



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

LUZIA ABILIO DA SILVA

**APLICAÇÃO DE HIDROGEL DE *RHIZOPHORA MANGLE L.* NA
PREVENÇÃO DE NECROSE EM RETALHOS CUTÂNEOS ISQUÊMICOS**

Recife

2020

LUZIA ABILIO DA SILVA

**APLICAÇÃO DE HIDROGEL DE *RHIZOPHORA MANGLE L.* NA
PREVENÇÃO DE NECROSE EM RETALHOS CUTÂNEOS ISQUÊMICOS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Área de Concentração: Morfologia e Inovações Tecnológicas

Orientador: Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira

Recife

2020

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Silva, Luzia Abilio da
Aplicação de hidrogel de *Rhizophora mangle L.* na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos / Luzia Abilio da Silva. - 2020.

94 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira.

Coorientador: : Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia, Recife, 2020.

Inclui referências e anexos.

1. Cirurgia plástica. 2. Plantas medicinais. 3. Hidrogéis. I. Vieira, Jeymesson Raphael Cardoso (orientador). II. Lira, Eduardo Carvalho (coorientador). III. Título.

617.95

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2021-057

LUZIA ABILIO DA SILVA

**APLICAÇÃO DE HIDROGEL DE *RHIZOPHORA MANGLE L.* NA PREVENÇÃO DE
NECROSE EM RETALHOS CUTÂNEOS ISQUÊMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Aprovado em: 30/10/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr^o. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

(Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Luciana Maria Silva de Seixas Maia

(Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Cristiane Moutinho Lagos de Melo

(Examinador Externo)

Universidade Federal de Pernambuco

Dedico a Deus

*E aos meus pais Marinalva Maria e José Abílio
por todo amor e confiança depositado em mim.*

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar força e direção. A N. Sr^a. da Conceição pela fé inabalável, incomparável mãe, te agradeço.

Ao meu maior exemplo de mulher, minha mãe Marinalva pela dedicação, força e amor incondicional, fundamental em minha vida, meu alicerce, meu tudo. E ao meu pai José Abilio (*in memoriam*) que sempre estará presente no meu coração, obrigada por tudo amo vocês.

Ao meu noivo Carlos, pelo companheirismo, amor e dedicação. Sempre do meu lado em tudo, me faltam palavras para definir, o quanto você foi essencial nessa caminhada e em minha vida.

À minha irmã Juliana por ser meu porto seguro, exemplo de amor, carinho e cuidado. E ao meu amigo, irmão e cunhado Gedyson que juntou a família com um grande presente chamado João Bernardo, meu sobrinho, no qual eu agradeço pela alegria constante e por me fazer acreditar que o amor ultrapassa limites.

A todos da minha família, especialmente as minhas tias, meus primos e primas aos meus avós Maria José, João Paulo (*in memoriam*) e Luzia Maria (*in memoriam*). E a todos os meus amigos e colegas que estão sempre presente.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira a quem eu tenho uma grande admiração desde do período da graduação, orientando e acompanhando como professor e amigo. Obrigada pela oportunidade, ensinamentos, conselhos, companheirismo e claro bom humor em tudo que faz.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira, pela orientação conselhos e ensinamentos que foram essenciais ao projeto de pesquisa sempre destacando a importância e cuidados com os animais de pesquisa. Agradeço também a todos que fazem parte do Laboratório de Neuroendocrinologia e Metabolismo – LNEM e ao biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

À Prof. Dr^a Leila Bastos Leal, pela orientação, conselhos e ensinamentos durante o projeto. Agradeço também a todos que fazem parte do Núcleo de Desenvolvimento farmacêutico e cosmético – NUDEFAC, principalmente a Irla Barbosa, Juliana Kishishita e Eduarda Santana por todo o auxílio, aprendizado e companheirismo durante toda a pesquisa.

Ao Prof. Dr^o Ricardo Yara pela amizade e orientação, desde da minha iniciação científica se tornou uma das minhas referências em pesquisa, muito obrigada professor por todo apoio e palavras de incentivo. Obrigada também a todos que pertencem ao Laboratório de Biofísica Química – LBQ.

À minha turma do programa de Pós- Graduação em Morfotecnologia 2018.1 pela união e amizade durante todo esse período.

À minha eterna turma de Ciências Biológicas licenciatura 2014.1. Especialmente à Raíza, San Mires, Elivelton, Camila, Renata, Júlia, Ninho, Jucielma, Bruno, João, Rayane, Claudio, Thiago e Paloma. E aos amigos que ganhei durante os aprendizados em pesquisa especialmente a Ricardo Sérgio, Jonathan Vidal e Flávia Berenguer. Obrigada a todos pela amizade, carinho, momentos de risos, descontração e companheirismo, vocês foram fundamentais.

Ao Projeto Pré-Acadêmico Professores do Terceiro Milênio – PPTM do Centro de Ciências Exatas e da Natureza – CCEN/UFPE, que me fez descobrir e encontrar à docência, obrigada a todos que me acolheram em todos os momentos de estudos e aprendizados. Especialmente aos meus professores Júlio e Gustavo.

À Universidade Federal de Pernambuco – UFPE principalmente ao Centro de Biociências – CB, Centro de Ciências da Saúde – CCS, Centro de Educação – CE e a todos professores que fizeram parte da minha formação, muito obrigada pelo aprendizado e por me fazer acreditar que tudo isso é possível.

E por fim ao Departamento de Histologia e Embriologia – DHE – CB/UFPE por me acolher em vários momentos, especialmente as professoras Dr^a. Marta Gerusa, Dr^a. Eliete Cavalcanti, Dr^a. Luciana Maria, Dr^a. Juliana Pinto, Dr^a. Sônia Pereira e aos técnicos Paulo e Sidiclei que auxiliaram no trabalho de pesquisa meus sinceros agradecimentos. Muito obrigada a todos que fizeram parte da minha caminhada e que contribuíram para a realização deste trabalho.

Gratidão!

“A existência é um termo da evolução.”

Charles Darwin

RESUMO

A necrose em retalhos cutâneos isquêmicos (RCI) é um tipo de falha cirúrgica mais temida entre as complicações operatórias. Atualmente, são aplicados medicamentos sintéticos durante o tratamento da necrose em RCI e apesar de diversas substâncias apresentarem melhora na viabilidade, algumas necessitam de aplicação em sistêmicas altas doses, o que pode produzir importantes efeitos colaterais. Portanto a procura por substâncias naturais com menos efeitos colaterais é constante. A utilização de plantas medicinais que estimulam a angiogênese é comumente citada em trabalhos prévios e neste caso destaca-se *Rhizophora mangle L.* (*R. mangle*) que entre os seus principais compostos possuem os taninos e flavonóides muito reativos quimicamente em diversas atividades biológicas. Este trabalho teve como objetivo associar um hidrogel natural ao extrato de *R. mangle* a 5% e avaliar seu potencial na prevenção de necrose tecidual em porções distais de RCI em ratos, utilizando o modelo proposto por Macfarlane, et al (1965). Foram confeccionados retalhos cutâneos isquêmico na área de pele fina dorsal de 20 ratos Wistar e divididos em 4 grupos, o grupo A: recebeu apenas soro fisiológico, grupo B onde o extrato aquoso de *R. mangle* foi aplicado, o grupo C recebeu o hidrogel 1,5% de Goma Xantana (GX) + placebo e o grupo D foi aplicado o hidrogel associado ao extrato de *R. mangle* a 5%. Foram realizadas análises morfométricas das áreas de necrose tecidual a partir de registros fotográficos utilizando os softwares Photoshop® e ImageJ®, também foram realizadas 5 fotomicrografias de cada amostra histológica dos animais para a análise histomorfométrica e obtenção da contagem de fibroblastos e vasos sanguíneos. A média das porcentagens das áreas de necrose foram: grupo A: 55,13%, grupo B: 42,76%, grupo C: 39,04 % e, grupo D: 37,93%. A análise estatística, através do teste de Kruskal-Wallis, evidenciou diferença significativa ($p < 0,001$). As análises histomorfométrica com relação a contagens de fibroblastos apresentou as seguintes quantidades por grupo A ($3.093,00 \pm 714,93$), B ($2.820,20 \pm 757,43$), C ($3.264,80 \pm 449,8$) e D ($2.871,80 \pm 695,14$) e nos vasos sanguíneos obteve grupo A ($30,00 \pm 22,11$), B ($61,40 \pm 38,12$), C ($55,20 \pm 14,62$) e D ($69,00 \pm 31,41$), porém não demonstrou resultados estatisticamente significativos ($p > 0,05$). A associação do hidrogel de GX com o extrato de *R. mangle* apresentou resultado positivo na diminuição da área de necrose sendo eficaz para aumentar a viabilidade de RCI em ratos.

Palavras chaves: Neovascularização. Microcirculação. Retalhos cutâneos. Cirurgia plástica. Histofometria. *Rhizophora*.

