2 — Disposição das feridas E1 e E2 com os distanciamentos



Fonte: Arquivo pessoal

No primeiro suíno (E1) foram feitas 16 feridas de espessura total (epiderme, derme e subcutâneo) e no segundo suíno (E2) foram feitas 18. Após tricotomia e antissepsia com ajuda de um molde foram marcados com caneta cirúrgica as incisões (Figura 2). A incisão foi realizada com punch circular de 20mm de diâmetro por 5 mm de profundidade total que foi fabricado para o procedimento (Figura 3). Com o punch de biopsia (Figura 3) foi incisionada a pele com movimentos circulares até seccionar totalmente as três camadas de pele e com o auxílio de uma lâmina de bisturi nº 10, cabo de bisturi nº3 e uma pinça dente de rato (Figura 4) a amostra a se retirada foi divulsionada com cuidado para não afetar a musculatura.

Figura 2 — Marcação das feridas cirúrgicas.



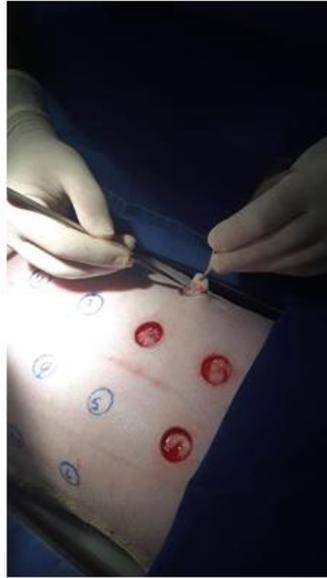
Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 3 — Punch fabricado para realizar as incisões.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 4 — Divulsão do tecido retirado.



Fonte: Arquivo pessoal.

Imediatamente após a retirada foi realizada a hemostasia (Figura 5). Logo depois de realizar todas as feridas excisionais de profundidade total o curativo oclusivo foi realizado com gaze e fita microporosa (Figura 6) em cada ferida de forma individual e para proteger foi colocada roupa cirúrgica (Figura 7). Na recuperação anestésica os suínos foram posicionados em decúbito lateral e monitorados até a reabilitação completa. No pós-cirúrgico imediato foi estabelecido protocolo com flunixin (1,1 mg/kg) SID 3 dias e dipirona (20 mg/kg) BID 5 dias

Figura 5 — Hemostasia das feridas cirúrgicas



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 6 — Curativo oclusivo



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 7 — Suíno em recuperação anestésica com a roupa cirúrgica



Fonte: Arquivo pessoal.

## 9. CURATIVO E MANEJO DAS FERIDAS

Os curativos foram realizados a cada 24 horas por 21 dias seguidos. As feridas foram dispostas no dorso do suíno conforme a Figura 8. No primeiro dia após o procedimento cirúrgico (D1) foi retirado todo o curativo compressivo e iniciou o tratamento com Hidrogel IWD®. A distribuição dos tratamentos foi feita por sorteio de forma aleatória como visualizado na Tabela 3 e 4 nos E1 e E2, respectivamente. No Ensaio 1 foram utilizados tratamentos positivos, ou seja, com pomadas comercialmente conhecidas, em seis feridas sendo dois com Plurogel® (Pg), dois com Amerigel® e dois com Medhoney®. Dos hidrogéis IWD® foram realizados oito curativos nas diferentes concentrações A, B, C e D sendo duas replicatas de cada. Como controle negativo usou somente solução salina (cloreto de sódio 0,9%) para limpeza de duas feridas. No E1 foram realizadas no total 16 feridas.

Tabela 2 — Tabela de gabarito com a distribuição dos tratamentos no ensaio 1

	CRANIAL		
<b>PG2</b>	<b>A1</b>	<b>PG1</b>	<b>MH2</b>
<b>MH1</b>	<b>AMG2</b>	<b>C2</b>	<b>D1</b>
<b>SAL2</b>	<b>SAL1</b>	<b>C1</b>	<b>A2</b>
<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>D1</b>	<b>AMG1</b>

Tabela 3 — Tabela de gabarito com a distribuição dos tratamentos no ensaio 2

	CRANIAL		
	Z1	PG1	
W3	SAL1	Y1	X3
X1	Y3	Z3	AMG2
Z2	PG2	Y2	W1
X2	W2	AMG1	SAL2

Para realizar o curativo o suíno era sedado diariamente com acepromazina (0,05 mg/kg), midazolam (0,5 mg/kg) e cetamina (7,0 mg/ kg). Após 10 minutos da sedação a roupa cirúrgica e o curativo eram retirados, em seguida o suíno era posicionado na mesa de curativo (Figura 9).

Figura 8 — Suíno posicionado na maca de contenção



Fonte: Arquivo pessoal

A primeira limpeza era realizada com solução fisiológica e gaze estéril no dorso do suíno em toda área de curativo até retirar todos os debrís ou secreções. Depois toda área de fora da ferida era limpa novamente com éter para remoção da gordura impregnada na pele

para favorecer a aderência do curativo. No leito de cada ferida foram depositados os tratamentos correlacionados e isolados inicialmente com fita Medpore 3m® de 40x40mm individualmente (Figura 10). Assim que as feridas foram todas ocluídas uma nova camada impermeabilizante de filme PU (Curatec®) (Figura 11) sendo finalizado com fita microporosa (micropore 3m®) de 10cm x 50cm foi adicionada para fixar o curativo inicial e foi colocado a roupa cirúrgica para proteção. Esse procedimento foi repetido diariamente por 28 dias.

Figura 9 — Curativo oclusivo utilizado em cada ferida



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 10 — Feridas ocluídas



Fonte: Arquivo pessoal

## Coleta de dados e material

### 9.1. RETRAÇÃO DAS FERIDAS

As feridas foram analisadas visualmente pelo mesmo observador diariamente durante o curativo. As feridas foram fotografadas a cada sete dias utilizando um gabarito circular adesivo de área conhecida (Diâmetro = 20mm, Área = 314.16mm<sup>2</sup>) que eram coladas na região periférica da ferida (Figura 12) com a finalidade de mensurar a retração de bordas com auxílio do software Image J® (NIH – National Institute of Health – USA). No software as medidas do gabarito são utilizadas para calibrar o programa e diante disso ocorre a leitura da imagem estabelecendo assim a área da ferida por comparação. As imagens coletadas no D0

indicaram a área inicial e os valores obtidos nas coletas de D7, D14 e D21 foram subtraídas indicando a retração semanal (Tabelas 7 e 8 )

Figura 11 — Posição dos gabaritos



Fonte: Arquivo pessoal

### **Exame visual das feridas**

As feridas foram analisadas em ambos os ensaios pelo mesmo observador.

### **Ensaio 1**

Nos D1, D2 e D3 as feridas apresentaram exudato produtivo (Figura 13) e os tratamentos MH2, B1 e D2 tiveram aspecto avermelhado e edema (Figura 14). No decorrer da primeira semana o centro de todas das feridas apresentou debris e crosta de coagulação no centro das feridas (Figura 15) que se soltaram deixando aspecto avermelhado nos tratamentos. Com sete dias de tratamento não havia exudato e o tecido de granulação começou a emergir. No D 9 o tecido de granulação estava proliferado até o nível da borda da ferida (Figura 16). Foi observado que os hidrogéis testados A, C e B e o controle positivo Medhoney® deixavam impregnados resíduos na borda das feridas.

Figura 12 — Feridas com exudato.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 13 — MH2, B1 e D2 com hiperemia parcial.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 14 — Crosta de coagulação central e debris.



Fonte: Arquivo pessoal

Comparando e observando as feridas PG2, A1, Sal 2e B1 no D11 visualmete estavam com borda de ferida mais retraídas que as demais (foto F). Ao examinar as feridas na semana do D14 foi evidenciado entre a borda da ferida e o centro a formação de nova epitelização. Notou – se que na duas semanas finais a retração foi mais acentuada nos tratamentos A, B, D, PG e AMG e nas feridas de MH houve processo cicatricial mais lento com o fechamneto total no D28. Durante todo processo MH1 e MH2 prolongaram a fase inflamatória mais que as demais feridas.

Figura 15 — Tecido de granulação.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 16 — Retração das feridas.



Fonte: Arquivo pessoal.

## Ensaio 2

Para o ensaio 2 o hidrogel foi reformulado gerando quatro novos tratamentos X, Y Z e W. Para controle positivo somente os produtos comerciais Plurogel® e Amerigel® foram utilizadas devido seu resultado superior no ensaio 1. O controle negativo continuou sendo feito com solução salina.

Iniciando o curativo no D1 após a retirada das bandagens algumas feridas tiveram novo sangramento. A partir do D2 todas as feridas apresentaram exsudato que por sua vez foi diminuindo até o D5 onde não foi mais observado. O edema e hiperemia nas feridas foram bastante discretos. Extinguiu – se a secreção e debris de crosta de coagulação se desprenderam das feridas a partir do D7. Na primeira semana os tratamentos SAL, PG, e AMG iniciaram com maior retração na borda. A proliferação do tecido de granulação iniciou – se no D9 e no D11 já tinha alcançado a borda da ferida (Figura 18). Para os hidrogéis testados X, Y e Z aceleraram na epitelização e na retração durante a segunda semana(Figura 19). As feridas Z1, X3 e Y1 no D18 estavam com fechamento total. X1, Z2, e Z3 concluíram sua epitelização no D20. As demais feridas cicatrizaram totalmente até o D21 (Figura 20) com exceção de PG1, PG2, Sal 1, Sal2 que concluíram tardiamente no D23

Figura 17 — Feridas com tecido de granulação do Ensaio 2 no D10.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 18 — Feridas X, Y e Z com epitelização avançada.



Fonte: Arquivo Pessoal

Figura 19 — Fechamento das feridas no D21



Fonte: Arquivo pessoal.

## 9.2. COLETA DE DADOS E MATERIAL

### 9.2.1. Parâmetros ambientais

Temperatura e umidade ambientais são fatores que podem interferir no padrão de cicatrização. Feridas mais contaminadas são encontradas em situação de ambiental com temperatura e umidade alta. Durante a execução do ensaio 2 a temperatura ambiente e umidade foram coletadas através do termo-higrômetro Tomate PD-003 sempre às 14:00, horário que iniciava o procedimento do curativo das feridas.

### 9.2.2. Parâmetros do suíno

#### Temperatura

O processo inflamatório de uma lesão também pode ser aferido e mensurado através de temperatura tendo em vista que o calor é um dos sinais inflamatórios. No ensaio 2 com a finalidade de avaliar e modular o processo inflamatório individual de cada ferida logo após a sedação e retirada das bandagens foram mensuradas as temperaturas individuais das feridas com termômetro digital infravermelho Dikang® à 4 cm de distância do centro da ferida. Além disso, como dado importante foi aferido temperatura local de borda inferior e superior do plano de feridas para saber a temperatura de perímetro. A coleta foi realizada abaixo do ponto médio perpendicular das orelhas cinco centímetros e na zona lombar caudal cinco centímetros acima do início do rabo (Figura 21).

Figura 20 — Aferição de temperatura.



Fonte: Arquivo pessoal.

O processo inflamatório desencadeia reações fisiológicas gerais e devido essa importância foram realizadas mensurações de temperatura sistêmica através de termômetro retal digital G-tech® diariamente aferindo a temperatura dos animais.

### **Peso**

Devido o estímulo inflamatório sistêmico os animais podem reduzir o peso ou diminuir o ganho. Como o peso é um parâmetro de avaliação importante os animais foram pesados semanalmente com balança Filizola® digital de plataforma. As doses de medicação e ração foram alteradas de acordo com a evolução do peso.

### **9.2.3. Coleta de material histológico das feridas**

No processo de cicatrização a fase de remodelação confere à ferida isolamento do ambiente externo e resistência da cicatriz. A remodelação inicia-se com o fim da fase inflamatória e nela ocorre a deposição do colágeno e epitelização. Através da histologia do tecido transicional (borda/centro) podemos examinar qual tipo de tecido está sendo formado em cada tratamento e com está sendo a deposição de colágeno.

Nos dias D14 e D21 ocorreu a coleta de biopsia e o suíno passou por novo procedimento anestésico com sedados com acepromazina 0,05 mg/kg, midazolam 0,5 mg/kg e cetamina 5 mg/kg como medicação pré anestésica e a indução foi feita com propofol 5 mg/kg e manutenção com isoflurano. Após ser anestesiado foi posicionado em decúbito ventral e o corte da amostra foi realizado com um punch de coleta com 5mm de diâmetro rotacionado até o desprendimento da amostra na zona de transição borda/ferida. Imediatamente as amostras foram armazenadas em racks e condicionadas em formol tamponado 10% (Merck®, Alemanha).

### **9.2.4. Histologia**

As amostras de pele foram fixadas em formaldeído tamponado 10% (Merck®, Alemanha) e processadas para análises histopatológicas por microscopia de luz. As amostras inicialmente foram desidratadas em soluções de álcool (marca) com concentrações crescentes de 70%, 80%, 90% e 3x de 100% e após foram diafanizados duas vezes durante 30 minutos em xilol (marca) e impregnados três vezes em parafina a 60.0°C. Posteriormente as mostras

foram emblocadas em parafina e seccionadas integralmente no micrótomo RM2125 (leica Biosystems, Alemanha) em secções de 5µm de espessura. As secções foram coletadas em lâminas de microscopia e identificadas de acordo com cada tratamento feito na ferida.

Para as análises histológicas foram selecionadas grupos de três secções diferentes da amostra e coradas nas técnicas de coloração de Hematoxilina& Eosina e Tricômio de Manson. Após coradas as secções histológicas foram fixadas na lâmina com a resina sintética Enthelan ((Sigma-Aldrich, Alemanha) lamínula de vidro. As lâminas prontas foram digitalizadas no sistema de foto documentação Aperio (leica biosystems, Alemanha) para coletar dos dados histológicos, qualitativos e morfométricos.

## 10. ANALISE ESTATÍSTICA

A disposição de tratamentos em cada ferida foi feita por sorteio aleatório (tabela 1 e 2)

Os dados são a média de duplicatas  $\pm$  desvio padrão. Diferença na área da ferida da linha de base entre os tratamentos foram testados com One Way Anova,  $P < 0,05$ . As diferenças na redução percentual do tamanho da ferida foram analisadas com One Way Anova,  $P < 0,05$  após transformar os dados percentuais pelo seu valor arco sin.

## 11. RESULTADOS

### 11.1. EVOLUÇÃO DE PESOS

12. Tabela 4 — Tabela de evolução de pesos dos suínos em relação com o tempo

Dias	Suíno 1	Suíno 2
D0	41,3 kg	40,5 kg
D7	48,1 kg	47,5 kg
D14	53,3 kg	54,2 kg
D21	59,0 kg	63,4 kg

### 11.2. REFORMULAÇÃO PARA ENSAIO 2

Após exame inicial dos dados coletados no Ensaio 1 teste para verificação da cicatrização das feridas do suíno foi observado que os tratamentos A e C apresentaram resultados melhores de cicatrização com fechamento mais rápido e com qualidade melhor na formação da cicatriz. Para o segundo ensaio (E2) os tratamentos A e C foram reformuladas e divididas em quatro novos tratamentos que foram chamados de X, Y, Z, e W com ajustes na capacidade fator desbridante e fator hidratante. Visto isso, para o segundo ensaio foram usados como base os dois tratamentos mais eficientes do E1 e com melhores resultados de cicatrização como base principal para quatro novas formulações teste com novas proporções entre os princípios ativos. Através da estatística do Ensaio 1 também foi observado que o tratamento comercial Medhoney® utilizada como controle positivo foi a que demonstrou menor eficiência na cicatrização em relação os outros controles positivos, por esse motivo não foi utilizada no ensaio 2. Para o ensaio 2 foram utilizados quatro controles positivos sendo dois de Plurogel® e dois de Amerigel®. Os tratamentos de hidrogel X, Y, Z e W foram usados nas feridas em triplicata.