ABSTRACT

Necrosis in ischemic skin flaps (RCI) is a type of surgical failure most feared among surgical complications. Currently, synthetic drugs are applied during the treatment of necrosis in RCI and although several substances show improvement in viability, some require application in systemic high doses, which can produce important side effects. Therefore, the search for natural substances with less side effects is constant. The use of medicinal plants that stimulate angiogenesis is commonly mentioned in previous works and in this case *Rhizophora mangle L.* (*R. mangle*) stands out, which among its main compounds has the tannins and flavonoids that are very chemically reactive in several biological activities. This work aimed to associate a natural hydrogel to the extract of *R. mangle* at 5% and to evaluate its potential in preventing tissue necrosis in distal portions of RCI in rats, using the model proposed by Macfarlane, et al (1965). Ischemic skin flaps were made in the thin skin area of the back of 20 Wistar rats and divided into 4 groups, group A: received only saline, group B where the aqueous extract of *R. mangle* was applied, group C received hydrogel 1, 5% Xanthan Gum (GX) + placebo and group D was applied the hydrogel associated with the extract of *R. mangle* at 5%. Morphometric analyzes of the areas of tissue necrosis were performed from photographic records using the software Photoshop® and ImageJ®, 5 photomicrographs of each histological sample of the animals were also performed for histomorphometric analysis and obtaining the fibroblast and blood vessel count. The mean percentages of necrosis areas were group A: 55.13%, group B: 42.76%, group C: 39.04% and group D: 37.93%. The statistical analysis, using the Kruskal-Wallis test, showed a significant difference ($p < 0.001$). Histomorphometric analyzes with respect to fibroblast counts showed the following quantities per group A ($3,093.00 \pm 714.93$), B ($2,820.20 \pm 757.43$), C ($3,264.80 \pm 449.8$) and D ($2,871.80 \pm 695.14$) and in the blood vessels obtained group A (30.00 ± 22.11), B (61.40 ± 38.12), C (55.20 ± 14.62) and D ($69, 00 \pm 31.41$), however, it did not show statistically significant results ($p > 0.05$). The association of the GX hydrogel with the *R. mangle* extract showed a positive result in decreasing the area of necrosis, being effective to increase the viability of RCI in rats.

Keywords: Neovascularization. Microcirculation. Skin Flaps. Plastic Surgery. Histomofometry. Rhizophora.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 —	Anatomia da pele e composição	22
Figura 2 —	Esquema resumo da classificação do retalhos cutâneo	27
Figura 3 —	Representação esquemática com as fases da cicatrização tecidual	30
Figura 4 —	Manguezal pertencente ao distrito de Vila Velha, em Itamaracá- PE/ Brasil	33
Figura 5 —	Manguezal pertencente ao distrito de Vila Velha, em Itamaracá- PE/ Brasil	34
Figura 6 —	Ramos formando arcos da espécie <i>R. mangle</i>	36
Figura 7 —	A) Espécie <i>R. mangle</i> ; B) Propágulos e C) Fixação e desenvolvimento da espécie	37
Figura 8 —	Fontes naturais renováveis de polissacarídeos	42
Figura 9 —	Micrografia eletrônica de transmissão de <i>X. Campestris</i> . (x 12 000)	44
Figura 10 —	Estrutura primária da goma xantana	45
Figura 11 —	Esquema do desenho de estudo	47
Figura 12 —	Esquema de aplicação das substancias nos animais de estudo ...	52
Figura 13 —	Etapas do procedimento cirúrgico	53
Figura 14 —	Elevação do retalho	54
Figura 15 —	Suturado com fio de nylon 3-0	54
Figura 16 —	Sutura e comprimento do retalho	55

Figura 17 —	As intervenções realizadas nos grupos. A) Aplicação do extrato entre o leito e o retalho. B) Aplicação do hidrogel sobre o retalho	55
Figura 18 —	Cálculo da área de necrose no software ImageJ	56
Figura 19 —	Camadas histológicas da pele do rato onde observa-se o <i>panniculus carnosus</i> que foi incluído nos retalhos	58
Figura 20 —	Extrato aquoso de <i>R. mangle</i>	59
Figura 21 —	Formulações obtidas	59
Figura 22 —	Avaliação da Necrose (exemplar de cada grupo)	60
Figura 23 —	Análise histológica dos grupos experimentais em HE	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 —	Complicações de retalhos que causam necrose.....	28
Tabela 2 —	Composição das formulações.....	49
Tabela 3 —	Divisão dos grupos dos animais de estudo.....	51
Tabela 4 —	Estatísticas da área necrosada (cm ²)	61
Tabela 5 —	Estatísticas do percentual da área necrosada.....	63
Tabela 6 —	Estatísticas da quantidade de fibroblastos segundo o grupo.....	66
Tabela 7 —	Estatísticas da quantidade de vasos sanguíneos.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS

C°	GRAUS CELSIUS
CCS	CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CB	CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CEUA	COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Cm	CENTÍMETROS
Cm²	CENTÍMETROS QUADRADOS
DCFAR	DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DHE	DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA
DFF	DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
DP	DESVIO PADRÃO
F1	FORMULAÇÃO UM COM GOMA XANTANA A 1,5 % + PLACEBO
F2	FORMULAÇÃO DOIS COM EXTRATO DE <i>R. MANGLE</i> INCORPORADO
GX	GOMA XANTANA
HE	HEMATOXILINA E EOSINA
KG	QUILOGRAMA
MEC	MATRIZ EXTRA CELULAR
mg	MILIGRAMAS
mm	MILÍMETROS
ml	MICROLITROS

NUDEFAC	NÚCLEO DE DESENVOLVIMENTO FARMACÊUTICO E COSMÉTICO
RCI	RETALHOS CUTÂNEOS ISQUÊMICOS
<i>R. mangle</i>	<i>RHIZOPHORA MANGLE</i>
PPGM	PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA
UFPE	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	OBJETIVOS	21
1.1.1	Objetivo Geral	21
1.1.2	Objetivos Específicos	21
2	REVISAO DE LITERATURA	22
2.1	PELE	22
2.2	RETALHOS CUTÂNEOS	26
2.2.1	Complicações, Isquemia e Necrose	28
2.2.2	Viabilidade	30
2.3	MANGUEZAIS	33
2.3.1	Rhizophora mangle	36
2.4	HIDROGEL	39
2.4.1	Hidrogéis de Polímeros Naturais	41
2.4.2	Polissacarídeos	41
2.4.3	Goma Xantana	44
3	MATERIAIS E MÉTODOS	47
3.1	DESENHO DO ESTUDO	47
3.1.1	Intervenção Realizada	47
3.1.2	Local e Período do Estudo	48
3.2	MATERIAL VEGETAL	48
3.2.1	Obtenção do Extrato Aquoso de Folhas de <i>R. mangle</i>	48

3.2.2	Diluição do Extrato e Escolha da Dose	48
3.3	HIDROGEL	48
3.3.1	Obtenção do hidrogel de <i>R. mangle</i>	48
3.3.2	Desenvolvimento e caracterização do hidrogel de <i>R. mangle</i>	49
3.4	MATERIAL BIOLÓGICO	50
3.4.1	Aspectos Éticos	50
3.4.2	Animais Experimentais	50
3.4.3	Modelo Proposto para Estudo de Retalhos Isquêmicos	50
3.4.4	Divisão dos Grupos dos Animais de Estudo	51
3.4.5	Procedimento Cirúrgico	52
3.4.6	Avaliação Clínica e Morfométrica das Áreas de Necrose nos Retalhos	56
3.4.7	Análise Histomorfométrica das Amostras	57
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
4	RESULTADOS	59
4.1	MATERIAL VEGETAL	59
4.1.1	Obtenção do Extrato Aquoso	59
4.2	OBTENÇÃO DO HIDROGEL	59
4.2.1	Hidrogéis	59
4.3	MATERIAL BIOLÓGICO	60
4.3.1	Avaliação Clínica e Morfométrica da Área de Necrose nos Retalhos	60

4.3.2	Análise Histomorfométrica das Amostras	65
4.3.2.1	Fibroblastos	66
4.3.2.2	Vasos sanguíneos	67
5	DISCUSSÃO	69
6	PESPECTIVAS FUTURAS	75
7	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	77
	ANEXO A — CARTA DE ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA	93
	ANEXO B — AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES CIENTÍFICAS	94

1 INTRODUÇÃO

O Retalho cutâneo consiste numa prática cirúrgica, reconstrutiva e estética muito utilizada no ramo de cirurgias plásticas. São segmentos de pele obtidos de uma área doadora e transferidos para uma região receptora, mantendo uma conexão temporária ou definitiva por meio de um pedículo, de onde vem o suprimento sanguíneo (ESTEVÃO et al., 2009). É amplamente utilizado nas situações de perda de tecido do sistema tegumentar devido a trauma, ressecção de tumor e isquemia. (PEDRETTI et al., 2017).