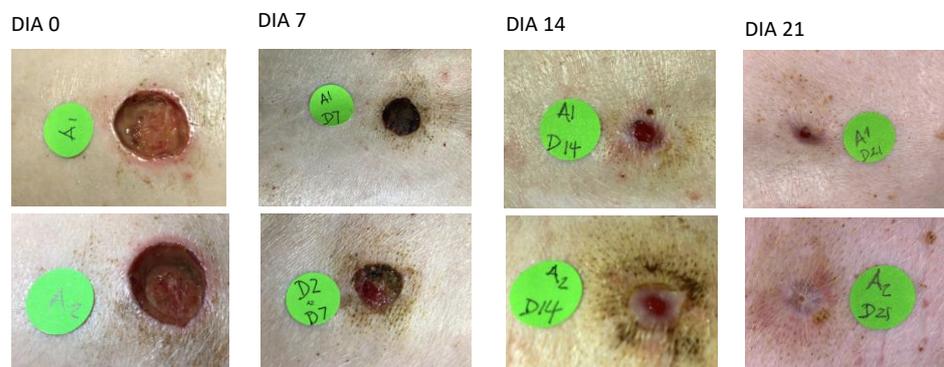
#### Exame visual do Ensaio 1

Para o exame visual foram adotados os seguintes parâmetros: hemorragia, coloração, eritema, secreção, impregnação do hidrogel, granulação e edema. Vinte e quatro horas após a cirurgia para confecção das feridas excisionais, estavam limpas, sem sinais de sangramento, infecções, edema e eritema. Após 7 dias de tratamento, todas as feridas tratadas com IWD, independentemente da formulação A, B, C ou D, mostrou formação de crostas de coagulação relativamente espessas no leito da ferida. Na região perilesional houve leve impregnação de

produto difícil de enxaguar com soro fisiológico. Essas crostas e impregnações eram mais pronunciadas nas formulações com maior concentração de Própolis (A e D). Feridas tratadas com diferentes predicados e controle de solução salina também apresentaram crosta, mas não tão escura e espessa quanto nos tratados com IWD. Houve retração significativa das feridas após o D13. Após 14 dias de tratamento não houve mais formação de crostas. Dentre as formulações de IWD- A e IWD-C apresentaram a maior área de granulação tecido associado com a menor taxa de redução percentual da ferida. A epitelização era bastante visível de forma que acompanhava a retração dos bordos. Uma das feridas tratadas com MH apresentou hipergranulação e edema, porém, nenhuma infecção, exsudato e eritema foram observados em nenhum das feridas durante todo o período do estudo conforme ilustrado das figuras 22 até 29. No D21 todas as feridas obtiveram retração significativa e somente MH ficou abaixo de 93%.

Figura 21 — Feridas em pele suína tratadas com a formulação A. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

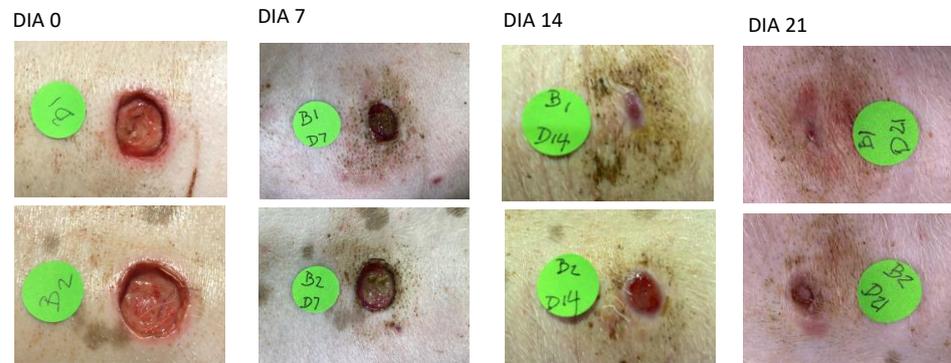
#### FORMULAÇÃO A



	DIA 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	518.58 ± 98.19	244.58 ± 1.64	32.82 ± 10.31	7.49 ± 10.36
% Redução		52.84	93.67	98.56

Figura 22 — Feridas em pele suína tratadas com a formulação B. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

### FORMULAÇÃO B



Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	432.72 ± 43.49	227.02 ± 75.18	39.19 ± 42.59	17.95 ± 18.07
% Redução		47.54	90.94	95.85

Figura 23 — Feridas em pele suína tratadas com a formulação C. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

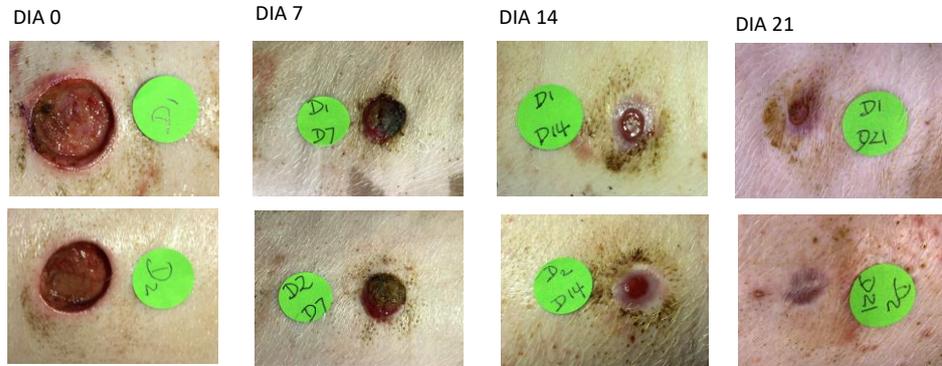
### FORMULAÇÃO C



Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	554.75 ± 53.84	256.99 ± 38.05	70.29 ± 1.58	23.95 ± 17.55
% Redução		53.67	87.33	95.68

Figura 24 — Feridas em pele suína tratadas com a formulação D. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

### FORMULAÇÃO D



	DIA 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	491.91 ± 95.01	250.92 ± 9.92	53.73 ± 11.43	20.57 ± 29.09
% Redução		48.99	89.08	95.82

Figura 25 — Feridas em pele suína tratadas no grupo controle com solução salina. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

### SOLUÇÃO SALINA - SAL



	DIA 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	490.44 ± 62.73	217.01 ± 22.49	71.33 ± 23.45	33.09 ± 25.25
% Redução		55.75	85.46	93.25

Figura 26 — Feridas em pele suína tratadas com Plurogel®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

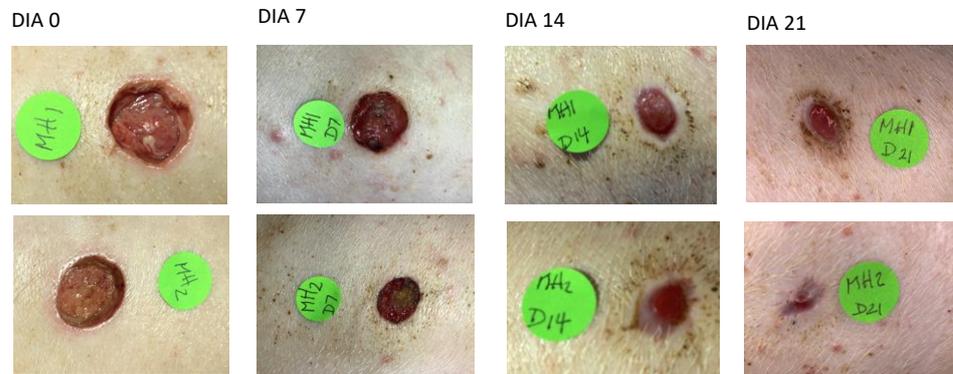
PLUROGEL® - PG



	DIA 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	483.03 ± 50.71	243.84 ± 47.83	31.66 ± 12.29	11.61 ± 12.28
% Redução		49.52	93.44	97.60

Figura 27 — Feridas em pele suína tratadas com Medihoney®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

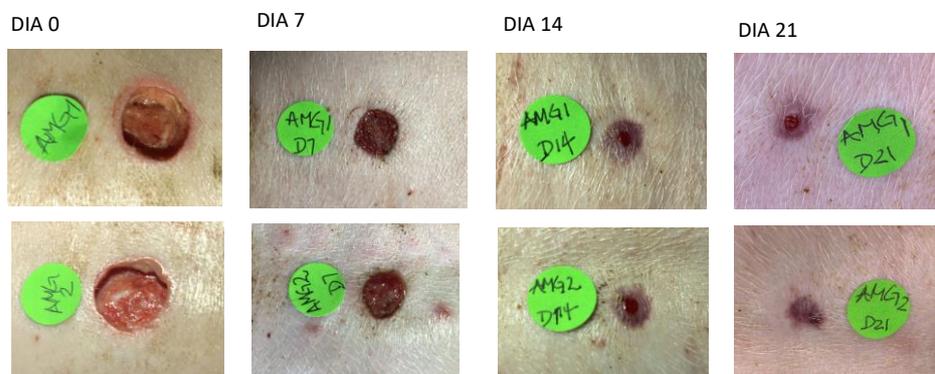
MEDIHONEY® - MH



	DIA 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	520.76 ± 6.57	377.14 ± 100.87	94.65 ± 22.96	50.03 ± 52.02
% Redução		27.58	81.82	90.39

Figura 28 — Feridas em pele suína tratadas com Amerigel®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

AMERIGEL® - AMG



	DIA 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21
Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	409.84 ± 77.35	221.87 ± 2.67	19.78 ± 3.81	8.10 ± 11.36
% Redução		45.86	95.17	98.02

Tabela 5 — Evolução das retrações em mm<sup>2</sup> e % do Ensaio 1.

Trat	Dia 7			Dia 14		Dia 21	
	Área inicial (mm <sup>2</sup> )	Área de ferida (mm <sup>2</sup> )	% Redução	Área de ferida (mm <sup>2</sup> )	% Redução	Área de ferida (mm <sup>2</sup> )	% Redução
A1	588,01	245,74	58,21	40,11	93,18 <sup>a</sup>	14,82	97,48
A2	449,15	243,42	45,80	25,54	94,31 <sup>a</sup>	0,17	99,96
B1	401,97	173,86	56,75	9,07	97,74 <sup>a</sup>	5,17	98,71
B2	463,48	280,18	39,55	69,31	85,05 <sup>a</sup>	30,73	93,37
C1	592,82	283,89	52,11	69,17	88,33 <sup>a</sup>	36,36	93,87
C2	516,68	230,09	55,47	71,41	86,18 <sup>a</sup>	11,54	97,77
D1	559,09	257,94	53,86	61,81	88,94 <sup>a</sup>	41,14	92,64
D2	424,73	243,91	42,57	45,64	89,25 <sup>a</sup>	0,00	100,00
PG1	518,89	210,02	59,52	40,35	92,22 <sup>a</sup>	20,30	96,09
PG2	447,16	277,67	37,91	22,97	94,86 <sup>a</sup>	2,93	99,35
MH1	525,41	448,47	14,64	110,89	78,90 <sup>a</sup>	86,81	83,48
MH2	516,11	305,81	40,75	78,41	84,81 <sup>a</sup>	13,24	97,43
AMG1	355,14	219,99	38,06	17,08	95,19 <sup>a</sup>	16,13	95,46
AMG2	464,53	223,76	51,83	22,47	95,16 <sup>a</sup>	0,07	99,98
SAL1	534,80	232,91	56,45	87,91	83,56 <sup>a</sup>	50,95	90,47
SAL2	446,09	201,10	54,92	54,74	87,73 <sup>a</sup>	15,24	96,58

A análise estatística foi realizada no D14 e não houve diferença significativa entre os grupos controle e tratados. Sal- Salina, AMG – Amerigel, PG – Plurogel, MH – Medhoney, Hidogéis – A, B, C e D.

## Ensaio 2

No D1 as feridas excisionais apresentaram um pouco de sangramento logo após a retirada das bandagens. A fase inflamatória de todas as feridas foi mais curta que no ensaio 1. Após a reformulação dos hidrogéis IWD foi observado que a formação de crostas persistiu porém, não foram espessas e foram limpas com mais facilidade. Os controles positivos se comportaram da mesma forma do ensaio 1. A granulação iniciou no D8 após a queda dos debris. A retração de ferida ocorreu de forma significativa após o D9. As feridas tratadas com IWD -W e IWD- Z obtiveram fechamento total antes dos 21 dias. Nenhuma ferida apresentou hipergranulação, edema, infecção, exsudato, durante todo o período do estudo conforme as figuras abaixo.

Figura 29 — Feridas em pele suína tratadas com Solução salina. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

**SOLUÇÃO SALINA 0.9%**

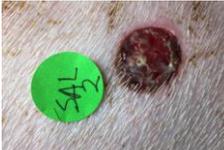
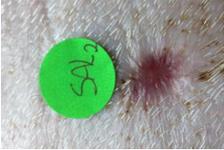
	<b>DIA 0</b>	<b>DIA 7</b>	<b>DIA 14</b>	<b>DIA 21</b>
				
				
Área da Lesão (mm <sup>2</sup> )	<b>408.26 ± 25.55</b>	<b>323.77 ± 63.89</b>	<b>51.01 ± 1.80</b>	<b>1.10 ± 1.55</b>
% Redução		<b>21.03 ± 10.71</b>	<b>87.50 ± 0.34</b>	<b>99.74 ± 0.36</b>

Figura 30 — Feridas em pele suína tratadas com Plurogel®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

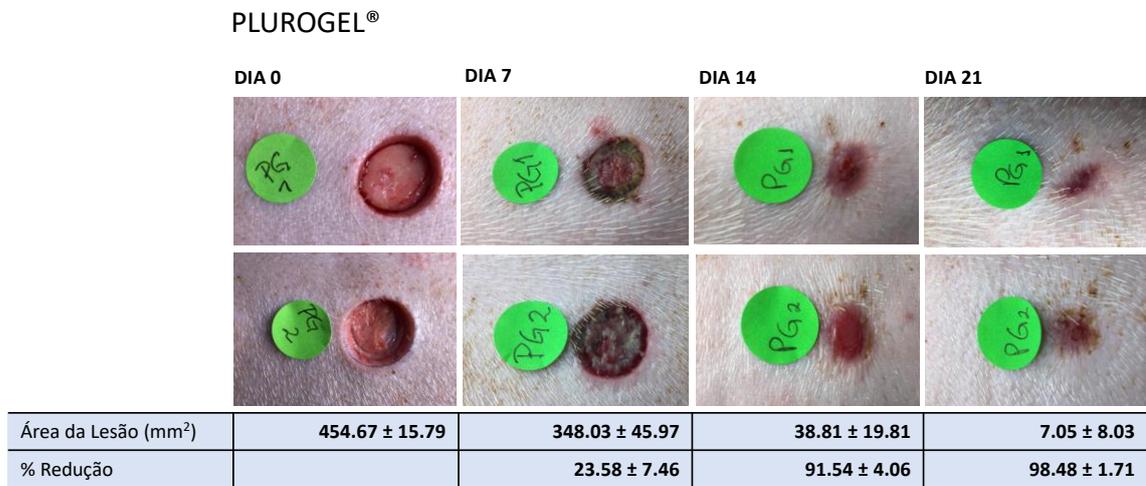


Figura 31 — Feridas em pele suína tratadas com Amerigel®. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

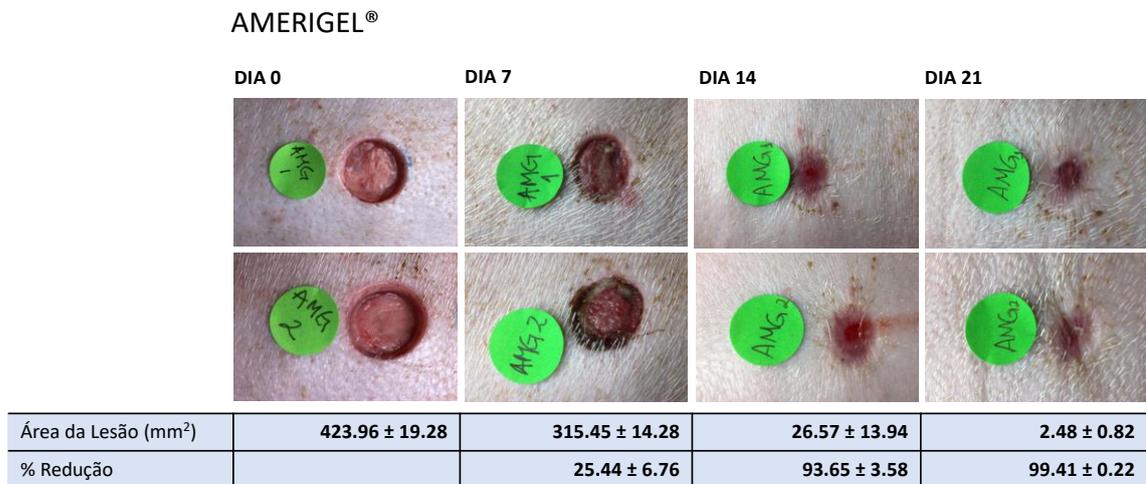


Figura 32 — Feridas em pele suína tratadas com formulação W. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

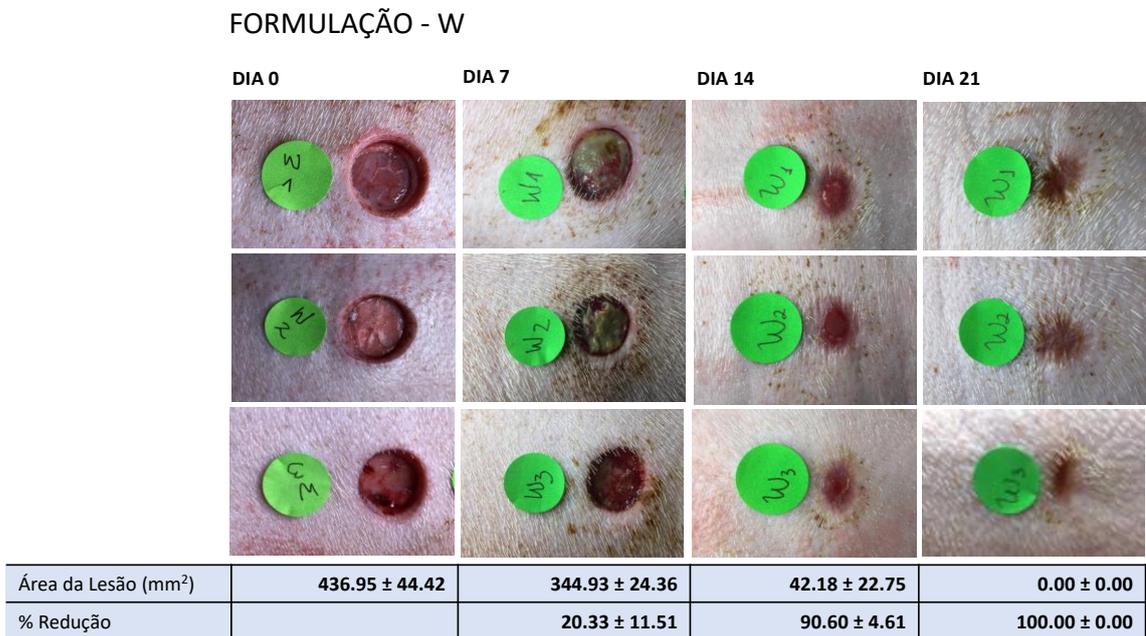


Figura 33 — Feridas em pele suína tratadas com formulação X. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

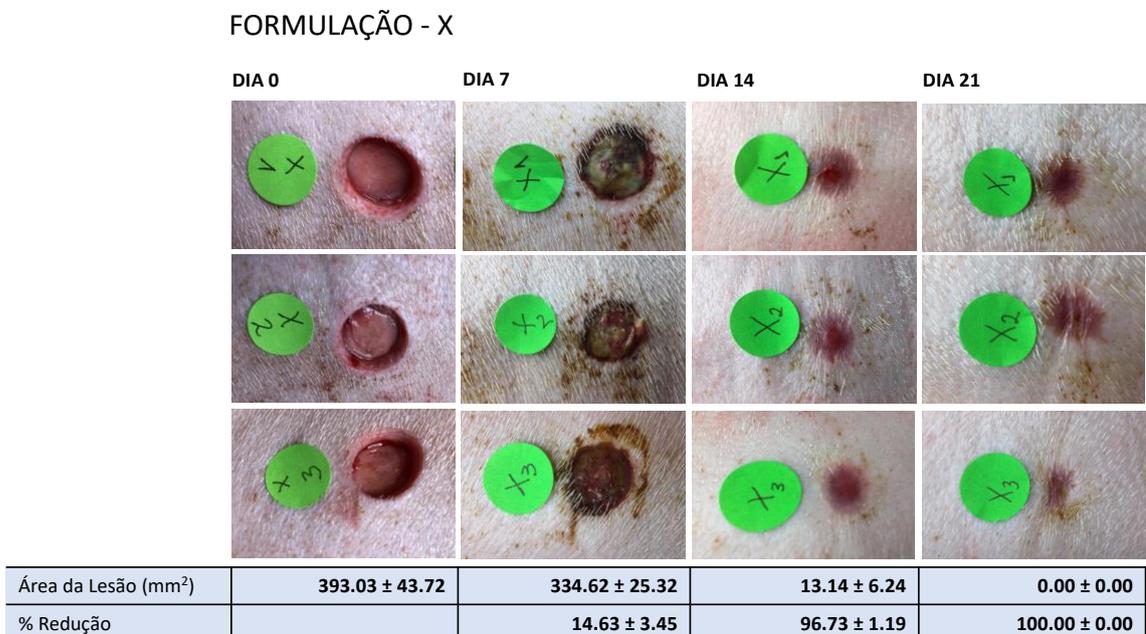


Figura 34 — Feridas em pele suína tratadas com formulação Z. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

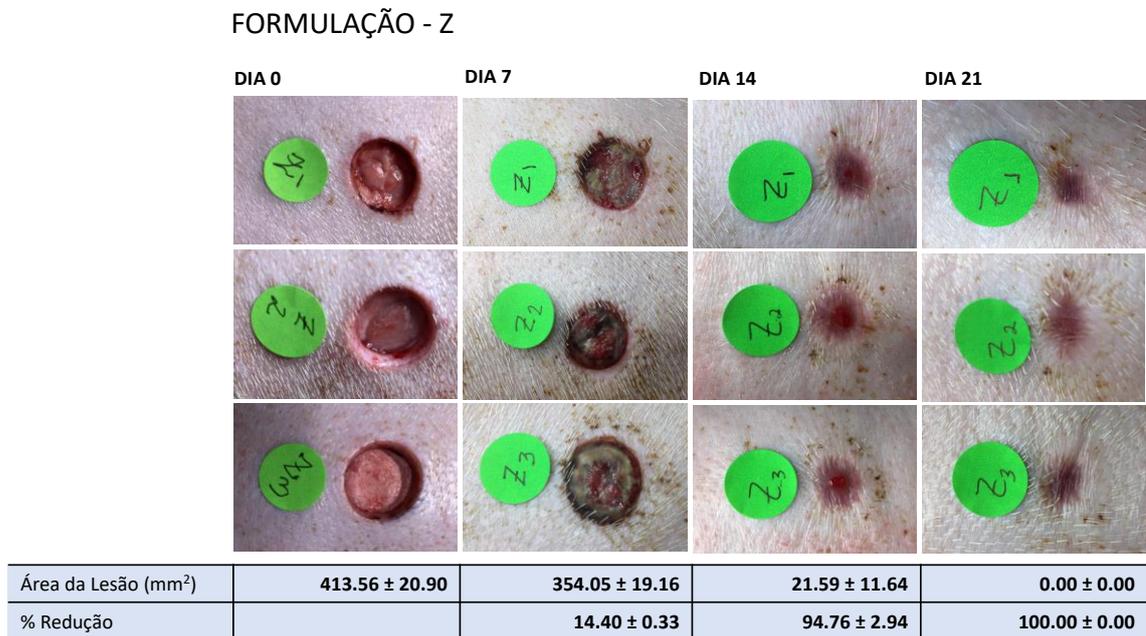


Figura 35 — Feridas em pele suína tratadas com formulação Y. Avaliação macroscópica da evolução da ferida mensurando tamanho de área e porcentagem de redução.

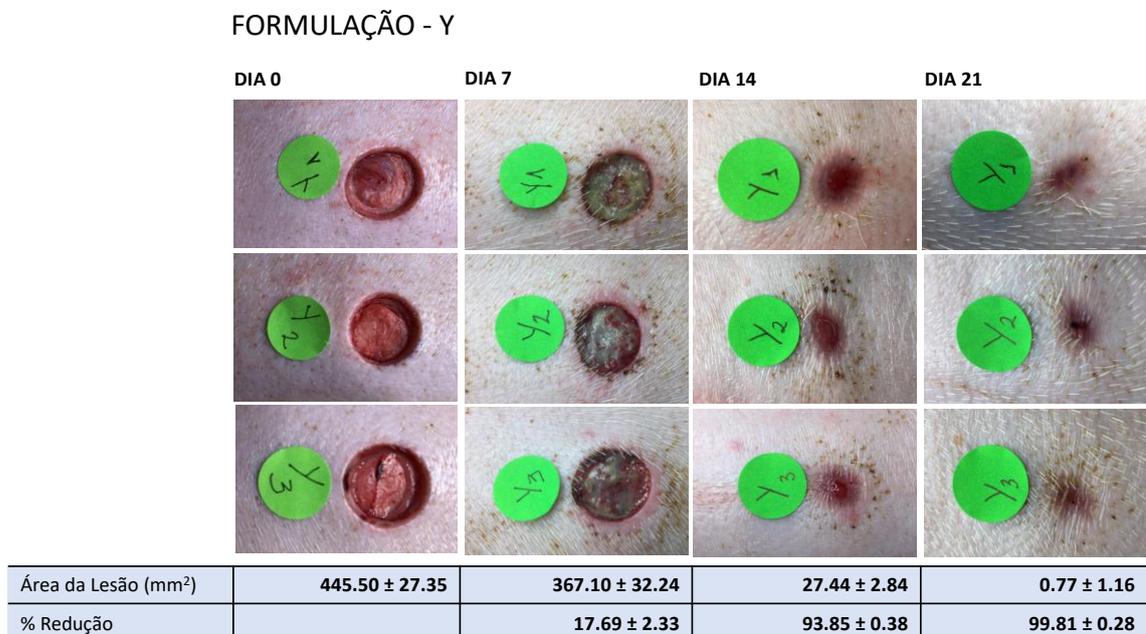


Tabela 6 — Evolução das retrações em mm<sup>2</sup> e % do Ensaio 2.

Trat	Dia 7			Dia 14		Dia 21	
	Área de ferida (mm <sup>2</sup> )	Área de ferida (mm <sup>2</sup> )	% Redução	Área de ferida (mm <sup>2</sup> )	% Redução	Área de ferida (mm <sup>2</sup> )	% Redução
SAL1	426,33	368,95	13,46	52,28	87,74 <sup>a</sup>	2,19	99,49
SAL2	390,19	278,60	28,60	49,73	87,25 <sup>a</sup>	0,00	100,00
PG1	443,50	315,52	28,86	24,80	94,41 <sup>a</sup>	1,37	99,69
PG2	465,84	380,54	18,31	52,81	88,66 <sup>a</sup>	12,73	97,27
AMG1	437,59	305,35	30,22	16,71	96,18 <sup>a</sup>	1,90	99,57
AMG2	410,32	325,54	20,66	36,43	91,12 <sup>a</sup>	3,06	99,26
W1	431,98	369,84	14,39	52,22	87,91 <sup>a</sup>	0,00	100,00
W2	483,64	321,15	33,60	58,18	87,97 <sup>a</sup>	0,00	100,00
W3	395,22	343,78	13,01	16,13	95,92 <sup>a</sup>	0,00	100,00
X1	442,11	363,84	17,70	20,28	95,41 <sup>b</sup>	0,00	100,00
X2	358,23	319,19	10,90	10,47	97,08 <sup>b</sup>	0,00	100,00
X3	378,75	320,82	15,29	8,68	97,71 <sup>b</sup>	0,00	100,00
Y1	463,22	385,06	16,87	30,50	93,42 <sup>b</sup>	0,00	100,00
Y2	414,00	329,88	20,32	24,88	93,99 <sup>b</sup>	2,11	99,49
Y3	459,28	386,35	15,88	26,93	94,14 <sup>b</sup>	0,21	99,95
Z1	405,46	347,18	14,37	9,55	97,64 <sup>b</sup>	0,00	100,00
Z2	397,92	339,26	14,74	32,79	91,76 <sup>b</sup>	0,00	100,00
Z3	437,30	375,70	14,09	22,44	94,87 <sup>b</sup>	0,00	100,00

A análise estatística foi realizada com os valores obtidos em D14. Comparando o controle negativo (SAL) com os demais tratamentos somente X e Y apresentaram porcentagens de redução da área da lesão significativamente maiores ( $P < 0.01$ ) 14 dias após a produção das lesões. Os controles positivos PG e AMG não apresentaram diferenças significativas na % de redução da área das feridas comparadas com o controle negativo. Entre os controles positivos (PG e AMG) não foram observadas diferenças significativas na redução da área das feridas quando comparado aos tratamentos W, X, Y e Z. Sal- Salina, AMG – Amerigel, PG – Plurogel, Hidogéis – W, X, Y e Z.

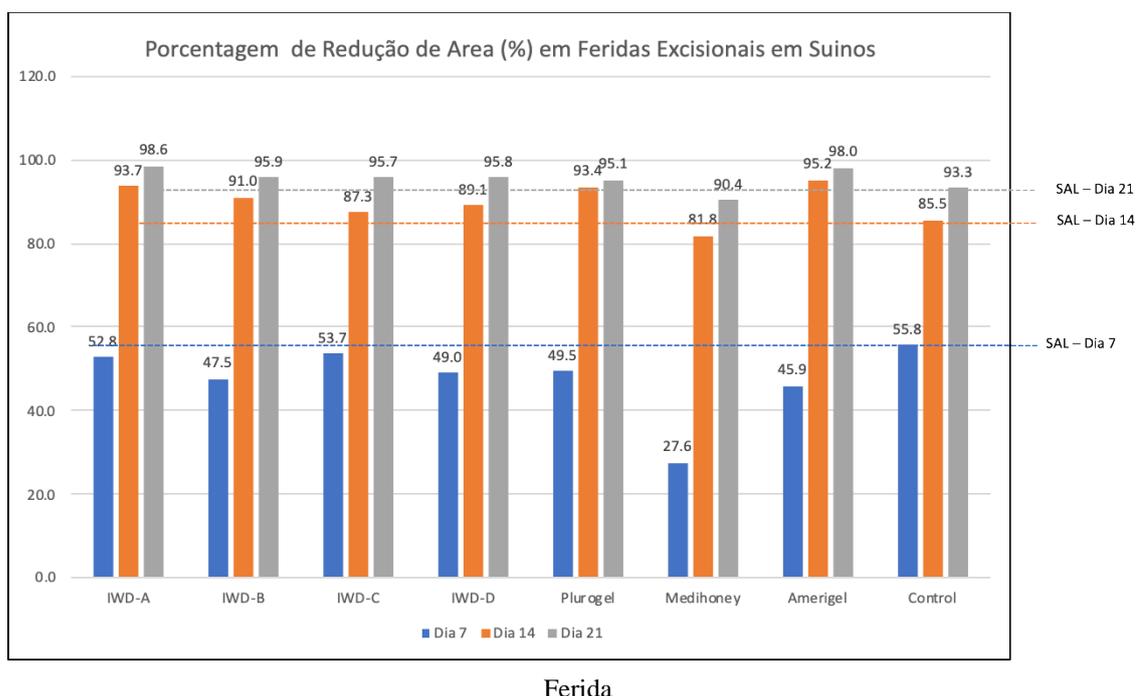
## 12.1. ÁREA DA FERIDA

### Ensaio 1

Como o suíno tinha relativa elasticidade na pele, foi difícil produzir exatamente a mesma espessura circular excisionais, porém os dados mostraram que não houve diferença significativa (ANOVA One Way,  $p > 0,05$ ) entre as áreas basais das lesões. Os dados mostram que na primeira semana de tratamento não houve redução significativa da área da lesão em qualquer um dos tratamentos em comparação com o controle salino. No entanto, na segunda semana todo o tratamento, com exceção do HM, teve melhor desempenho que o controle com

solução salina. A gráfico 1 mostra a área da ferida dos diferentes tratamentos e controle ao longo do período do estudo. Até o final do estudo, o tratamento A apresentou a maior redução percentual da ferida de 98,6% em comparação com o controle SAL de 93,3%. Por algum motivo, provavelmente inflamação por trauma e edema, o tratamento com MH não rendeu resultados satisfatórios no presente estudo.