A transferência de um fragmento de pele de um local para o outro pode ocasionar complicações relacionados à confecção do retalho, entre elas: o hematoma, infecção, deiscência e necrose (PEDRETTI et AL., (2017). A má cicatrização dos retalhos cutâneos é um problema pós-operatório comum. O principal motivo pode ser a neovascularização deficiente e níveis reduzidos de produção de fatores pró-angiogênicos (PU et al., 2017).

Segundo OLIVEIRA (2018) diversas substâncias foram utilizadas na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos como: vasodilatadores, heparinóides, anticoagulantes, antiagregantes plaquetários e removedores de radicais livres. Porém apesar de várias substâncias terem apresentado melhora na viabilidade de retalhos cutâneos isquêmicos em estudos anteriores nenhuma apresentou eficácia total ao tratamento. Algumas substâncias necessitam de aplicação sistêmica em altas doses, o que pode desenvolver efeitos colaterais. (MANCHIO et al., 2009; NEZAMI et al., 2009; GOZU & PODA, 2010).

Sendo assim, o uso de fitoterápicos nesse processo se torna cada vez mais essencial por possuir compostos químicos com diferentes atividades terapêuticas. Neste contexto, destaca-se à procura de substâncias naturais com menos efeitos colaterais e maior eficácia na prevenção de necrose. Além disso, pesquisas científicas em torno de plantas medicinais consideram os bioativos presentes em extratos de plantas responsáveis por atividades farmacológicas potencialmente úteis no tratamento de afecções de saúde (CUNHA, 2014; ARAÚJO et al, 2015).

No contexto de plantas medicinais cita-se a espécie *Rhizophora mangle L*, conhecida popularmente como mangue vermelho. É uma planta pertencente aos ecossistemas dos manguezais, cuja folha, caule, raízes e frutos apresentam variados usos na medicina popular através do uso principalmente de seus chás ou macerados em água (COELHO-FERREIRA, 2009). Existem diversos estudos científicos na literatura sobre as potencialidades de *R. mangle*

como agente de possíveis usos terapêuticos medicinais. Essas propriedades farmacológicas do vegetal depende dos seus compostos secundários que além de garantir a sobrevivência da planta ainda possibilita diversas atividades biológicas.

Os taninos estão entre os principais compostos polifenólicos do extrato de *R. mangle* incluindo taninos poliméricos e hidrolisáveis (BERENGUER et al., 2006). Essas substâncias segundo OKUDA (2005) são conhecidos por suas atividades antimicrobianas, além de relatos de agirem sobre o metabolismo do ácido araquidônico em leucócitos com papéis importantes nas inflamações e conseqüentemente na cicatrização de feridas cutâneas (OFORI-KWAKYE, K. et al., 2011).

A utilização de fitoterápicos com finalidade profilática, curativa, paliativa ou com fins de diagnóstico é reconhecida internacionalmente pela organização mundial de saúde (OMS) e nacionalmente no Brasil através da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) que foram criadas em 2006 para o Sistema Público de Saúde (SUS). (BRASIL; 2006).

Contudo, no âmbito farmacêutico há uma procura incessante pela melhor formulação para uso terapêutico dos ativos medicinais, tendo em vista a eficácia no tratamento e bem estar do paciente. Deste modo, com a evolução de técnicas de manipulação, surgiram diversas formas farmacêuticas que possibilitaram garantir essas condições (BORELLA et al., 2018). Algumas formulações permitem veicular ativos para o uso tópico, como por exemplos as formulações semissólidas (géis e cremes). Atualmente, existe um grande interesse científico e tecnológico na utilização de hidrogéis para diversas finalidades terapêuticas inclusive medicinais.

Os hidrogéis são materiais com alta versatilidade, que permite a aplicação numa variedade de campos (RAMÍREZ et al., 2016) e podem ser desenvolvidos com diferentes tipos de polímeros, oferecendo assim, biocompatibilidade e baixo custo. Além de manter um ambiente úmido, hidrogéis também podem ser usados para estimular a angiogênese, e neuroproteção (BRADBURY et al., 2008; SACKHEIM et al., 2006), o que é importante pois o uso de substâncias que estimulam a angiogênese é comumente empregado para melhorar a viabilidade do retalho. (ESTEVÃO et al., 2009).

Portanto, devido à necessidade terapêutica para o aumento da viabilidade em retalhos cutâneos isquêmicos e o propósito de diminuir a área de necrose buscando favorecer a eficiência

cirúrgica este trabalho foi desenvolvido. A hipótese do estudo é que o hidrogel associado ao extrato aquoso de *R.mangle* a 5% possui a capacidade de prevenir necrose tecidual em porções distais dos retalhos cutâneos isquêmicos em ratos, utilizando o modelo proposto por Macfarlane, et al (1965).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial do hidrogel de goma xantana associado à *Rhizophora mangle* na prevenção de necrose tecidual em porções distais de retalhos cutâneos isquêmicos em ratos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Obtenção do hidrogel a base de goma xantana associado ao extrato de *R. mangle*;
- Analisar morfometricamente a área de necrose em ratos Wistar submetidos a procedimentos cirúrgicos para o desenvolvimento do retalho cutâneos isquêmicos;
- Quantificar fibroblastos e vasos sanguíneos em retalho cutâneos isquêmicos através do estudo histomorfométrico da pele fina de ratos Wistar fêmeas.

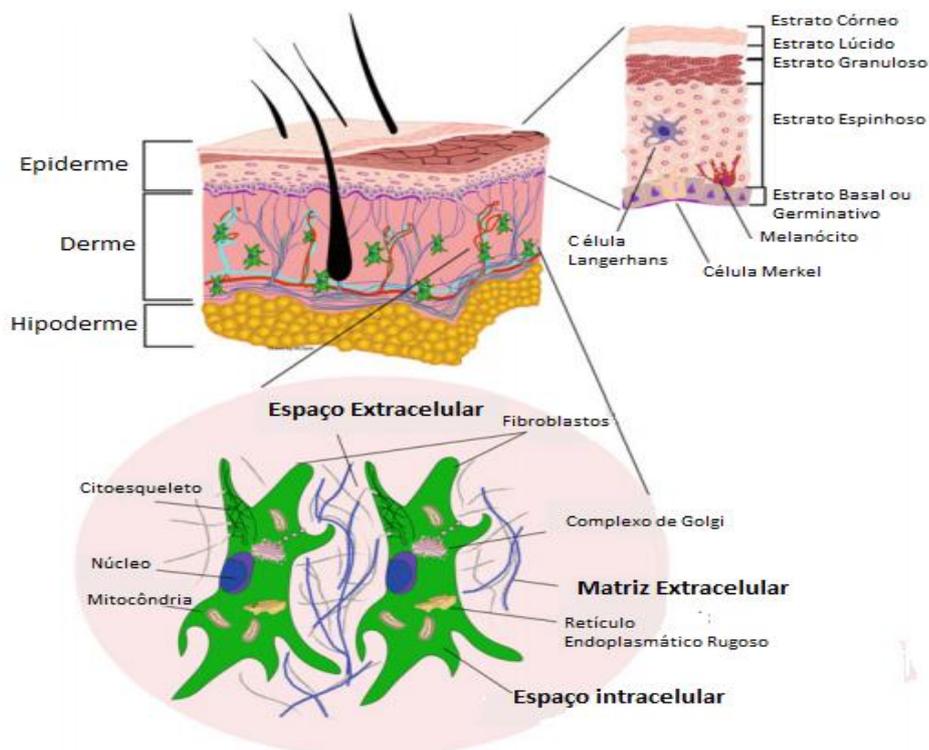
2 REVISAO DE LITERATURA

2.1 PELE

A pele é o maior órgão dos seres humanos e dos animais, recobrendo toda a superfície corpórea; exerce diferentes funções, entre elas, regulação de temperatura e excreção de eletrólitos, proteção contra microrganismos, traumatismos, agentes químicos e radiação. Reveste uma área de 1,7 m² e pesa cerca de 15% do peso corporal total. É composta por três camadas distintas de tecido: epiderme, derme e hipoderme, originárias de folhetos embrionários distintos, mesoderma e ectoderma, respectivamente. (ZAIDI & LANIGAN, 2010; GOTO; OGUIDO&SHIBATTA,2011; EVARISTO, et al 2018; DA COSTA PEDRETTI; GRAHAM et al., 2019)

A estrutura anatômica da pele é importante para o entendimento apreciável de suas funções (fig.1). Com arquitetura complexa e multifuncional, a pele fornece uma conexão que sustenta a vida entre o corpo e o meio ambiente. Desempenhando uma diversidade de funções biológicas que vão muito além de seu papel de barreira ao ambiente externo. (MONTEIRO-RIVIERE, 2010; PASPARAKIS et al., 2014).