Gráfico 1 — Redução percentual da área da ferida dos diferentes tratamentos e controle durante o período do estudo no Ensaio 1.

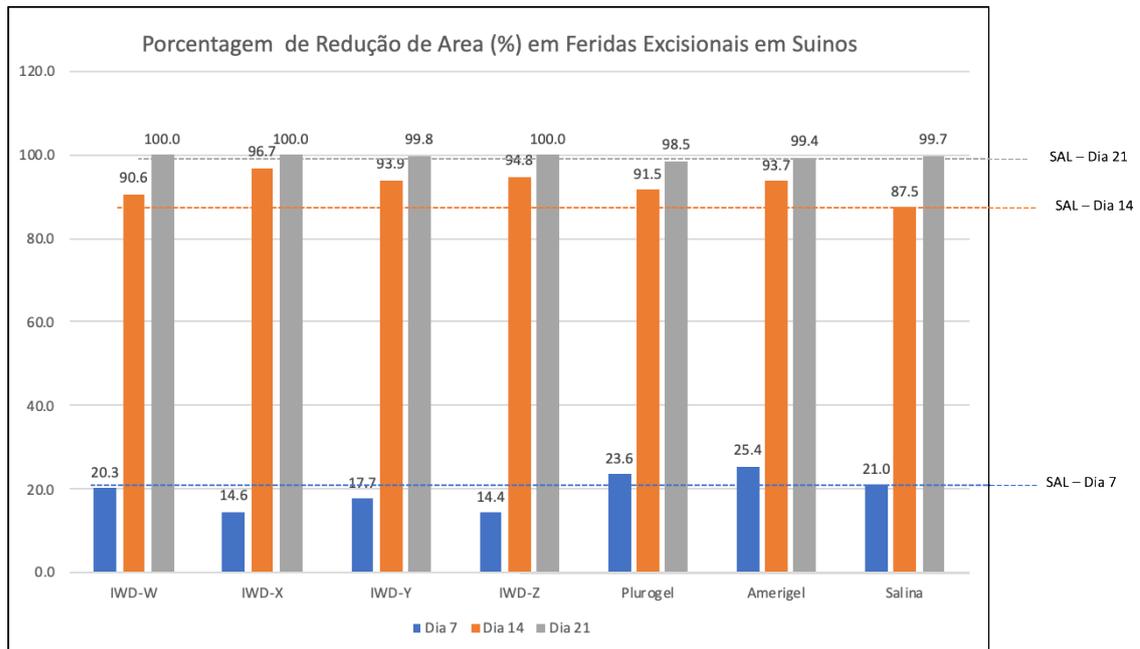


Formulação A (IWD); B, formulação IWD B; C, formulação IWD C; D, formulação D de IWD; PG, Plurogel; MH, Medihoney; AMG, Amerigel; SAL, controle de solução salina.

## Ensaio 2

Com o aperfeiçoamento da técnica cirúrgica as feridas excisionais do ensaio 2 ficaram uniformes no tamanho e espessura e os dados mostraram que não houve diferença significativa (ANOVA One Way,  $p > 0,05$ ) entre as áreas basais das lesões. Na primeira semana somente os tratamentos negativos e positivos tiveram retração maior que 20%. No tratamento de IWD as feridas W obtiveram o melhor fechamento. No D14 os hidrogéis IWD melhoraram seu desempenho apresentando acima de 90% do fechamento de ferida com epitelização e o controle salino demonstrou a pior cicatrização. O tratamento comercial Amerigel® obteve resultado semelhante são IWD. Os hidrogéis IWD W, X e Z conseguiram cicatrizar totalmente antes do D21.

Gráfico 2 — Co Redução percentual da área da ferida dos diferentes tratamentos e controle durante o período do estudo no Ensaio 2.

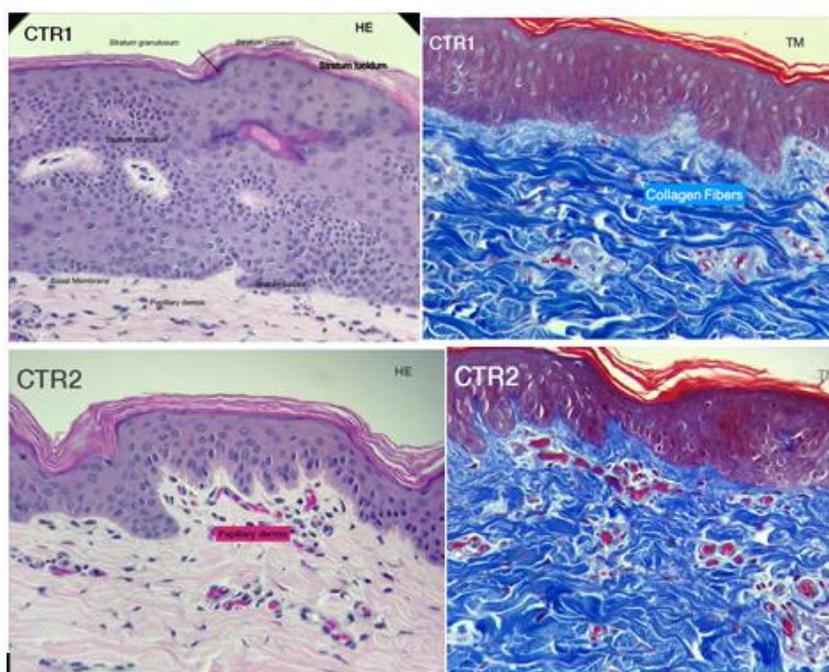


Formulação X IWD X; Y, formulação IWD Y; Z, formulação IWD Z; W, formulação de IWD W; PG, Plurogel; AMG, Amerigel; SAL, controle de solução salina.

## 12.2. CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS DA FERIDA

A figura 37 ilustra as características histológicas da pele suína intacta. Biópsias coletadas de tecido intacto mostraram uma derme muito característica estrutura do tegumento suíno, com tecido conjuntivo denso não modificado com feixes de fibras colágenas, ausência de infiltrado celular atípico e/ou inflamatório e poucas papilas dérmicas. Em geral, os fragmentos observados (CRT1 e CRT2 Ensaio 1 e C19 e C20 ensaio 2) foram totalmente epitelizados com uma fina camada de queratina não comprimida.

Figura 36 — As características histológicas da pele intacta (réplica 1).



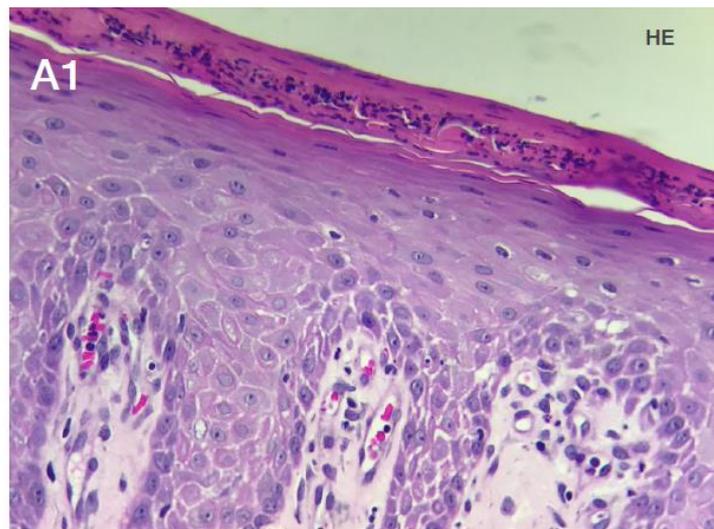
CRT 1. O Fragmento está completamente epitelizado com fina camada de queratina não comprimida e o tecido conjuntivo denso e padronizado. Possui feixes de fibras de colágeno e ausência de infiltrado celular atípico e/ou inflamação e papilas dérmicas escassas.

### Ensaio 1 Histologia

As figuras 38 á 53 demonstram as características histológicas dos tratamentos IWD, controles positivos e negativos. Os cortes histológicos de biópsias retiradas das feridas mostraram estruturas epidérmicas não tão organizadas quanto a pele intacta, e caracterizada principalmente pela presença de infiltrados inflamatórios e tecido conjuntivo frouxo com deposição com fibras mais esparsas e menos densas. As biópsias coletadas das feridas mostraram que, em geral, as formulações IWD-A e D tiveram melhora tecidual em 15 dias com formação de epiderme, invaginação e deposição de queratina por queratinócitos estratificados. A formulação C foi a mais longa para chegar a este estágio, e dentre os predcados o produto AMG foi o que mais rapidamente reconstituiu a epiderme e estruturas dérmicas. Por outro lado, o produto MH levou mais tempo para reparar as camadas da pele. Praticamente em todas as biópsias coletadas após 15 dias de tratamento, foram encontrados infiltrados inflamatórios de células mononucleares. Sinais de hemorragias superficiais pequenas foram observados em biópsias coletadas de feridas tratadas com PG e MH, e como mostrado por cortes histológicos com eritrócitos destacando-se das superfícies dos

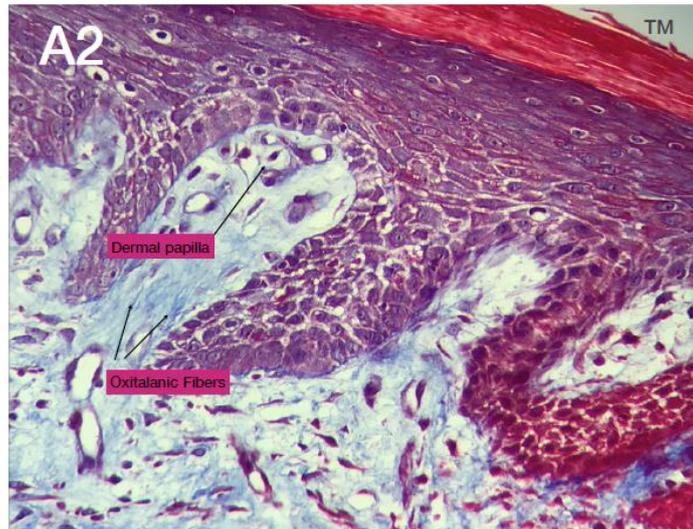
fragmentos. Após 21 dias, os cortes histológicos das biópsias das feridas tratadas com IWD mostraram organização e estratificação das estruturas epidérmicas, com a distinção entre os diferentes estratos das camadas da epiderme, mesmo em lesões tratadas com a formulação IWD-C. Por outro lado, as feridas tratadas com HM e SAL tiveram formação incompleta da epiderme ao final de 21 dias de tratamento.

Figura 37 — Características histológicas da ferida tratada com IWD - A (réplica 1) - A1.



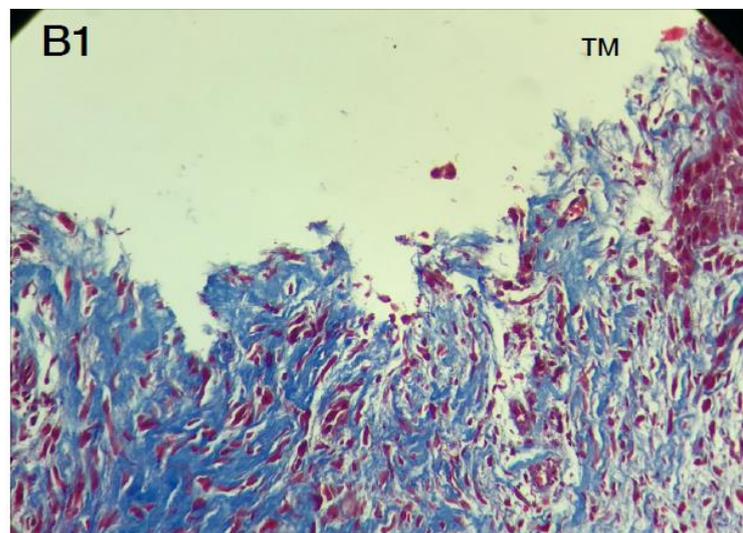
Epitélio estratificado queratinizado, epiderme com invaginações típicas desenvolvidas, presença de infiltrado inflamatório mononuclear e deposição de tecido fibroelástico e presença abundante de papilas dérmicas.

Figura 38 — Características histológicas da ferida tratada com iwd-a (replicação 2) – A2.



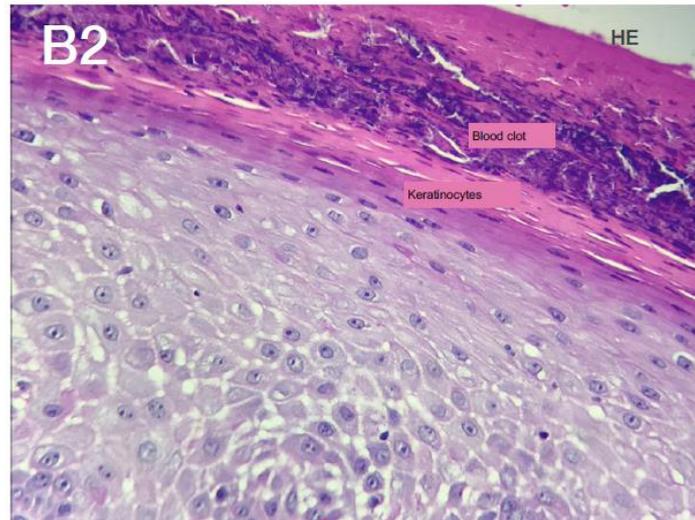
Fragmento totalmente epitelizado com fina camada de queratina não comprimida e epiderme com invaginações típicas, tecido conjuntivo frouxo, feixes de fibras de colágeno, infiltrado celular, poucas papilas dérmicas

Figura 39 — Características histológicas da ferida tratada com IWD - B (réplica 1) – B1.



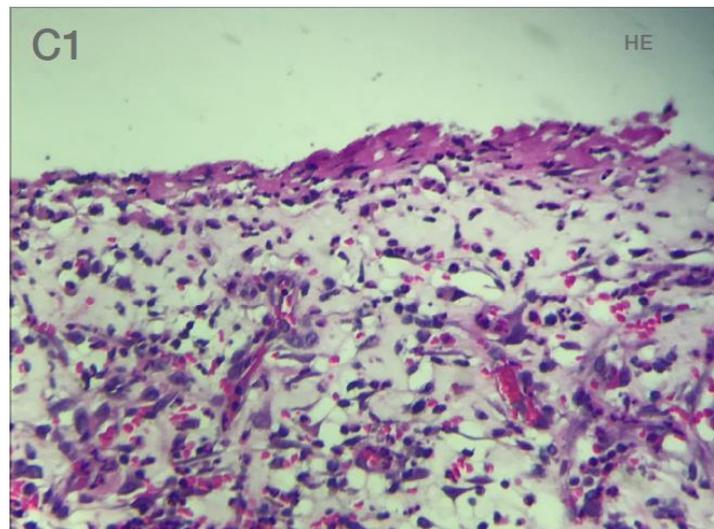
Presença queratinizada de papilas dérmicas, Presença de infiltrado inflamatório mononuclear e deposição de tecido fibroelástico, Epitélio estratificado de tecido conjuntivo subepitelial denso com um epitélio não epitelizado.

Figura 40 — Características histológicas da ferida tratada com IWD-B (replicação 2) – B2.



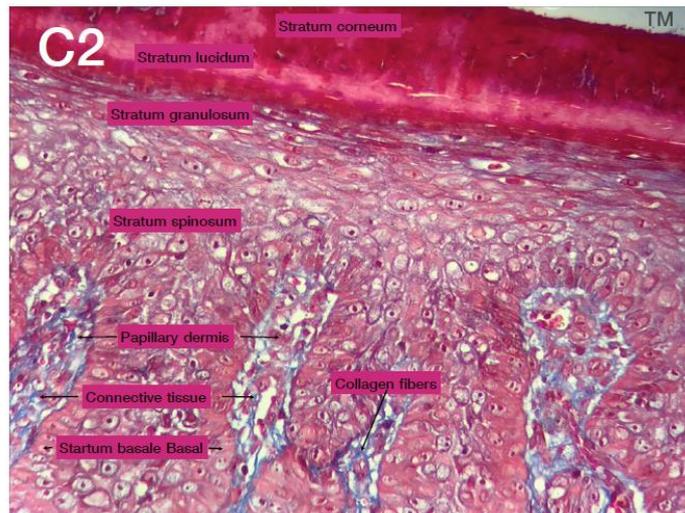
Fragmento totalmente epitelizado com restos de coágulo superficial, Tecido conjuntivo frouxo, Feixes de fibras de colágeno, infiltrado mononuclear no tecido conjuntivo e muitas papilas dérmicas.

Figura 41 — Características histológicas da ferida tratada com IWD-C (réplica 1) – C1.



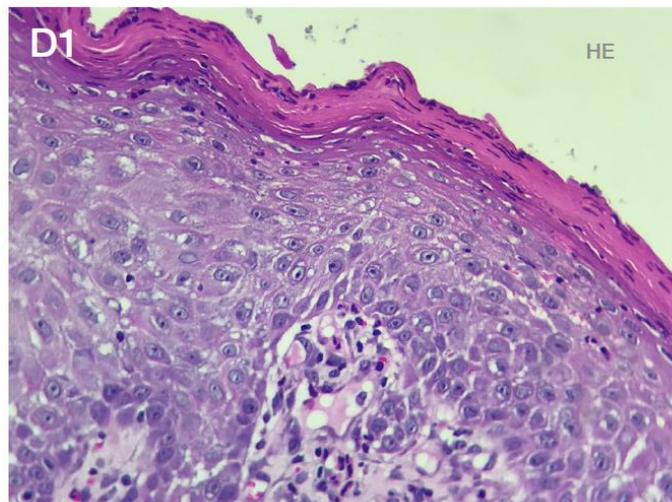
Epitélio estratificado queratinizado, Ausência de papilas dérmicas, Zona de lesão pouco queratinizada e Tecido conjuntivo subepitelial solto.

Figura 42 — Características histológicas da ferida tratada com IWD-C (replicação 2) – C2.



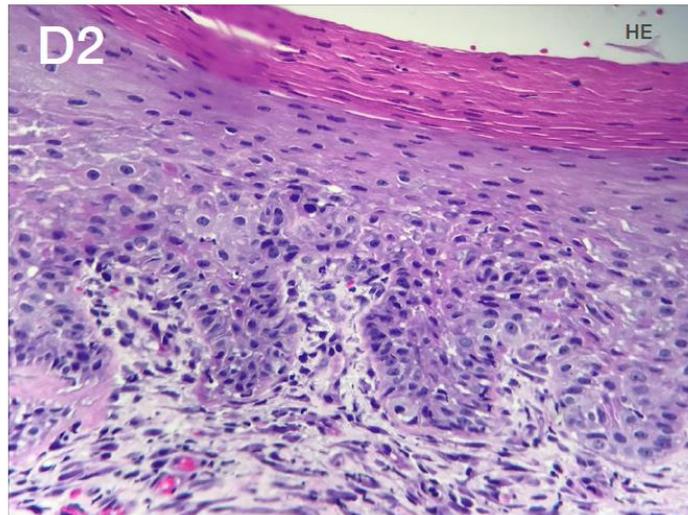
Fragmento totalmente epitelizado com vestido de queratina, Tecido conjuntivo frouxo, infiltrado mononuclear no conjuntivo, muitas papilas dérmicas com capilares.

Figura 43 — Características histológicas da ferida tratada com IWD-D (réplica 1) – D1.



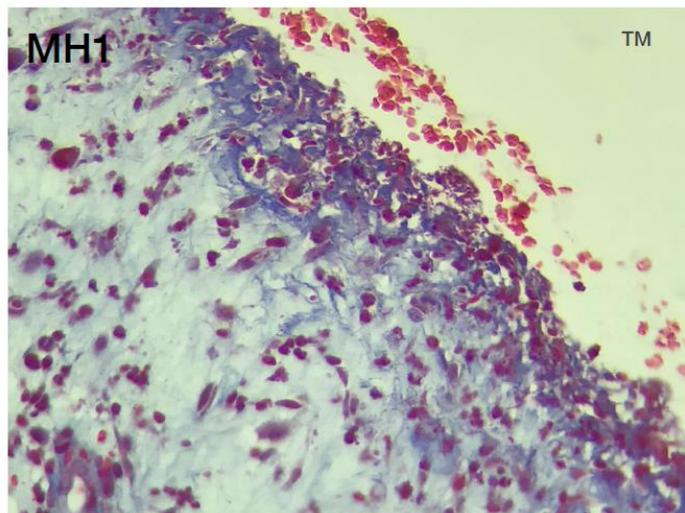
Epitélio estratificado queratinizado típico, Presença de papilas dérmicas e Tecido conjuntivo subepitelial solto.

Figura 44 — Características histológicas da ferida tratada com IWD-D (replicação 2) – D2.



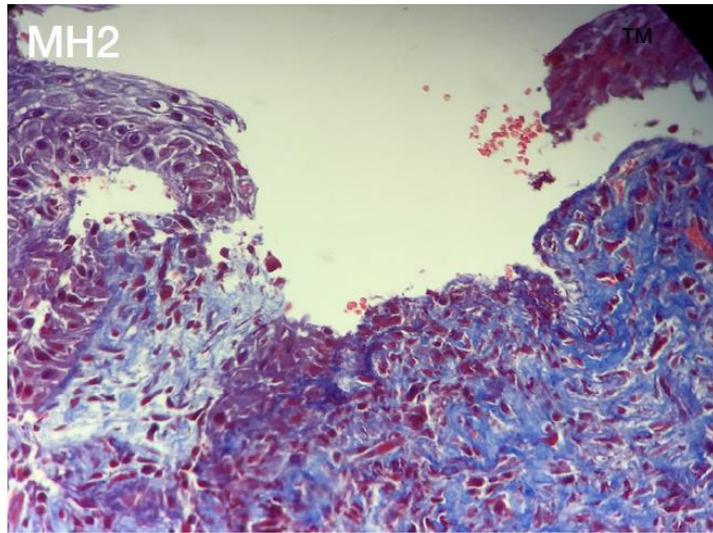
Fragmento epitelizado com casca de queratina, tecido conjuntivo frouxo, infiltrado mononuclear no conjuntivo e muitas papilas dérmicas com capilares.

Figura 45 — Características histológicas da ferida tratada com Medihoney (réplica 1) - MH1.



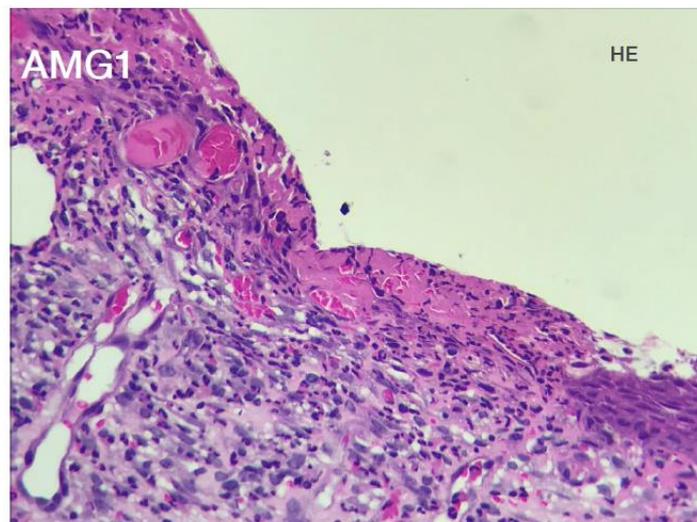
Fragmento não totalmente epitelizado, Zona apical do fragmento com menor concentração celular e com conteúdo fibroso reduzido é uma indicação de edema. Presença de eritrócitos destacando-se da superfície da ferida e infiltrado inflamatório.

Figura 46 — Características histológicas da ferida tratada com Medihoney (replicação 2) – MH2.



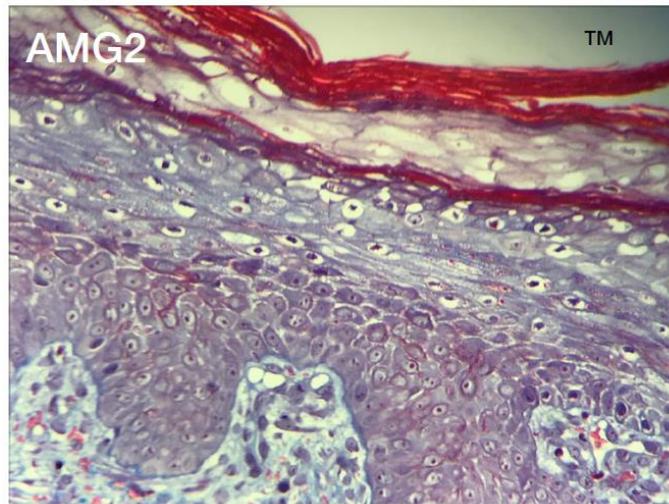
Fragmento central não epitelizado, infiltrado celular no tecido conjuntivo frouxo e deposição intensa de fibras de colágeno.

Figura 47 — Características histológicas da ferida tratada com Amerigel (réplica 1) – AMG 1.



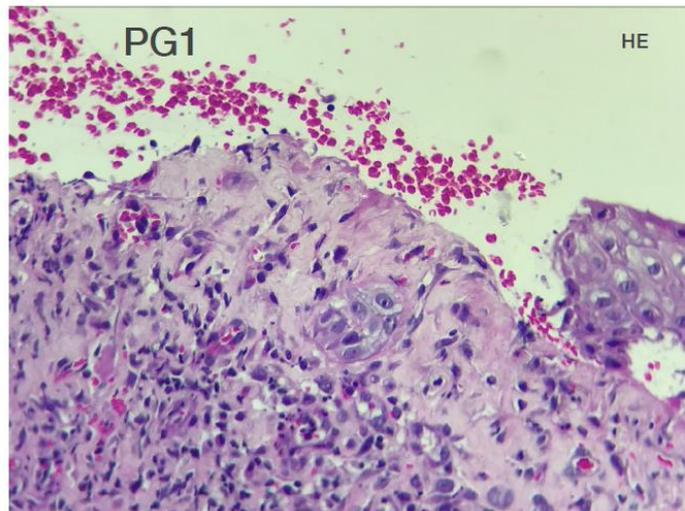
Fragmento epitelizado, presença de neovascularização e infiltrado polimorfonuclear discreto e infiltrado mononuclear.

Figura 48 — Características histológicas da ferida tratada com Amerigel (replicação 2) – AMG2.



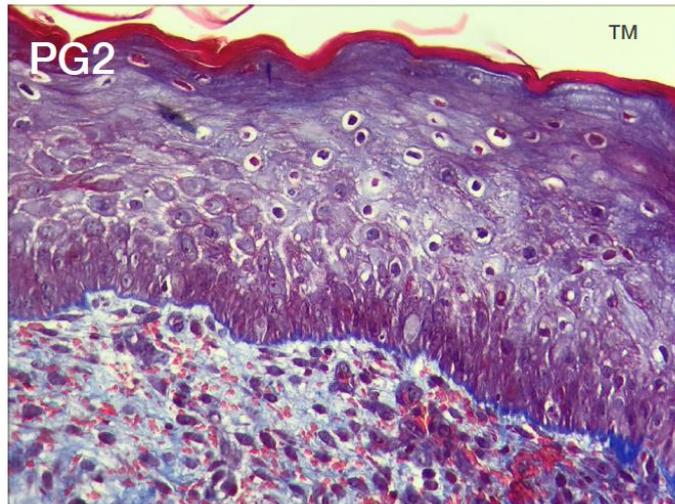
Fragmento epitelizado, aspectos de normalidade, exceto por infiltrado frouxo de células conjuntivas e subepitelial evidente vascularização e áreas adjacentes aos folículos capilares com maior nível de celularidade.

Figura 49 — Características histológicas da ferida tratada com Plurogel (réplica 1) – PG1.



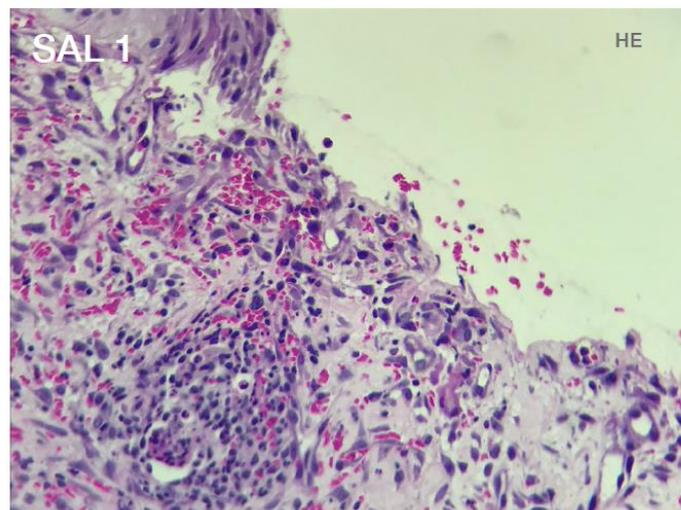
Fragmento parcialmente epitelizado presença de eritrócitos destacando-se da superfície da ferida, presença de infiltrado inflamatório mononuclear e deposição de tecido fibroelástico e presença significativa de vascularização.

Figura 50 — Características histológicas da ferida tratada com Plurogel (replicação 2) – PG2.



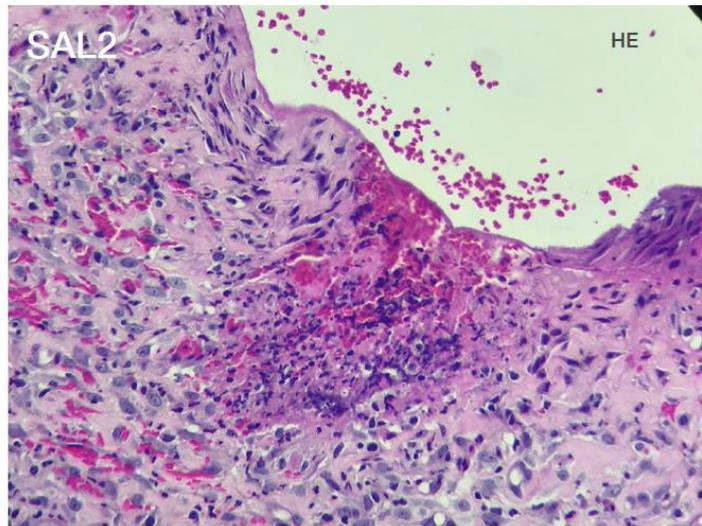
Fragmento epitelizado sem papilas dérmicas e tecido conjuntivo frouxo subepitelial.

Figura 51 — Características histológicas da ferida tratada com soro fisiológico (réplica 1) – SAL1.



Fragmento parcialmente epitelizado com epiderme incipiente sem invaginações, zonas fibróticas na região central da ferida, infiltrado polimorfonuclear e infiltrado mononuclear na região central da ferida.

Figura 52 — Características histológicas da ferida tratada com soro fisiológico (replicação 2) -SAL2.

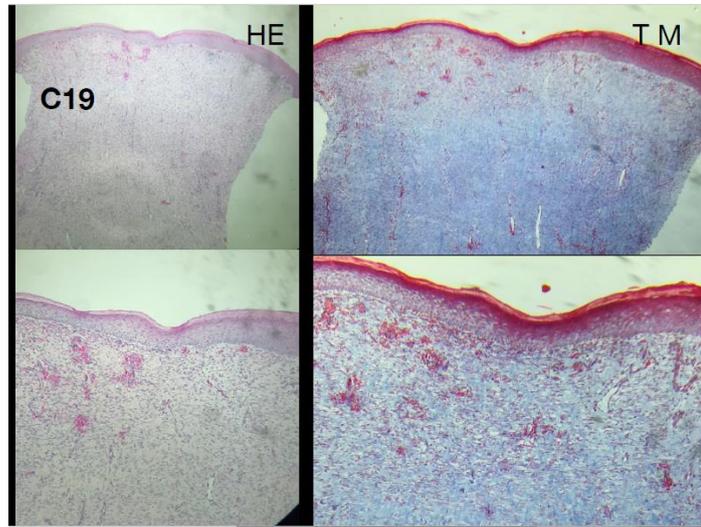


Má epitelação e conteúdo fibroelástico em porções superficiais com pequena queratinização.