Figura 1- Anatomia da pele e composição



Fonte: adaptado de GRAHAM et al., (2019)

A camada mais externa é chamada de epiderme que é avascular, organiza-se em camadas e possui uma espessura de 75 a 150 μm e 0,4 a 0,6 mm. A textura e espessura variam conforme a região do corpo, sendo mais fina na palma das mãos e mais espessa na planta dos pés. Sendo constituída de células epiteliais achatadas sobrepostas que as considerando de dentro para fora, estão dispostas em; germinativa ou basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (DOMANSKY; BORGES et al., 2012). As principais células que compõem a epiderme são os queratinócitos, os melanócitos, as células de Langherans e as células ou discos de Merkel.

Os queratinócitos (ou ceratinócitos) sintetizam a queratina, proteína fibrosa maleável responsável pela impermeabilidade cutânea. Os melancólicos são células responsáveis pela produção da melanina e coloração da pele. As células de Langherans atuam no sistema imunológico como macrófagos contra microrganismos e corpos estranhos. E por fim as células ou discos de Merkel que está presente entre as camadas da epiderme e derme, unindo-se a terminações nervosas sensitivas como os receptores de tato e pressão.

A derme, camada considerada mais profunda, é formada por tecido conjuntivo regular que se estende da epiderme até o tecido subcutâneo, onde encontra-se os anexos da pele, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. Sua espessura pode variar entre 0,6 mm (áreas mais finas) até 3 mm onde atinge seu tamanho máximo e constituída de fibras colágenas e elastina que promove sustentação e participação em processos fisiológicos e patológicos. Apresenta papilas que se projetam para a epiderme, apresentando função primordial relacionada à resistência e a elasticidade (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Pode ser dividida em camada papilar, mais externa, e camada reticular, mais interna. A camada papilar que mantém contato com a epiderme é composta por tecido conjuntivo frouxo, enquanto a camada reticular por tecido conjuntivo denso não modelado.

A derme está conectada com a fáscia muscular subjacente por uma camada do tecido conjuntivo frouxo chamada de hipoderme ou tecido subcutâneo. Que encontra-se constituído por células adiposas, fibras de colágeno e vasos sanguíneos, representando 15% a 30% do peso corporal e desempenhando funções importante como isolamento do corpo das variações externas do ambiente, fixação da pele aos órgãos e estruturas adjacentes. Segundo Pandolfo (2011), a hipoderme é uma camada de gordura que, embora tenha a mesma origem e morfologia da derme, não faz parte da pele, apenas lhe serve de suporte e união com os órgãos subjacentes.

Dependendo da espessura da epiderme, também está a definição de pele fina e pele espessa ou grossa, visando classificar e diferenciar os dois tipos de pele. Na pele fina a epiderme

compõe-se por quatro camadas (ou estratos) sendo menos espessa que na pele grossa que possui cinco camadas, isso acontece na pele espessa devido a presença dos queratinócitos achatados e mortos encontrados na camada córnea deixando evidente a diferenciação entre as duas camadas. Na pele fina a epiderme e derme é delgada com extrato granuloso é pouco desenvolvido com poucas camadas de células sendo formada por células poligonais ricas em grânulos e células polimorfas com prolongamentos citoplasmáticos apresentando um aspecto espinhoso. Na pele grossa além de um espesso estrato córneo a derme também é espessa.

Devido a sua extrema importância, havendo lesão na pele, é necessária rápida intervenção, a fim de se garantir a possibilidade de regeneração, recuperação de suas funções e evitar o aparecimento de desequilíbrio fisiológico, que pode levar a morte do indivíduo (ONOFRE, 2014). Pois, qualquer nocividade a pele é possível observar uma série de processos fisiológicos que acontece instantaneamente, para restaurar sua integridade e função.

Como sabemos, a pele é um dos maiores componentes do sistema imunológico. E possui uma capacidade de cura natural que gera, no momento da lesão, uma cascata complexa de eventos altamente integrados e sobrepostos de homeostasia, inflamação, migração, proliferação e maturação. (ZAHEDI et al., 2010). Desencadeado por sinalizadores bioquímicos e inflamatórios no local da lesão, o processo de cicatrização (YOSHIOKA et al., 2013).

Os danos comumente sofridos com a pele acontece principalmente em decorrência de queimaduras, traumas, feridas crônicas (úlceras venosas, de pressão e de perna), excisão de pele, tumores e outras condições dermatológicas. (GROEBER et al., 2011; ONOFRE, 2014). Que podem ser de etiologia neoplásica, alta incidência cirúrgica ou anomalias congênitas.

Muitas vezes, essas lesões se tornam cada vez mais complexas no processo de cicatrização tecidual tornando-se difícil de ser resolvido mesmo quando é possível utilizar o tratamento convencional ou curativos simples. Pois, ao analisar a pele os profissionais de saúde deve entender que produto tópico corresponde a um medicamento de ação local aplicado no leito, comumente as classes terapêuticas mais utilizada são os anticoagulantes e antiplaquetários que atuam em mecanismos que inibem a síntese de vitaminas, enzimas ou substâncias derivadas que causam efeitos na diminuição da homeostasia e inflamação. Ou a utilização de fármacos hemorreológicos que gera múltiplos mecanismos e o aumento da perfusão tecidual melhorando processos isquêmicos.

Porém, mesmo com a utilização de produtos tópicos e os pacientes demonstrar situação preocupante que infere a utilização de produtos adequados conforme a características da lesão. Neste aspecto tratar a lesão se torna um desafio principalmente em casos crônicos que não progridem através de processo ordenado e natural. Perdurando por meses ou anos para recuperar a integridade anatômica e funcional da pele. Constituindo assim, um grande problema de saúde pública e socioeconômica pois, interfere na qualidade de vida da pessoa acometida e prolonga o período de tempo no tratamento ambulatorial. (BRUNOZI et al., 2011; MORAES et al., 2016; ANDRADE et al., 2017).

A reconstituição da pele estabelece o tratamento inicial nos casos de traumatismos com perda de substâncias e nas queimaduras mais intensas. A partir da recomposição da epiderme, obtêm-se a proteção adequada de estruturas profundas e importantes (ossos, vasos sanguíneos, tendões e nervos), que não podem permanecer expostas, sob o risco de perda da sua vitalidade e exposição a infecções. (SCOZZAFAVE et al., 2001).

As perdas tegumentares profundas ocorridas no corpo humano exigem cobertura de tecido que permitam posteriormente uma maior reparação em atuais e futuras lesões. Segundo a Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica – SBDC (2020): Se o defeito criado pela ferida cirúrgica for muito extenso, não sendo possível aproximar as bordas, há necessidade de fazer um retalho ou enxerto de pele.

O procedimento clássico para a cobertura de defeitos de espessura total da pele causada por trauma ou cirurgia é o enxerto cutâneo autólogo (HASLIK et al., 2010). Porém, os enxertos de pele são evitados em regiões com déficit de irrigação, cobertura de estruturas nobres ou de saliência óssea, devido o aspecto delicado (fino) do enxerto, que pode não ser suficiente para recobrir as estruturas ósseas e feridas complexas. Sendo assim, as condições com espaços profundos e ossos expostos normalmente requerem o uso de retalhos cutâneos ou musculares. (SHIMIZU et al., 2012).

O retalho cutâneo é uma das técnicas cirúrgicas mais importantes na cirurgia reconstrutiva. (YANG et al., 2010). O termo “cirurgia reconstrutiva” faz referência à utilização de técnicas de reconstrução tecidual, bem como flaps, enxertos, retalhos feitos de pele hígida, possibilitando o fechamento de lesões com ampla extensão (COLTRO et al, 2011).