### **Ensaio 2 Histologia**

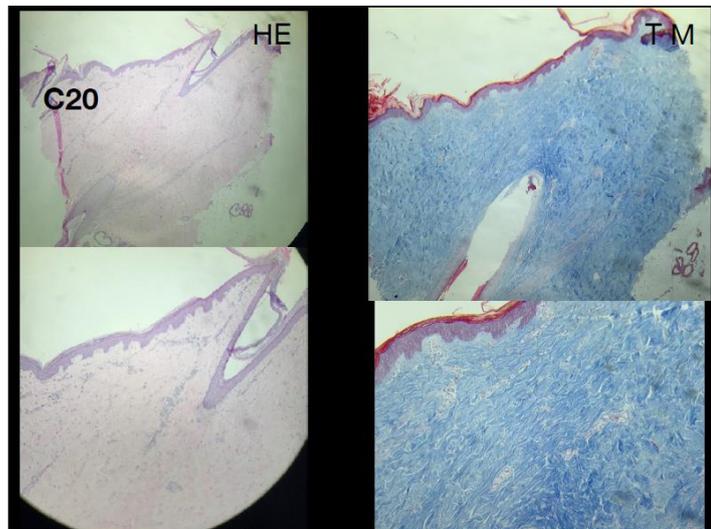
As figuras de número 54 até 73 representam a análise histológica do segundo ensaio. As imagens obtidas com aumentos de 4x, 10x, 40x. Essa amostragem de espécimes apresentou muita semelhança no padrão descritivo. Os fragmentos estavam completamente epitelaizados com delgada camada de queratina. No epitélio estratificado foram observadas características de remodelamento de um tecido jovem. Nas lâminas foi observado a presença dos estratos típicos da pele. No conjuntivo observou-se tipicidade do conteúdo celular e da organização fibrilar e vascular. Havia presença de fibroblastos com morfologia fusiforme típica, macrófagos, adipócitos e vários acúmulos eritrócíticos fixados devido ao corte *in vivo*. No tecido conjuntivo notou - se mais celularização na porção superficial subjacente ao epitélio. Houve redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime e não foram identificados infiltrados mononuclear e/ou polimorfonuclear. Somente nos fragmentos de C9 foi evidenciado na imagem ampla da lâmina tecido conjuntivo denso com presença de folículos pilosos e glândula sebácea e no fragmento de C12 observou-se sobre a camada córnea e queratina crosta formada por resíduo de tecido necrótico desidratado. O infiltrado leucocitário estava impregnado em meio à matriz necrótica.

Figura 53 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – C19.



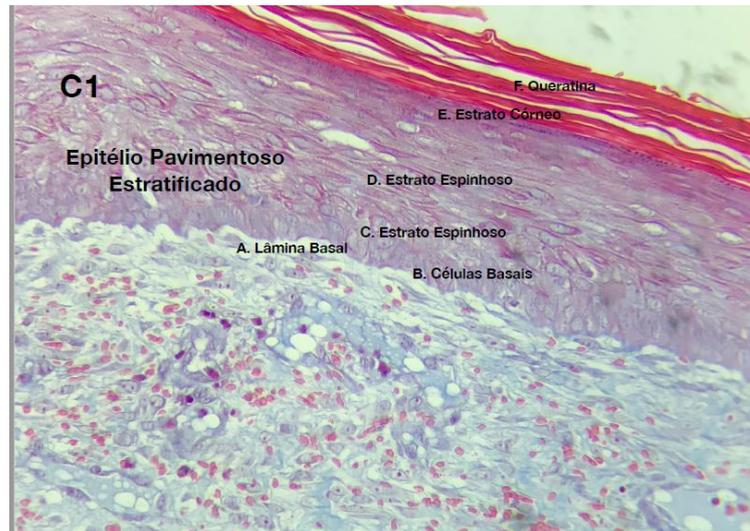
Fragmento completamente epitelizado com delgada camada de queratina não comprimida, estratificação típica, conteúdo celular padrão, presença de fibroblastos fusiformes típicos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio.

Figura 54 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – C20.



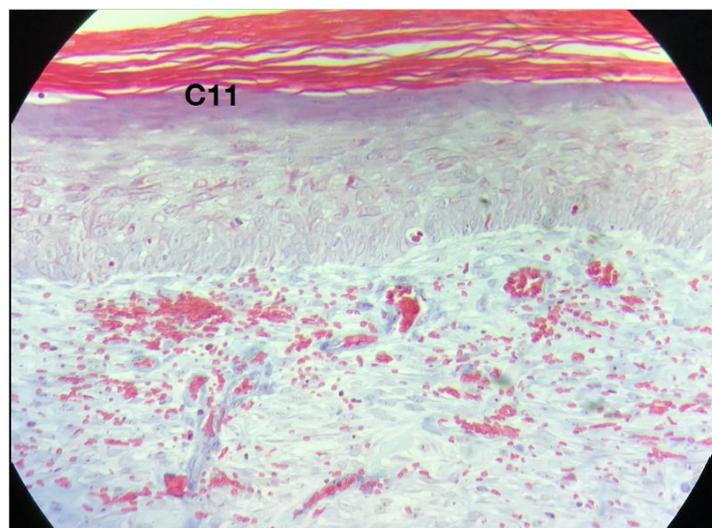
Fragmento completamente epitelizado com delgada camada de queratina não comprimida, estratificação típica, conteúdo celular padrão, presença de fibroblastos fusiformes típicos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio.

Figura 55 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – Z1.



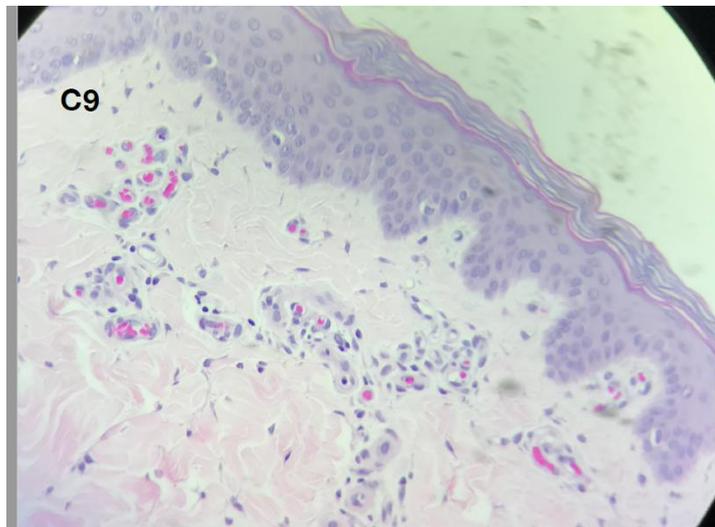
Fragmento completamente epitelizado com delgada camada de queratina. No epitélio estratificado foram observadas características de remodelamento de um tecido jovem. Notou-se a presença dos estratos típicos da pele. No conjuntivo observou-se tipicidade do conteúdo celular e da organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos com morfologia fusiforme típica, macrófagos, adipócitos e vários acúmulos eritrocíticos fixados devido ao corte *in vivo*. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime. Não foram identificados infiltrados mononuclear e/ou polimorfonuclear.

Figura 56 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – Z2.



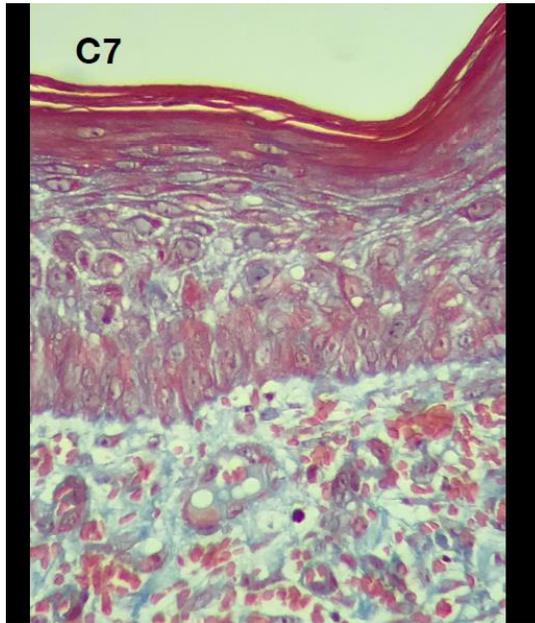
Fragmento completamente epitelizado com delgada camada de queratina. No epitélio estratificado foram observadas características de remodelamento de um tecido jovem. Notou-se a presença dos estratos típicos da pele. No conjuntivo observou-se tipicidade do conteúdo celular e da organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos com morfologia fusiforme típica, macrófagos, adipócitos e vários acúmulos eritrocíticos fixados devido ao corte *in vivo*. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime. Não foram identificados infiltrados mononuclear e/ou polimorfonuclear.

Figura 57 — Características histológicas da pele intacta (réplica 3) – Z3.



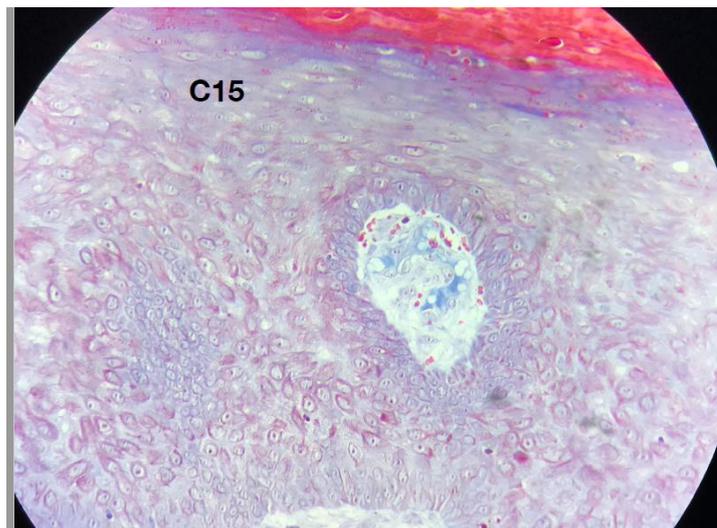
Fragmento completamente epitelizado com delgada camada de queratina. Na imagem ampla da lâmina evidenciou-se conjuntivo denso com presença de folículos pilosos e glândula sebácea.

Figura 58 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – X1.



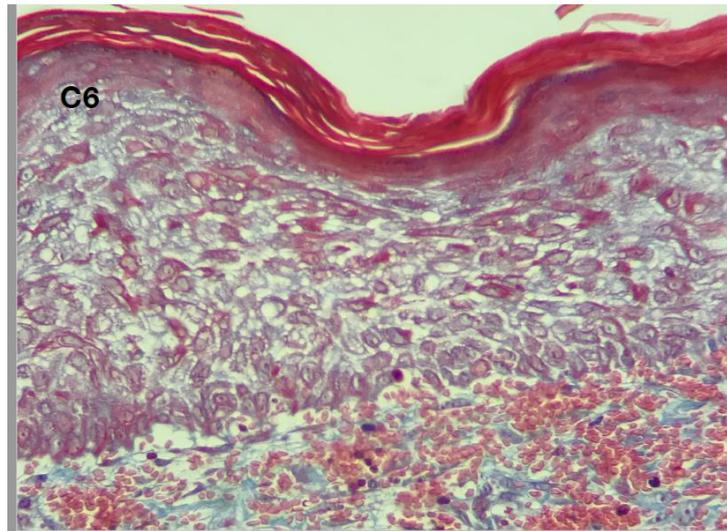
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 59 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – X2.



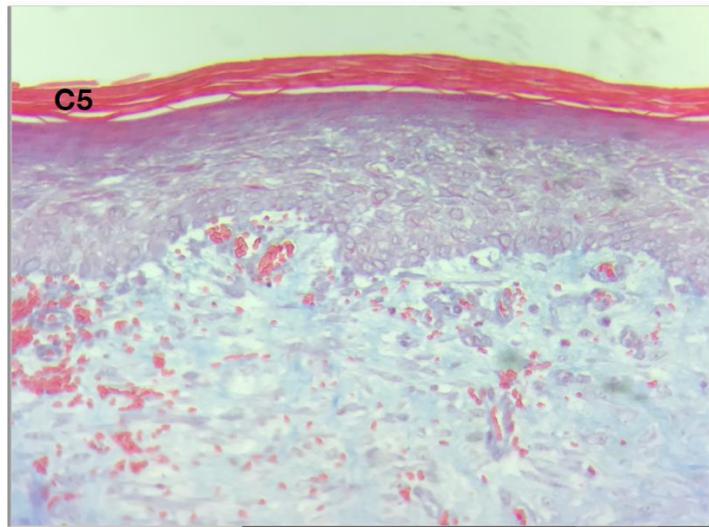
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 60 — Características histológicas da pele intacta (réplica 3) – X3.



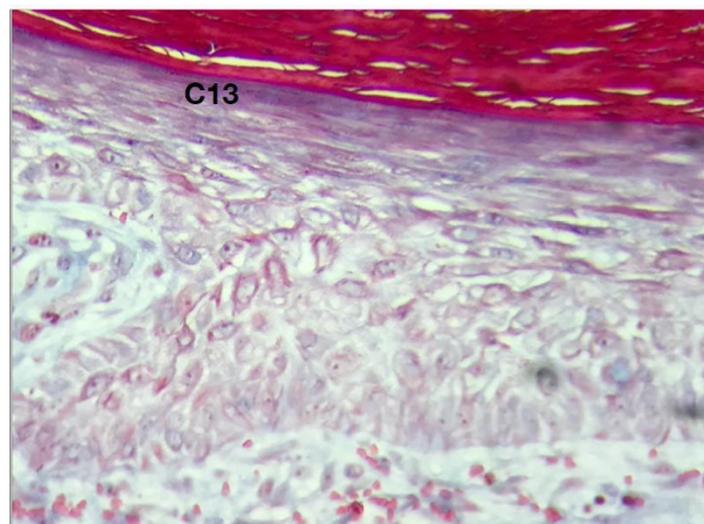
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 61 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) –Y 1.



Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

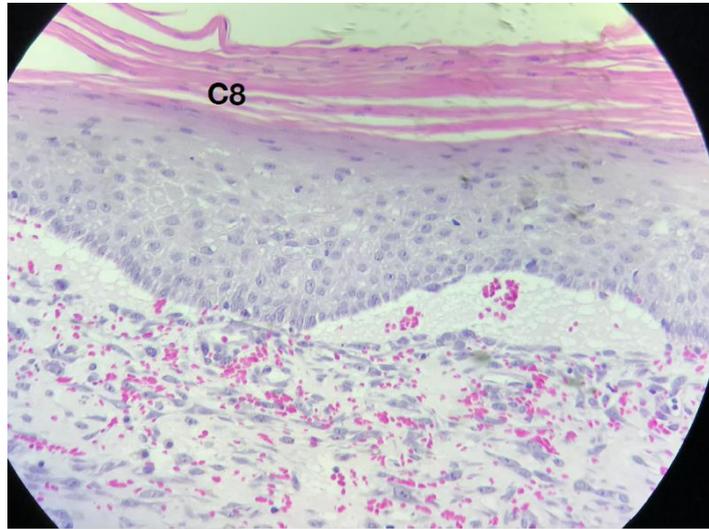
Figura 62 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) –Y 2.



Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da

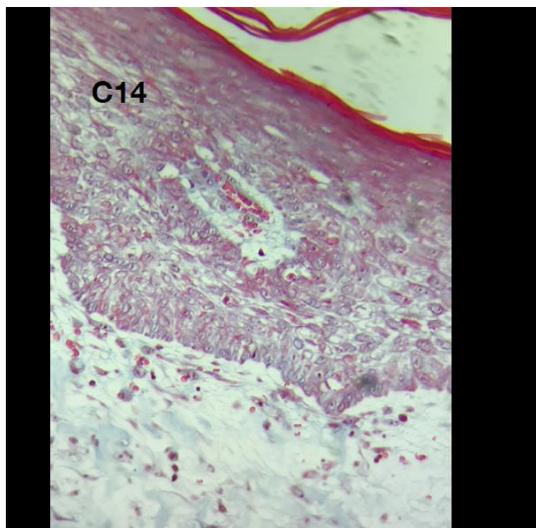
concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 63 — Características histológicas da pele intacta (réplica 3) –Y 3.