2.2 RETALHOS CUTÂNEOS

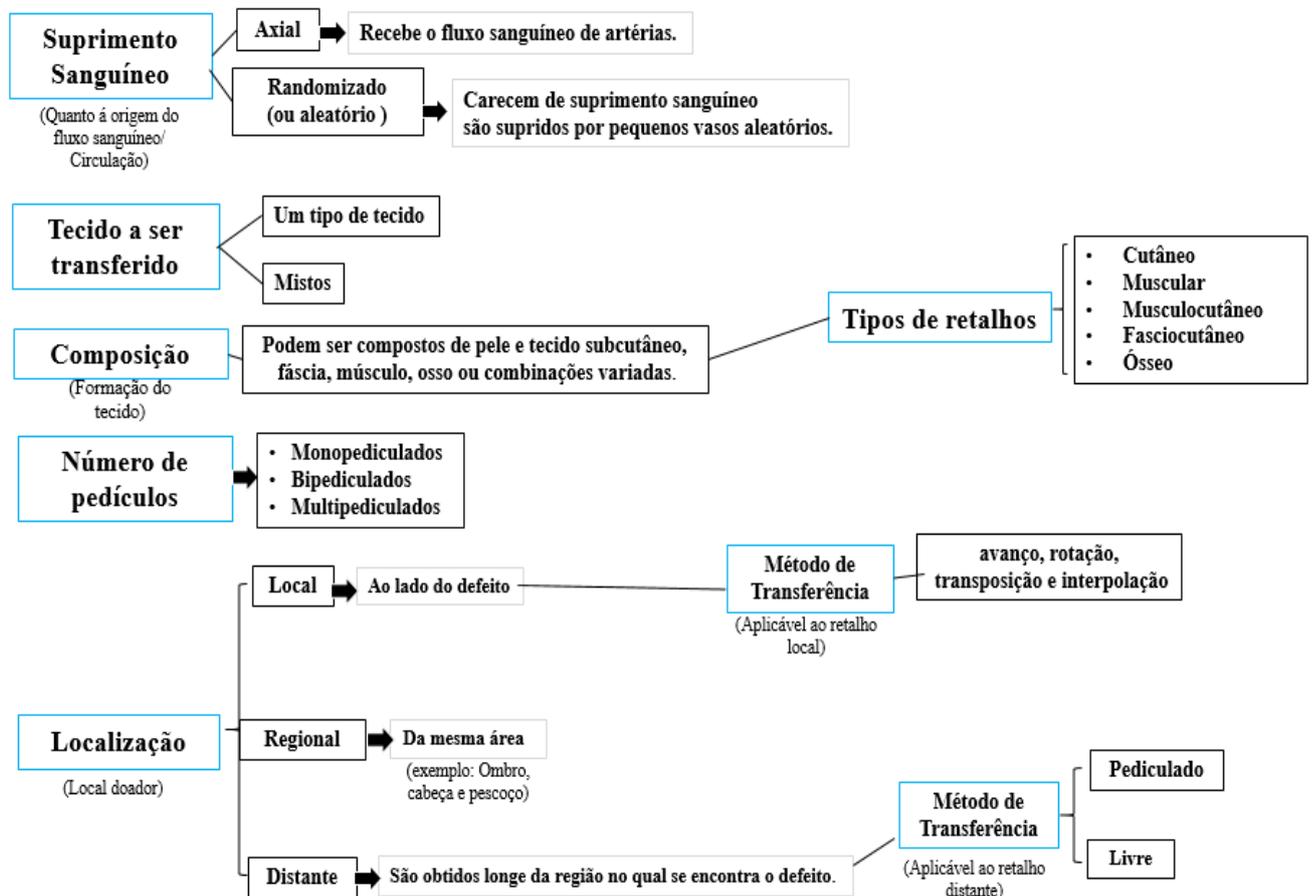
O retalho cutâneo é uma das técnicas cirúrgicas mais importantes na cirurgia reconstrutiva. (YANG et al., 2010). Também conhecidos como “*Skin Flaps*” derivados da palavra holandesa “*flappe*”. Que significa "Amplio, longo e anexado a um lado", especificando que o suprimento sanguíneo do retalho passa por um lado conhecido como pedículo. (LE COCQ & STANLEY, 2011). Ou seja, o retalho é uma unidade de tecido transferido de um local doador para outro local receptor mantendo o suprimento sanguíneo por meio de um pedículo que garante a sobrevivência do retalho com o fornecimento de sangue adequado.

A história dos retalhos cutâneos possui origens relatadas a 600 aC, quando Sushruta Samhita, considerado “Pai da cirurgia” (SINGH, 2017), principalmente da cirurgia plástica (CHAMPANERIA et al., 2014). Denominou de “Método Indiano” a reconstrução nasal usando um retalho pediculado de bochecha, definindo os princípios básicos em cirurgias reconstrutivas nasais e cirurgia de retalhos. A evolução subsequente do retalho cirúrgico ocorreu em fases históricas. Como por exemplo: os horríveis ferimentos da Primeira e Segunda Guerra Mundial que utilizaram retalhos pediculados extensivamente e forneceram estímulo para o início da cirurgia plástica reconstrutiva. (ROGERS et al., 2013; CHRYSOPOULO. 2019).

Os retalhos cutâneos são abundantemente aplicados em todos os campos da cirurgia plástica sendo uma subespecialidade na modalidade de reconstrução (CARTY et al., 2010; ÁLVARES et al 2018). Possuem diversas formas, variando de simples avanços cutâneos a compostos com diferentes tipos de tecidos que não constituem apenas tecidos moles. Eles podem incluir pele, músculo, osso, gordura ou fáscia. (CHRYSOPOULO. 2019). E representam oportunidade única para o reparo cirúrgico após a ressecção de lesões de pele, defeitos teciduais, trauma, distúrbios congênitos, tumores ou quando é necessária uma reconstrução mais ampla.

A dúvida entre a concepção de retalho e enxerto é muito comum. E a diferença encontra-se no fornecimento sanguíneo, pois o enxerto depende da vascularização do leito receptor para sua incorporação e o retalho possui vascularização própria. Assim, os retalhos possuem vantagens substanciais em relação aos enxertos cutâneos devido à sua viabilidade não depender do local receptor. (FERNANDES, 2010). Os “*Flaps*” podem ser classificados de diversas formas com base na localização, suprimento sanguíneo e formação de tecido. (FOSSUM, 2014). Como demonstrado na Figura 2. Uma variedade de técnicas foram desenvolvidas ao longo do tempo, para alcançar a excelência na forma e função dos retalhos cutâneos, buscando melhores resultados na cirurgia plástica reconstrutiva.

Figura 2 - Esquema resumo da classificação do retalhos cutâneos.



Fonte: a autora

Os métodos se adaptam a cada região do corpo constituem os avanços cirúrgicos que permite ao paciente melhora em sua qualidade de vida. Algumas técnicas surgiram gradativamente, conforme o aparecimento das dificuldades. Sendo assim, esse progresso no conhecimento da cirurgia de retalhos evoluiu lentamente por vários anos. Atualmente, existem diversas técnicas disponíveis, sendo a escolha baseada em fatores como: A área lesionada, suporte sanguíneo local, elasticidade do tecido acometido, qualidade do leito doador e receptor e habilidade do cirurgião.

A criação do retalho resulta em tensões teciduais que podem ter um impacto significativo na sobrevivência do retalho, comprometendo potencialmente o suprimento neurovascular das estruturas cutâneas. (LUCAS, 2017). A base ou pedículo deve fornecer o suprimento sanguíneo necessário para a sobrevivência do retalho, caso contrário, pode ocorrer diversas complicações que impedem um melhor resultado do procedimento cirúrgico.

2.2.1 Complicações, Isquemia e Necrose

As complicações relacionadas aplicabilidade de retalhos cutâneos normalmente estão associados ao comprometimento do fluxo sanguíneo, formação de seroma ou hematoma, imobilização inadequada, edema e infecção. Vários fatores contribuem para a falha do retalho (Tabela 1), frequentemente esses processos estão associados a falta de planejamento ou técnica adequada, contribuindo assim para a um erro ou falha cirúrgica.

Tabela 1 - Complicações de retalhos que causam necrose

Pré-Operatória	<ul style="list-style-type: none"> • Design deficiente. • Tamanho inadequado • Violação do suprimento sanguíneo
Intraoperatórias	<ul style="list-style-type: none"> • Lesão do suprimento sanguíneo durante a dissecação • Tensão no retalho ou torção do pedículo do retalho.
Pós-Operatória	<ul style="list-style-type: none"> • Hematoma pode causar pressão no retalho e necrose. • Infecção também pode causar necrose parcial ou completa do retalho.

Fonte: NESBIT& LAUB 2009.

A presença de edema, trombose ou vasoespasm, bem como a liberação de radicais livres, pode resultar em isquemia e até necrose, principalmente em suas porções distais (BARRAL et al., 2011). A isquemia caracteriza-se pela insuficiência de oxigênio enquanto a necrose ocorre devido á lesão de isquemia e reperfusão. Acredita-se que as lesões sejam os principais fatores que causam várias alterações prejudiciais no tecido e na vasculatura, resultando em necrose do retalho (YANG et al., 2010).

A necrose do retalho é a complicação pós-operatória mais frequente na cirurgia reconstrutiva. (PU et al., 2017). Diversas são as causas envolvidas na necrose parcial ou total de um retalho cutâneo. Como por exemplo, em retalhos cutâneos randomizados, que podem possuir um comprimento muito longo e dificultar a chegada de nutrientes aos segmentos mais

distais do pedículo. Resultando num déficit de suprimento sanguíneo e hipóxia, que também pode contribuir na formação de metabólitos tóxicos e edema.

A necrose em retalhos cutâneos geralmente estão associados a um déficit vascular. As complicações isquêmicas, no entanto, são uma grande preocupação e podem exigir intervenções cirúrgicas secundárias, geram múltiplas infecções e atrasar tratamentos futuros, devido à presença de necrose tecidual. (TURIN et al., 2018).

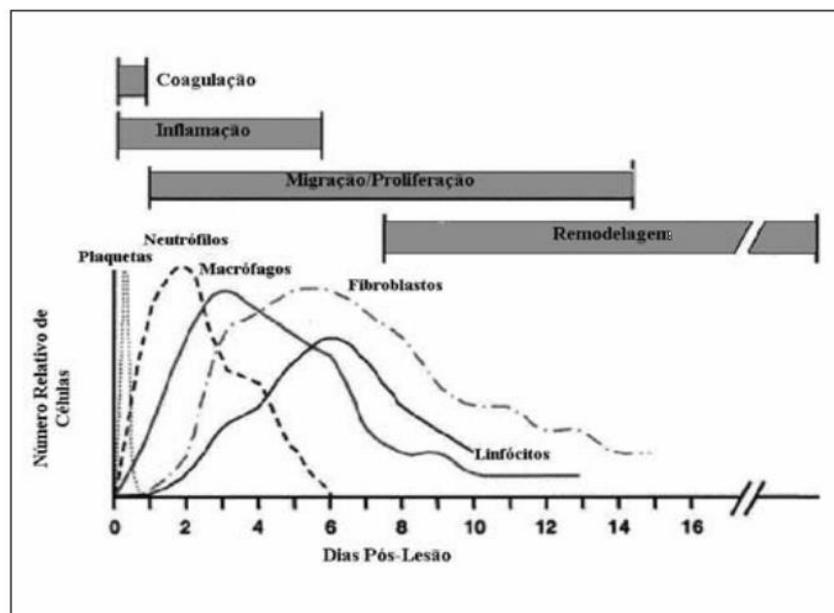
O design do retalho geralmente é importante. Qualquer erro técnico no projeto do retalho durante a cirurgia pode causar isquemia ou necrose parcial ou completa do retalho. As principais estratégias que promovem a sobrevivência do retalho cutâneo são inibição da lesão de isquemia-reperfusão, aceleração da angiogênese e alívio do edema tecidual. (CAO et al., 2015; KIM et al., 2012; BIN et al., 2015).

2.2.2 Viabilidade

Nos últimos anos pesquisas foram realizadas sobre o aumento da viabilidade dos retalhos cutâneos através de manipulação. Incluindo, drogas simpatolíticas, vasodilatadores, bloqueadores dos canais de cálcio, que no entanto são com resultados conflitantes ou inconsistentes na prevenção necrose do retalho. (HALLOCK & RICE 1995; AKAMATSU ET AL., 2000; KARAC ET AL 2005; KIM ET AL., 2009).

A viabilidade ou cicatrização do retalho necessita do estabelecimento de ligações arteriais e drenagem adequada, que deve ocorrer no período entre o sétimo e oitavo dia pós operatório. Estabelecido de acordo com o tradicional processo de cicatrização tecidual que está dividido em três fases: a inflamatória, proliferativa e remodelagem, que se sobrepõem de forma contínua e temporal.

Figura 3 - Representação esquemática com as fases da cicatrização tecidual.



Fonte adaptada: Park JE & Barbul A (2004)

Após a ocorrência de uma lesão ou ferimento começa o extravasamento sanguíneo e consequentemente inicia-se a primeira etapa do processo de cicatrização a fase inflamatória. Durante a primeira fase, ocorrem hemostasia, migração de leucócitos e início da cascata de reparação tecidual. (ISAAC et al 2010). Origina-se também uma agregação plaquetária através da coagulação sanguínea, gerando um tampão rico em fibrina que organiza uma matriz provisória fundamental para a migração celular e proteção contra microrganismos. Além disso,

serve como reservatório de citocinas e fatores de crescimento que serão liberados durante as outras fases da cicatrização.

A fase proliferativa ou de migração é responsável pelo fechamento da lesão ou ferimento. Compreende: reepitelização, que se inicia horas após a lesão, com a movimentação das células epiteliais oriundas tanto da margem como de apêndices epidérmicos localizados no centro da lesão; fibroplasia e angiogênese, que compõem o chamado tecido de granulação responsável pela ocupação do tecido lesionado cerca de quatro dias após a lesão. (MENDONÇA & COUTINHO-NETTO 2009). Os fibroblastos formam a nova matriz extracelular necessária para crescimento, como também os novos vasos sanguíneos formados através da angiogênese levam oxigênio e nutrientes fundamentais ao metabolismo celular local.

A fase de remodelação é a última fase marcada pela maturação dos elementos e a modificação da matriz extracelular e o armazenamento de proteoglicanas e colágenos, o período em que ocorre a tentativa de recuperação da estruturação tecidual normal. A reorganização da MEC transforma-se de provisória a definitiva, dependendo da intensidade fenotípica observada nas cicatrizes, representa a intensidade dos fenômenos que aconteceram, bem como o grau de equilíbrio ou desequilíbrio entre os elementos. Com o decorrer do processo de maturação e remodelagem, a maioria dos vasos, fibroblastos e células inflamatórias desaparece do local da ferida mediante processos de emigração, apoptose ou outros mecanismos desconhecidos de morte celular (MENDONÇA & COUTINHO-NETTO 2009).

Com relação aos retalhos cutâneos o processo de cicatrização podem depender de fatores como a falta de congestão venosa e hematoma, pressão de perfusão e atenção aos princípios cirúrgicos. O estímulo a processos naturais como a angiogênese é citado em diversos trabalhos (KEIL et al., 2011; MITTERMAYR et al., 2011; JIANG et al., 2020). Esse processo que ocorre na fase proliferativa é estimulada pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), e permite a formação de novos capilares sanguíneos a partir de vasos pré existentes, sendo acompanhado na maioria das vezes por aumento da permeabilidade vascular. Envolvendo múltiplas etapas como: Migração e invasão de células endoteliais, formação do lúmen, conexão de novos segmentos vasculares com circulação preexistentes e remodelação da matriz extracelular (MEC), no qual as metaloproteinases (MMPs) são extremamente importantes (CONWAY, COLLEN, CARMELIET, 2001). Sendo assim, é possível chegar à conclusão de que para garantir o suprimento sanguíneo adequado do retalho é necessário que ocorra o estímulo a formação de novos vasos sanguíneos ou seja, a angiogênese.

Alguns métodos alternativos para aumentar a viabilidade dos retalhos cutâneos e estimular a angiogênese, utilizaram por exemplo: Células troncos (PU et al., 2017; GAO et al., 2011); Plaquetas (TAKIKAWA et al., 2011); Microagulhamento (BARIS et al., 2013); Estimulação mecânica (TACANI et al., 2010); Fototerapia e laseterapia (NISHIOKA et al., 2012; COSTA et al., 2010; MARTIGNAGO et al., 2019) entre outros. Estes possuem resultados rápidos e interessantes, contudo é de custo relativamente alto e difícil acesso ao tratamento.

Neste contexto, os vegetais também possuem destaque científico, quando se refere a angiogênese e aumentar a viabilidade dos retalhos cutâneos. Os benefícios tornam-se ainda mais especiais, devido a naturalidade, fácil acesso e baixo custo para tratamentos em uso popular. É possível encontrar resultados científicos relevantes na literatura com utilização de plantas como o uso do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) (ESTEVÃO; 2013); Extrato do alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (INCE et al., 2016); Extrato de *Arnebia purpúrea* (ORHAN et al., 2018); Extrato de carrasco (*Quercus coccifera* L) (ORHAN et al., 2019) e extrato de açai (*Euterpe oleracea Mart*) (DA MOTA et al., 2018). Estes métodos além de apresentar fácil aplicabilidade e resultados consideráveis, se adequam no contexto de baixo custo se tornando alternativas viáveis para o tratamento de pessoas em situações de vulnerabilidade social e econômica.

Atualmente, há apenas um trabalho na literatura que utilizou a espécie *R. mangle* em retalhos cutâneos isquêmicos. Associando seu extrato a 5% em filmes poliméricos como um curativo temporário ou substituto temporário de pele e obtendo resultados significativos (DE OLIVEIRA 2018). Deixando em hipótese a possibilidade de envolver o extrato a outras substâncias tóxicas que possa aumentar o potencial fitoterápico. Entretanto, apesar de extensas pesquisas descritas na literatura e com a utilização de diferentes estratégias para evitar complicações nos retalhos cutâneos, ainda há muito a ser esclarecido. Havendo, portanto, necessidade de novas pesquisas clínicas e experimentais.

2.3 MANGUEZAIS

Os manguezais são ecossistemas costeiros de transição entre o ambiente terrestre e marinho, característico de regiões tropicais e subtropicais. Apresentam vegetação composta por espécies do tipo halófila, denominadas de mangue, com zonação horizontal. Sua importância está relacionada a funções fundamentais como a manutenção da qualidade da água, fixação do sedimento, fornecimento de produção primária para o entorno e manutenção da biodiversidade. (FREITAS et al., 2017).

Figura 4 - Manguezal pertencente ao distrito de Vila Velha, em Itamaracá- PE/ Brasil



Fonte: A autora.