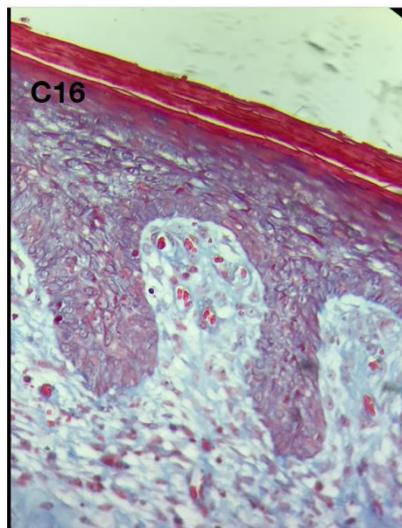
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 64 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) –W1



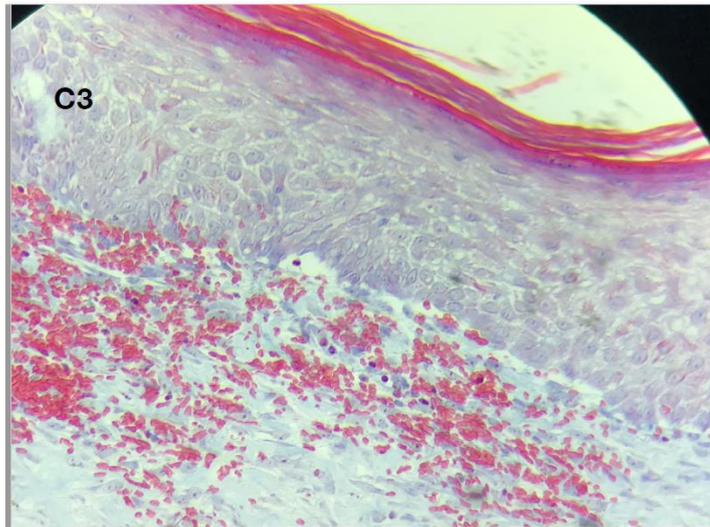
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 65 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) –W2.



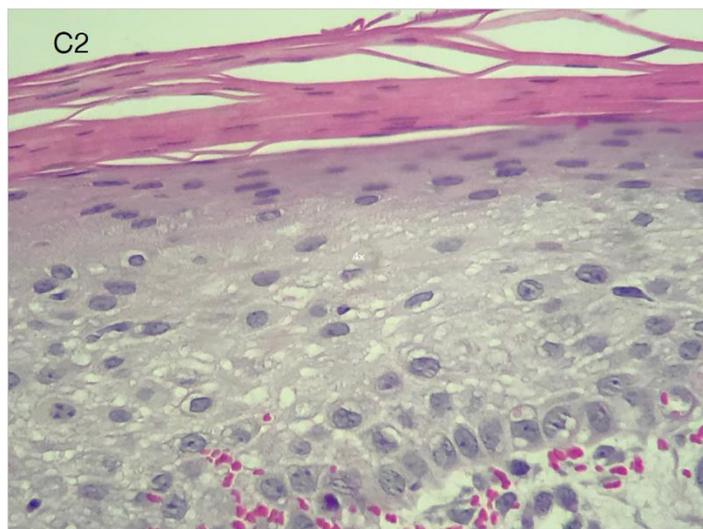
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 66 — Características histológicas da pele intacta (réplica 3) –W3.



Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

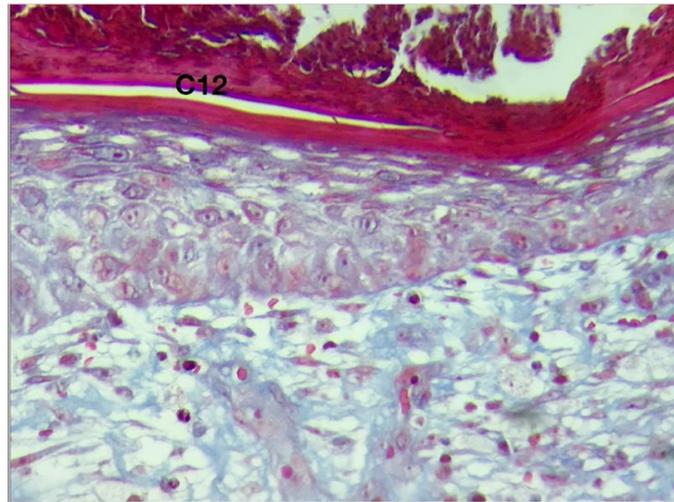
Figura 67 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) –PG1.



Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da

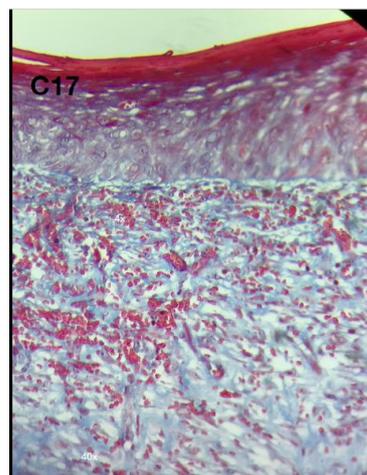
concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 68 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) –PG2.



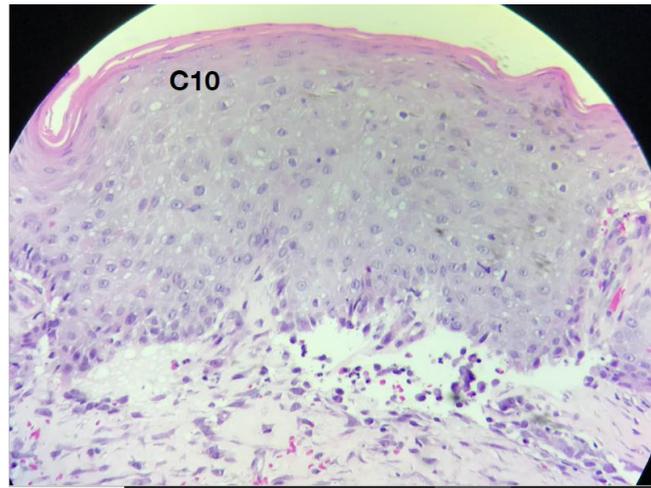
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime. Observou-se sobre a camada córnea e queratina crosta formada por resíduo de tecido necrótico desidratado. Infiltrado leucocitário impregnado em meio à matriz necrótica. Abaixo da crosta nota-se o tecido epitelial em remodelação, típico de um processo cicatricial.

Figura 69 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – AMG1.



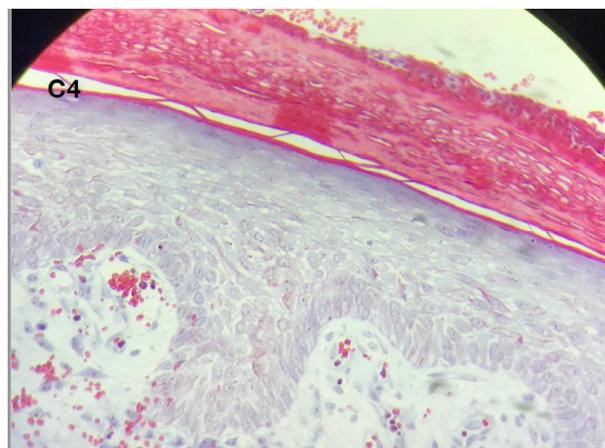
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 70 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – AMG2.



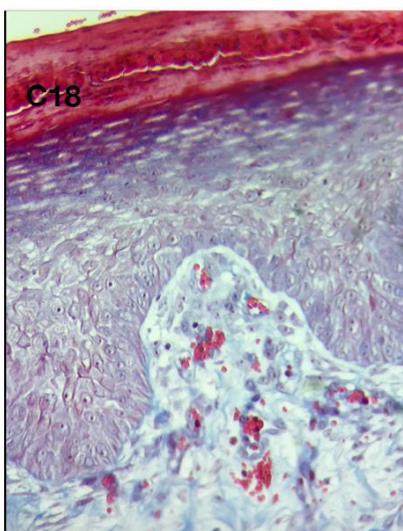
Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 71 — Características histológicas da pele intacta (réplica 1) – SAL 1.



Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

Figura 72 — Características histológicas da pele intacta (réplica 2) – SAL 2.



Fina camada de queratina. Remodelamento de tecido. Organização fibrilar e vascular. Presença de fibroblastos, macrófagos, adipócitos e eritrócitos. O conjuntivo apresentou-se mais celularizado na porção superficial subjacente ao epitélio. Notou-se redução da concentração celular e aumento da quantidade de colágeno nas porções mais profundidade do espécime.

### **Discussão**

O presente trabalho foi realizado em parceria com a empresa INNOVACORIUM Gainesville – FL – USA e a Universidade De Brasília com o intuito de testar pomadas de hidrogel (IWD) com Andrographolide (*Andrographis paniculata*), Baicalin (*Scutellaria baicalensis*), e Própolis, pois esses compostos juntos tem grande capacidade de melhorar a cicatrização de feridas com suas propriedades anti-biofilme, anti-inflamatórias, neo-angiogênica, anti-agregação plaquetária e atividade fibroblástica. Os ativos separadamente já foram testados em uma série de ensaios clínicos e obtiveram resultados satisfatórios acelerando a cicatrização de feridas, epitelização e regeneração epidérmica (TRACY;

MINASIAN; CATERSON, 2016; NURHASTUTI, 2019; LIU; BAO; WU, 2020). As formulações IWD foram testadas comparativamente com três hidrogéis de uso comercial utilizadas para o fechamento de feridas crônicas e controle negativo com solução salina. Devido à sobrecarga existente nos tratamentos convencionais para manejo de feridas pesquisas com novos ativos fitotetápicos são de extrema importância para humanos visto que são componentes naturais e causam menor resistência bacteriana e rejeição fisiológica (BOBBO MORESKI; GIACOMINI BUENO; VIEIRA DE SOUZA LEITE-MELLO, 2018). O modelo experimental, em roedores e logomorfos, foi usado largamente, porém a cicatrização nesses animais ocorre de forma diferenciada. A anatomia, fisiologia e histologia são diferentes e a retração da ferida se dá pela retração do pânículo carnosus. Dessa forma, o modelo excisional em suínos foi escolhido devido a similaridade com humanos nas partes anatômicas e fisiológicas de todo processo de cicatrização ,(ZUO; YU; LU, 2016b). Além disso, o corte profundo da derme até a fáscia muscular exige que o corpo cicatrize por segunda intenção, precisando reestruturar toda a derme. Isso demanda de maior suporte externo (curativos e pomadas) para fechar a ferida sem que haja contaminação. (REFERENCIA). O modelo suíno também garante que comparações de vários tratamentos sejam feitas no mesmo indivíduo diminuindo assim possíveis variações. (THEUNISSEN et al., 2016).

Três métodos foram utilizados para avaliar e comparar os efeitos do tratamento sendo eles a avaliação visual, avaliação planimétrica digital para estimar a retração de ferida e análise histológica (DAVIS et al., 2018; NURHASTUTI, 2019; OLIVEIRA et al., 2020).

Os compostos utilizados nos hidrogéis IWD tem ação antibiofilme, desbridante, angiogênica epitelizante, anti-inflamatória, anti-agregante plaquetária, cicatrizante e fibrinolítica e devido a isso, o comportamento das feridas corresponde com os ensaios clínicos já relatados (MANCONI et al., 2018; ASTRADA et al., 2019; ZHANG et al., 2020). Na avaliação visual das feridas do Ensaio 1, houve um desprendimento precoce de debris entre D7/D8 nas formulações IWD, por consequência também houve um início de preenchimento de granulação mais precoce (D13), em relação aos controles positivos e negativo. Essa retração mais significativa das feridas com as formulações IWD tem em vista a alta capacidade do Própolis e do Hidrogel no desbridamento, reduzindo a quantidade de tecido desvitalizado e melhorando o tecido de granulação para desenvolver feridas mais saudáveis (WANG et al., 2020; ROCHA et al., 2022). No Ensaio 2, os hidrogéis reformulados com as novas concentrações (Tabela 1) (X, Y, W e Z) conseguiram melhorar o seu desempenho, pois

houve encurtamento da fase inflamatória (D0 / D4) e o desbridamento das feridas iniciaram de forma antecipada (D5). Isso acelerou a formação do tecido de granulação (D8) e em D9 as feridas tratadas com IWD apresentaram significativa retração. E antes do término do experimento alguns tratamentos (IWD – W e IWD – Z) estavam com epitelização total (Gráfico 2). Em ambos os Ensaio, na fase de remodelamento (D8/ D21), as feridas tratadas com IWD demonstraram de forma clara formação de granulação e epitelização efetiva. Segundo Manconi e colaboradores (2018), estudos com camundongos *in vivo* demonstraram que o Baicalin propiciou restauração completa de pele, maior angiogênese e com menor inflamação. Os ativos que compõem os fitoterápicos são naturais e não produziram nenhum efeito adverso nos tratamento IWD (ROSSITER et al., 2010; ORYAN et al., 2016).

A própolis verde consegue melhorar a angiogênese e a deposição de colágeno melhorando a qualidade e resistência da cicatrização. Com a ferida livre de patógenos e sendo auxiliada pelos ativos todo processo de fechamento e acelerado. A análise de retração de ferida através da planimetria digital evidenciou no Ensaio 1, que mesmo as formulações de hidrogel IWD terem sido mais significantes na retração das feridas do que os controles (GRÁFICO 1), não houve reepitelização completa ao final dos 21 dias de experimento. Contudo, no Ensaio 2 as feridas tratadas com IWD passaram por um processo inflamatório mais curto, uma primeira semana com retração pouco expressiva em todos os tratamentos e depois as feridas retraíram as bordas de modo que antes do fim do experimento algumas estavam totalmente epitelizadas (IWD- W e IWD- Z) (Gráfico 2).

Os principais componentes do IWD tem capacidade de melhorar a deposição de colágeno e epitelização. Na análise histológica os materiais dos tratamentos IWD coletados no Ensaio 1 apresentaram de forma geral deposição expressiva de tecido fibroelástico, epitelização, tecido conjuntivo frouxo e fibras de colágeno de forma mais expressiva que nos grupos controles. As os grupos tratados com IWD apresentaram qualidade superior na cicatrização devido o uso dos os ativos presentes no própolis, andrographolide e baicalin que agem potencializando a deposição de colágeno, proteção antibacteriana e epitelização (JIA et al., 2018; PICOLOTTO et al., 2019). No Ensaio 2 o tratamento com hidrogel houve depósito de colágeno e epitelização maior e caracterização celular muito parecida para todos os tratamentos.

De acordo com as análises visuais, planimétricas digitais e histológicas as formulações de IWD obtiveram resultados significativamente superiores no preenchimento, retração de ferida

e qualidade cicatricial nos dois ensaios, comparativamente, com os grupos controles negativo e positivo. Esse resultado se ocorreu devido a ação dos ativos em todas as fases de cicatrização.

### 13. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que todas as formulações de IWD demonstraram eficácia curativa em suínos testados com feridas excisionais de espessura total em comparação com lesões tratadas com solução salina. Os produtos PG e AMG também demonstraram eficácia de cura no teste. No Ensaio 1ª formulação IWD - A e o produto AMG realizaram o melhor percentual de redução em 21 dias da ferida acima de 98%. As formulações IWD no Ensaio 2 se comportaram de maneira similar atingindo resultados elevados e semelhantes. Diferenças nas fases de cicatrização das feridas excisionais dos suínos entre os diferentes tratamentos e controle foram acompanhados histologicamente para confirmar reorganização tecidual ao longo do processo de reparação da pele. No E1 novamente, IWD-A e D e AMG mostraram avançada reestruturação da camada epidérmica desde o 15º dia de tratamento conseguindo maior deposição de colágeno e epitelização. As feridas do E2 também conseguiram agregar componentes que melhoram a cicatrização. No exame visual dos dois ensaios os tratamentos de IWD conferiram as feridas melhor aspecto, debridação e formação de tecido granuloso. As pomadas foram efetivas, pois se equipararam aos tratamentos comerciais e melhoraram a qualidade da cicatrização. O modelo de estudo excisional in vivo em suínos foi efetivo para o estudo de cicatrização.