Segundo Schaeffer- Novelli et al (2000) O termo manguezal refere-se ao ecossistema, enquanto mangue é utilizado para designar o grupo de espécies arbóreas com adaptações para sobreviver no ambiente entre marés. A classificação ocorre como um sistema de transição entre duas grandes ecoregiões reforça a utilização do termo porque o manguezal apresenta uma série de comportamentos ecológicos que são bastante próprios. (ALONGI 2009). O que desperta o interesse de especialistas devido a particularidade da vegetação.

O bioma foi colonizado devido aos diferentes mecanismos morfológicos, anatômicos, fisiológicos e bioquímicos apresentados pelas espécies vegetais, os quais integrados, contribuem para sua elevada produtividade (POOP et al., 1985; BALL, 1988; NAIDOO et al., 2002; 2011; PARIDA et al., 2004; BARR et al., 2009). As espécies vegetais de mangue

apresentam alta plasticidade na utilização das diferentes formas iônicas resultantes dos processos de oxidação, redução e variações de salinidade do solo em decorrência da hidrodinâmica do manguezal (REEF et al., 2010).

As plantas de mangue vivem em condições de estresse ambiental (salinidade, temperatura, flutuação das marés e solo anóxico), estando adaptadas, morfológicamente e fisiologicamente a este ambiente e podem ser fontes potenciais de componentes biologicamente ativos, com ampla aplicação. (DOS SANTOS et al., 2019). De produtos como: remédios, álcool, adoçantes, óleos, tanino e outros produtos de origem vegetal, empregados na cura de várias doenças (CONSTANZA et al., 1997; KAPLOWITZ, 2001).

O manguezal compreende plantas de ocorrência única que produzem metabólitos com características químicas particulares que ainda são pouco conhecidas, o que sugere a possibilidade de abrigarem novos compostos com atividade biológica e dar suporte ao surgimento de novas drogas tanto de origem natural, como semissintéticas (BANDARANAYAKE, 2002). Esse tipo de vegetação apresenta fitoconstituintes importantes de plantas adaptáveis ao ecossistema.

Figura 5 - Manguezal pertencente ao distrito de Vila Velha, em Itamaracá- PE/ Brasil



Fonte: A autora.

Segundo BANDARANAYAKE (2002) possui uma rica fonte de metabólitos secundários como triterpenos, saponinas, taninos, alcaloides e flavonoides. Essas substâncias estão relacionadas a diversas atividades biológicas, como: antiviral (ZANDI et al., 2009), antioxidante (RAMADAN et al., 2009), Anti-inflamatória (SULEIMAN et al., 2010), antibacteriana (SHOHAYEB; ABDEL-HAMEED; BAZAID, 2013; ODA, 2017), Inseticida (SHI et al., 2010), Leshmanicida (SULEIMAN et al., 2010) e anticâncer (RAMALINGAM; RAJARAM, 2018).

Os principais gêneros de espécies vegetais superiores encontrados na costa brasileira são: *Rhizophora*, *Avicennia*, *laguncularia* e *conocarpus*. As espécies *Hibiscus tiliaceus*, *Acrostichum aureum*, *Spartina brasiliensis* e *Spartina alterniflora* ocorrem como facultativas. (ANDRADE, 2010). Os extratos de plantas de mangue são usados como um dos métodos mais populares e simples para o tratamento de vários distúrbios de saúde e doenças crônicas (PATRA; MOHANTA. 2014). Sendo capaz de modular a atividade de enzimas responsáveis pela biotransformação, aumentando assim, a possibilidade de ocorrer interações entre fármacos quando administrados concomitantemente. (DOS SANTOS et al., 2019).

2.3.1 *Rhizophora mangle*

A *Rhizophora mangle* L. Conhecida popularmente como mangue vermelho, mangue raiz, sapateiro entre outros, é uma das espécies mais abundantes em ambiente estuarinos. Pertencente à família Rhizophoraceae possui caráter arbóreo com folhas simples e adaptações fisiológicas notáveis frente aos substratos anaeróbicos típicos do manguezal, os rizóforos. (FERREIRA et al., 2011). Um sistema radicular que partem do tronco e dos ramos formando arcos com aspectos característicos únicos, o qual ramifica-se e chegam ao solo permitindo melhor sustentação a planta.

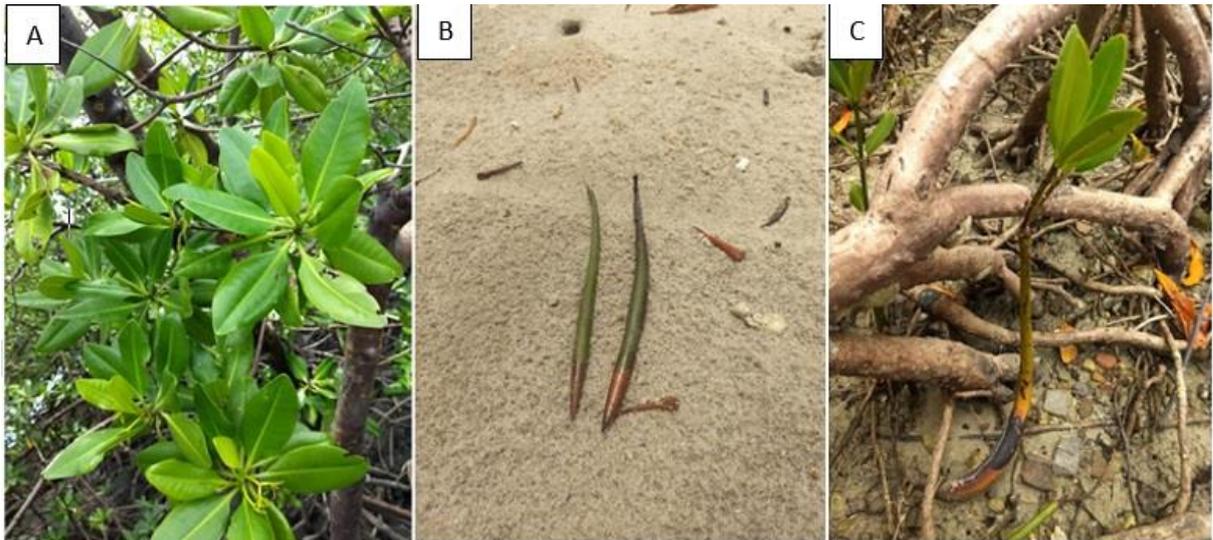
Figura 6 -Ramos formando arcos da espécie *R. mangle*.



Fonte: A autora.

A árvore, apresenta copa simples, com densidade foliar intermediária, ramificação racemosa e espalhamento alternado, com presença de raízes fúlcreas. Com folhas simples, opostas, aglomeradas nos terminais dos ramos, ápice obtuso, base cuneada, coriácea e glabras em ambas as faces. (SILVA, 2018). Outra característica importante da espécie é o fato da semente começar a germinar ainda presa à planta materna. Essa semente germinada tem a forma de caneta ou lança, sendo alongada e apontada para baixo, e é chamada propágulo. O propágulo, ao cair, enterra-se na lama por ocasião da baixa-mar ou pode flutuar na água até encontrar condições favoráveis para sua fixação e desenvolvimento. (ALMEIDA et al, 2002).

Figura 7 - A) Espécie *R. mangle*; B) Propágulos e C) Fixação e desenvolvimento da espécie.



Fonte: A autora.

A planta subtropical / tropical, coloniza linhas costeiras e habitats de água salobra abaixo da isotérmica de 20°C no hemisfério norte e sul. (PIL et al., 2011). No Brasil, a espécie ocorre ao longo de toda a distribuição de manguezais no país. (PIL et al., 2011). Habitando condições ambientais estressantes (salinidade, flutuações das marés e solo anóxico) são adaptadas a esse ecossistema severo, com muitas substâncias que as protegem dessas condições (NEBULA et al., 2013).

O manguezal é um ambiente que propicia situações adversas que trazem a necessidade de estratégias de proteção e desenvolvimento das plantas. Desencadeando assim a produção de metabólitos secundários, compostos com características químicas particulares que ainda são poucos conhecidas, apresentando um rica fonte de triterpenos, saponinas, taninos, alcaloides e flavonoides (BANDARANAYAKE, 2002). Esses fitoconstituintes são componentes importantes de plantas adaptáveis ao ecossistema.

O mangue-vermelho é rico em substâncias fenólicas, como taninos, que são largamente utilizadas na produção de corantes (FERREIRA et al., 2011). A árvore de casca lisa e clara da *R. mangle* ao ser raspada mostra cor vermelha sendo este é um dos motivos pelo qual a espécie é conhecida por mangue vermelho (SILVA et al., 2013). Essa coloração é uma das características marcantes da espécie. As plantas encontradas no manguezal brasileiro são marcadas com um alto grau de especificidade devido às condições em que estão situadas, possuindo características morfológicas distintas (LACERDA, 2003).