O manejo de feridas tem importância global devido as limitações que podem criar. Novos estudos com novos ativos devem ser realizados, pois a devemos desenvolver tratamentos que além de melhorar o fechamento melhore também a qualidade da cicatriz.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. C.; MCBAIN, A. J.; SIMÕES, M. Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. **Natural Product Reports**, v. 29, n. 9, p. 1007–1021, 2012.

ACCESS, O. Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA DOI : <http://dx.doi.org/10.31072> ISSN : 2179-4200 IMUNIZAÇÃO : A FALTA DE ADESÃO COMO UM PROBLEMA DE SAÚDE Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA DOI : <http://.> p. 10–13, 2022.

AMROYAN, E. et al. Inhibitory effect of andrographolide from *Andrographis paniculata* on PAF-induced platelet aggregation. **Phytomedicine**, v. 6, n. 1, p. 27–31, 1999.

ASTRADA, A. et al. Successful treatment of a diabetic foot ulcer with exposed bone using Trigona honey: A case study. **Journal of Wound Care**, v. 28, n. 12, p. S4–S8, 2019.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mechanisms involved in wound healing: A revision. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27–51, 2005.

BARELLI, L. et al. No AVALIAÇÃO IN VIVO DO POTENCIAL PARA REPARO TECIDUAL UTILIZANDO HIDROGEL DE POLISSACARÍDEOS ASSOCIADO OU NÃO A LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE Title. **Energies**, v. 6, n. 1, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1120700020921110%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.ruma.2018.06.001%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.arth.2018.03.044%0Ahttps://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1063458420300078?token=C039B8B13922A2079230DC9AF11A333E295FCD8>>.

BATISTA, L. L. V. et al. Comparative study of topical green and red propolis in the repair of wounds induced in rats. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 39, n. 6, p. 515–20, 2012.

BLACKSTONE, B. N. et al. Scar formation following excisional and burn injuries in a red Duroc pig model. **Wound Repair and Regeneration**, v. 25, n. 4, p. 618–631, 2017.

BOBBO MORESKI, D.; GIACOMINI BUENO, F.; VIEIRA DE SOUZA LEITE-MELLO, E. Ação Cicatrizante De Plantas Medicinai: Um Estudo De Revisão. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 22, n. 1, p. 63–69, 2018.

BOER, M. et al. Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. **Postepy Dermatologii i Alergologii**, v. 33, n. 1, p. 1–5, 2016.

BRINGEL, F. D. A. Avaliação morfofuncional de pele humana conservada em glicerol e submetida à radiação gama : estudo em camundongos atímicos Fabiana de Andrade Bringel. 2011.

CAI, B. et al. Baicalin suppresses the progression of preeclampsia via regulating miR-155-5p/FOXO3 axis. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 0, n. 0, p. 1–10, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10799893.2020.1870493>>.

CAMPOS, A. C. L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A. K. meu tcc parece igual Wound healing. **Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva**, v. 20, n. 1, p. 51–58, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abcd/v20n1/10.pdf>>.

CARNEY, B. C. et al. A Pilot Study of Negative Pressure Therapy with Autologous Skin Cell Suspensions in a Porcine Model. **Journal of Surgical Research**, v. 267, n. 267, p. 182–196, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jss.2021.05.010>>.

F. D. S. Juliano Tibola ENGENHARIA DE TECIDOS NO REPARO CUTÂNEO: ASSOCIAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS , MATRIZ DE REGENERAÇÃO DÉRMICA E CÉLULAS-TRONCO Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento da Universidade Federa. 2018.

CHOUHAN, D.; MANDAL, B. B. Silk biomaterials in wound healing and skin regeneration therapeutics: From bench to bedside. **Acta Biomaterialia**, v. 103, p. 24–51, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.11.050>>.

DAI, C.; SHIH, S.; KHACHEMOUNE, A. Skin substitutes for acute and chronic wound healing: an updated review. **Journal of Dermatological Treatment**, v. 31, n. 6, p. 639–648, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/09546634.2018.1530443>>.

DAVIS, S. C. et al. Effectiveness of a polyhexanide irrigation solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms in a porcine wound model. **International Wound Journal**, v. 14, n. 6, p. 937–944, 2017.

DAVIS, S. C. et al. The wound-healing effects of a next-generation anti-biofilm silver Hydrofiber wound dressing on deep partial-thickness wounds using a porcine model. **International Wound Journal**, v. 15, n. 5, p. 834–839, 2018.

Dias, Taís Andrade. Gel de quitosana à 2% na cicatrização de feridas cutâneas em ratas diabéticas [manuscrito] / Taís Andrade Dias. - 2012. 95DURSUN, P. v. 66, n. December, p. 37–39, 2012.

ETRA, J. W. et al. A skin rejection grading system for vascularized composite allotransplantation in a preclinical large animal model. **Transplantation**, v. 103, n. 7, p. 1385–1391, 2019.

FEDERAL, U.; PAULISTA, E. INTERVENÇÕES PARA REABILITAÇÃO MOTORA EM PACIENTES COM AMPUTAÇÃO ABAIXO DO JOELHO POR DOENÇA ARTERIAL PERIFÉRICA OU DIABETES MELITO – REVISÃO SISTEMÁTICA COM AMPUTAÇÃO ABAIXO DO JOELHO POR DOENÇA ARTERIAL PERIFÉRICA OU DIABETES MELITO – REVISÃO SISTEMÁTIC. 2022.

FERREIRA, M. J.; BARROSO, P.; DUARTE, N. Doença arterial periférica. p. 502–509, 2010.

FREITAS, A. B. S. et al. Efeitos da laserterapia em pacientes com pé diabético. **Clinical & Biomedical Research**, p. 85–92, 2022.

GAO, C. et al. Antitumor effects of baicalin on ovarian cancer cells through induction of cell apoptosis and inhibition of cell migration in vitro. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, n. 6, p. 8729–8734, 2017.

GRAÇA, M. F. P. et al. Hyaluronic acid—Based wound dressings: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, n. February, p. 116364, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116364>>.

HOSSAIN, M. S. et al. *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: A review of ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology. **Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

JAMES, I. et al. Adipose stem cells enhance excisional wound healing in a porcine model. **Journal of Surgical Research**, v. 229, p. 243–253, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.03.068>>.

JAYAKUMAR, T. et al. Experimental and clinical pharmacology of *andrographis paniculata* and its major bioactive phytoconstituent andrographolide. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, n. Figure 1, 2013.

JIA, Y. et al. Electrospun PLGA membrane incorporated with andrographolide-loaded mesoporous silica nanoparticles for sustained antibacterial wound dressing. **Nanomedicine**, v. 13, n. 22, p. 2881–2899, 2018.

JUNCOS BOMBIN, A. D.; DUNNE, N. J.; MCCARTHY, H. O. Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 114, n. May, p. 110994, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110994>>.

KLEIN, P. et al. A porcine model of skin wound infected with a polybacterial biofilm. **Biofouling**, v. 34, n. 2, p. 226–236, 2018. Disponível em: <<http://doi.org/10.1080/08927014.2018.1425684>>.

KWIECIŃSKA-PIRÓG, J. et al. Biofilm formation reducing properties of manuka honey and propolis in proteus mirabilis rods isolated from chronic wounds. **Microorganisms**, v. 8, n. 11, p. 1–15, 2020.

LALOZE, J.; FIÉVET, L.; DESMOULIÈRE, A. Adipose-derived mesenchymal stromal cells in regenerative medicine: state of play, current clinical trials, and future prospects. **Advances in Wound Care**, v. 10, n. 1, p. 24–48, 2021.

LANIGAN, S. .; ZAIDI, Z. Dermatology in Clinical Practice. **Dermatology in Clinical**

**Practice**, p. 1–15, 2010.

LEUNG, K. C. F. et al. Synergistic antibacterial effects of nanoparticles encapsulated with *Scutellaria baicalensis* and pure chlorhexidine on oral bacterial biofilms. **Nanomaterials**, v. 6, n. 4, p. 1–11, 2016.

LI, Y. et al. Efficacy of stem cell therapy for burn wounds: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies. **Stem Cell Research and Therapy**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2020.

LI, Z. et al. Multi-functional core-shell nanofibers for wound healing. **Nanomaterials**, v. 11, n. 6, p. 1–19, 2021.

LIU, G.; BAO, Z.; WU, J. Injectable baicalin/F127 hydrogel with antioxidant activity for enhanced wound healing. **Chinese Chemical Letters**, v. 31, n. 7, p. 1817–1821, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2020.03.005>>.

MACHADO, B. A. S. et al. Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1–26, 2016.

MANCONI, M. et al. Preparation of gellan-cholesterol nanohydrogels embedding baicalin and evaluation of their wound healing activity. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 127, p. 244–249, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.02.015>>.

MAO, X. et al. Baicalin regulates mRNA expression of VEGF-c, Ang-1/Tie2, TGF- $\beta$  and Smad2/3 to inhibit wound healing in streptozotocin-induced diabetic foot ulcer rats. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 35, n. 11, p. 1–9, 2021.

MARTINOTTI, S.; RANZATO, E. Propolis: A new frontier for wound healing? **Burns and Trauma**, v. 3, n. 1, p. 1–7, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s41038-015-0010-z>>.

MAURICIO, A. et al. Pharmacologyonline 3: 467-473 (2006). **Food Microbiology**, v. 473, p. 467–473, 2006.

MUJICA, V. et al. Propolis as an Adjuvant in the Healing of Human Diabetic Foot Wounds Receiving Care in the Diagnostic and Treatment Centre from the Regional Hospital of Talca. **Journal of Diabetes Research**, v. 2019, 2019.

MUSSARD, E. et al. Andrographolide, a natural antioxidant: An update. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 1–20, 2019.

NURHASTUTI. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO EXTRATO ETANÓLICO DA CROTON ANTISYPHILITICUS EM FERIDAS CUTÂNEAS DE RATOS Title. 2019.

O'CALLAGHAN, S. et al. 'Smart' wound dressings for advanced wound care: A review. **Journal of Wound Care**, v. 29, n. 7, p. 394–406, 2020.

OLIVEIRA, D. M. L. et al. Double membrane based on lidocaine-coated polymyxin-alginate nanoparticles for wound healing: In vitro characterization and in vivo tissue repair. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 591, p. 120001, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120001>>.

OLIVEIRA, I. V. P.; DIAS, R. V. da C. Cicatrização de feridas: Fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 6, n. 4, p. 267–271, 2012. Disponível em: <<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/view/2959/5154>>.

ORYAN, A. et al. Topical application of aloe vera accelerated wound healing, modeling, and remodeling. **Annals of Plastic Surgery**, v. 77, n. 1, p. 37–46, 2016.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 98, n. November 2017, p. 469–483, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.12.069>>.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Role of sugar-based compounds on cutaneous wound healing: What is the evidence? **Journal of Wound Care**, v. 28, n. Sup3b, p. S13–S24, 2019.

PICOLOTTO, A. et al. Bacterial cellulose membrane associated with red propolis as phytomodulator: Improved healing effects in experimental models of diabetes mellitus. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 112, n. October 2018, 2019.

PRZYBYŁEK, I.; KARPIŃSKI, T. M. Antibacterial properties of propolis. **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 11–13, 2019.

RANAMUKHAARACHCHI, S. A. et al. A micromechanical comparison of human and porcine skin before and after preservation by freezing for medical device development. **Scientific Reports**, v. 6, n. August, p. 1–9, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep32074>>.

RIGHI, A. A.; NEGRI, G.; SALATINO, A. RIGHI, A. A.; NEGRI, G.; SALATINO, A. Comparative chemistry of propolis from eight brazilian localities. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, v. 2013, 2013. DOI: 10.1155/2013/267878. Comparative chemistry of propolis from eight brazilia. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

ROCHA, P. S. et al. Clinical Assessment of Antimicrobial Effects of Brazilian Green Propolis on Chronic Wounds. **Pharmacognosy Research**, v. 14, n. 3, p. 251–255, 2022.

RODR, C. S.; HECHAVARRIA, J. P.; HERN, F. M. Estudios de conducción nerviosa en pacientes con neuropatía diabética periférica en miembros inferiores. 2022.

ROSSITER, K. et al. Honey promotes angiogenic activity in the rat aortic ring assay. **Journal of Wound Care**, v. 19, n. 10, p. 440–446, 2010.

SEATON, M.; HOCKING, A.; GIBRAN, N. S. Porcine models of cutaneous wound healing. **ILAR Journal**, v. 56, n. 1, p. 127–138, 2015.

SHPICHKA, A. et al. Skin tissue regeneration for burn injury. **Stem Cell Research and Therapy**, v. 10, n. 1, p. 1–16, 2019.

STOJKO, M. et al. Biodegradable electrospun nonwovens releasing propolis as a promising dressing material for burn wound treatment. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 9, p. 1–18, 2020.

SUMMERFIELD, A.; MEURENS, F.; RICKLIN, M. E. The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. **Molecular Immunology**, v. 66, n. 1, p. 14–21, 2015a.

SUMMERFIELD, A.; MEURENS, F.; RICKLIN, M. E. The immunology of the porcine skin and its value as a model for human skin. **Molecular Immunology**, v. 66, n. 1, p. 14–21, 2015b.

T.P., S. et al. The pig as a model for human wound healing. **Wound Repair and Regeneration**, v. 9, n. 2, p. 66–76, 2001. Disponível em: <<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed5&NEWS=N&AN=2001185720>>.

THEUNISSEN, D. et al. Measurements in wound healing with observations on the effects of topical agents on full thickness dermal incised wounds. **Burns**, v. 42, n. 3, p. 556–563, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2015.09.014>>.

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

VIEIRA, C. P. de B.; ARAÚJO, T. M. E. de. Prevalence and factors associated with chronic wounds in older adults in primary care. **Revista da Escola de Enfermagem da U S P**, v. 52, p. e03415, 2018.

WANG, C. et al. Promoting coagulation and activating SMAD3 phosphorylation in wound healing via a dual-release thrombin-hydrogel. **Chemical Engineering Journal**, v. 397, n. May, p. 125414, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125414>>.

WANG, H. J. et al. Stimulation of skin repair is dependent on fibroblast source and presence of extracellular matrix. **Tissue Engineering**, v. 10, n. 7–8, p. 1054–1064, 2004.

WANG, T. M. et al. In vitro antifungal activity of baicalin against *Candida albicans* biofilms via apoptotic induction. **Microbial Pathogenesis**, v. 87, p. 21–29, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2015.07.006>>.

ZENG, A. et al. Baicalin, a Potent Inhibitor of NF- $\kappa$ B Signaling Pathway, Enhances Chemosensitivity of Breast Cancer Cells to Docetaxel and Inhibits Tumor Growth and Metastasis Both In Vitro and In Vivo. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. June, p. 1–13, 2020.

ZENG, X. et al. Synergistic effect of 14-alpha-lipoyl andrographolide and various antibiotics on the formation of biofilms and production of exopolysaccharide and pyocyanin by *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 6, p. 3015–3017, 2011.

ZHANG, L. et al. Effect of Andrographolide and Its Analogs on Bacterial Infection: A Review. **Pharmacology**, v. 105, n. 3–4, p. 123–134, 2020.

ZUO, Y.; YU, X.; LU, S. Dermal Fibroblasts from Different Layers of Pig Skin Exhibit Different Profibrotic and Morphological Characteristics. **Anatomical Record**, v. 299, n. 11, p. 1585–1599, 2016a.

ZUO, Y.; YU, X.; LU, S. Dermal Fibroblasts from Different Layers of Pig Skin Exhibit Different Profibrotic and Morphological Characteristics. **Anatomical Record**, v. 299, n. 11, p. 1585–1599, 2016b.

## ANEXO I



Universidade de Brasília

Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 19 de outubro de 2020.

**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto intitulado "AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA DE REPARO TECIDUAL EM PELE DE SUINOS UTILIZANDO HIDROGEL CICATRIZANTE COMPOSTO DE PROPOLIS VERDE, ANDROGRAPHOLIDE E BAICALIN", Protocolo n.º023/2020, sob responsabilidade do Professor Dr. Fábio Henrique Bezerra Ximenes, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de *Large White* (03 machos).

A presente declaração é válida pelo período de: 19/10/2020 a 18/11/2020.

Dr. José Luiz Jivago de Paula Rôlo

Coordenador da CEUA – UnB



\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.