Os taninos estão entre os principais compostos polifenólicos do extrato da *R. mangle* L. incluindo os tipos poliméricos e hidrolisáveis (BERENGUER et al., 2006; SÁNCHEZ et al., 2009) ou em extrato aquoso da casca (SÁNCHEZ et al., 2009) e novos flavonoides (ANDRADE-CETTO et al., 2017). Presença de epicatequina, catequina, ácido clorogênico, ácido gálico e ácido elágico, galotaninos e elagitaninos (SÁNCHEZ et al., 2009). Das estruturas não tânicas, é mencionada a presença de carboidratos livres e encadeados, ácidos graxos de cadeia longa, saturados e insaturados; fitoesteróis, componentes voláteis ou semi-voláteis, e aromas ou óleos essenciais não voláteis. (SANCHEZ et al., 1998).

Trata-se de uma planta cuja folha, caule, raízes e frutos apresentam variados usos na medicina popular cuja preparação envolve maceração, chá ou cinzas em água (COELHO-FERREIRA, 2009). Os extratos de *R. mangle* possuem efeitos benéficos avaliados em trabalhos anteriores sendo utilizada no tratamento contra úlceras gástricas (BERENGER, et al., 2006; PERERA, et al., 2010; DEFARIA et al., 2012; ARMAS et al 2005), ação antibacteriana (MELCHOR, et al., 2001; FERREIRA et al., 2011), atividade antioxidante (SANCHEZ, et al., 2006; BERENGUER et al., 2006; ZHANG, et al. 2010), anti-inflamatória (MARRERO, et al., 2006), efeito antidiarreico (WENDEL et al., 2013); e na cicatrização de feridas (MARINHO., 2018; FERNANDEZ et al., 2002).

2.4 HIDROGEL

A história dos hidrogéis se iniciou na década de 1960, quando foram primeiramente inventados e propostos por Wichterle e Lim. (WICHTERLE & LÍM, 1960). A partir de então, estudos envolvendo polímeros auxiliaram na síntese de uma variedade de hidrogéis, através de polímeros sintéticos ou naturais. O resultado incentivou novas pesquisas, interesse nas estruturas poliméricas reticuladas e avanços científicos, permitindo a produção de outros hidrogéis para diversas aplicações.

Os hidrogéis são estruturas poliméricas hidrofílicas reticuladas que podem absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos. (AHMED, 2015). Estes materiais apresentam como característica principal a capacidade de absorver e reter água em seu interior, sem dissolver. Podendo absorver várias vezes o seu próprio peso seco. (KONDIAH et al., 2016; PARK et al., 2017). A difusão de água para o interior do hidrogel ocorre pela expansão das redes poliméricas constituídas. Esta propriedade dos hidrogéis é denominada grau de intumescimento que é diretamente proporcional à quantidade de água absorvida pelo hidrogel (PAL et al., 2009).

O intumescimento depende de alguns fatores físicos externos como forças de coesão, grupos hidrofílicos, baixa densidade de reticulação e flexibilidade da cadeia do polímero. O controle desses fatores também é importante para alterar o grau de intumescimento dos agentes. A capacidade dos hidrogéis de se unir com moléculas de água surge principalmente devido à existência de grupos hidrofílicos tais como: grupos aminos, carboxilas e hidroxilas.

Os hidrogéis podem ser divididos em duas classes com relação à natureza do entrecruzamento das cadeias poliméricas, podendo ser, químico ou físico ou ainda podendo haver uma combinação dos dois com diferentes proporções. (SABADINI, 2015). A formação de hidrogel por meio de ligação covalente, o classifica como hidrogel químico, enquanto ligações do tipo pontes de hidrogênio, ligações iônicas ou interações hidrofóbicas, o classificam como hidrogel físico, uma vez que essas ligações são consideradas reversíveis (COIMBRA, 2010). Porém, ao longo dos anos cientistas classificaram os hidrogéis de vários modos. (FEKSA et al, 2018).

A classificação ocorre com base na resposta desses materiais que também podem ser diferenciados pela forma como são preparados definindo suas peculiaridades. A estrutura física

e as características dos hidrogéis dependem ao iniciar monômeros e macrômeros, métodos de síntese e fabricação, condições de solvente, degradação e histórico de carregamento mecânico. (SLAUGHTER et al., 2009). Os hidrogéis podem ser quimicamente estáveis ou podem se degradar e, eventualmente, se desintegrar e dissolver. (HOFFMAN, 2012).

De acordo com Nascimento e Lombello (2016, p. 6):

Quanto ao método de formação das cadeias, podem ser homopolímeros, quando são utilizados apenas um tipo de monômero; copolímeros, quando são utilizados mais de um tipo de monômero; polímeros interpenetrantes, quando as cadeias poliméricas de um dado hidrogel penetram e se emaranham com as cadeias de um outro hidrogel, formando blendas de hidrogéis.

Outro método de classificação de hidrogéis é pelo caráter iônico dos componentes macromoleculares na rede. (PEPPAS et al., 2012). Que determina na maioria das vezes o comportamento e equilíbrio de intumescência da formulação. Em termos de carga iônica, os hidrogéis podem ser neutros, catiônicos, aniônicos ou anfóteros, conforme determinado por grupos pendentes incorporados a estrutura do gel. (SLAUGHTER et al., 2009). As cadeias que compõem a rede podem ser baseadas em combinações naturais, sintéticas ou híbridas desses materiais.

A produção de hidrogéis possui grande variedade de polímeros sintéticos e naturais, porém para aplicações biomédicas o polímero deve apresentar biocompatibilidade e na maioria dos casos, também biodegradabilidade. Os hidrogéis provenientes de componentes naturais destaca-se por apresentar essas características vantajosas, como também, baixa toxicidade e uma série de propriedades físico-químicas notáveis que os fazem apropriados a diferentes aplicações. Atualmente, existe um interesse muito forte em substituir polímeros sintéticos por polímeros naturais para aplicações que interagem com seres humanos ou com o meio ambiente (FARHAT et al., 2017)

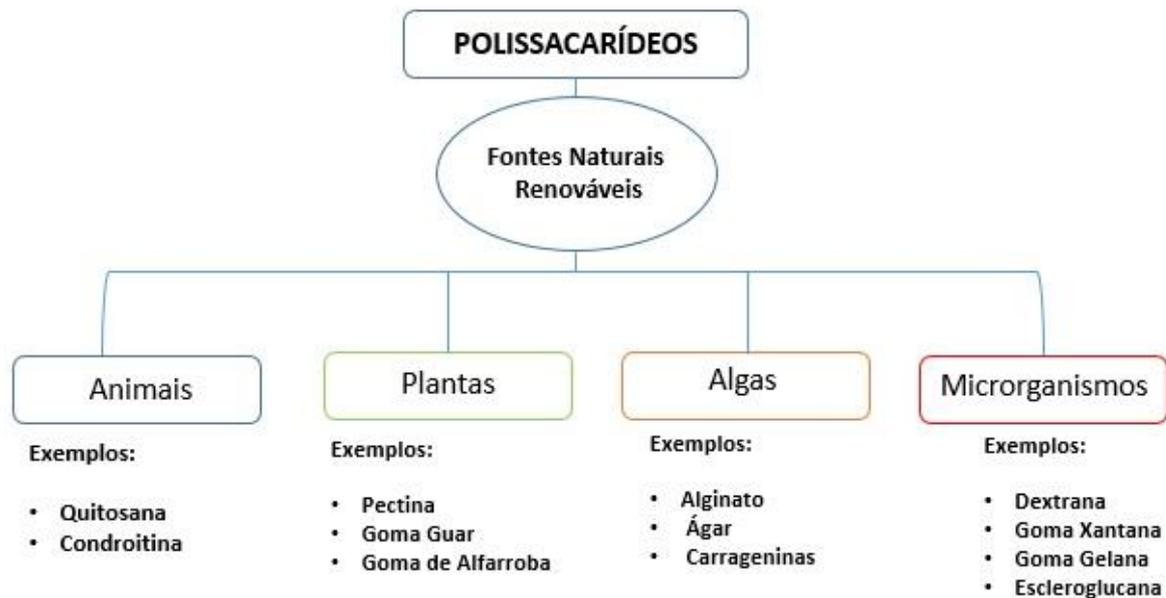
2.4.1 Hidrogéis de Polímeros Naturais

Os polímeros naturais também chamados de biopolímeros são macromoléculas produzidas por organismos vivos ou presentes em sua constituição. Estes incluem as proteínas, os ácidos ribonucleicos (RNA) e ácidos desoxirribonucleicos (DNA), os polissacarídeos, e outros polímeros como a borracha natural e alguns poliésteres. (COIMBRA, 2010).

Como os polímeros naturais são macromoléculas com alto peso molecular, eles podem ser usados para preparar hidrogéis sem adicionar nenhum iniciador de polimerização. (TANG et al., 2020). Sendo extremamente importante em aplicações biomédicas como engenharia de tecidos, terapias celulares e administração de medicamentos. Os hidrogéis baseados em polímeros naturais imitam muitas características da matriz extracelular e muitos demonstraram melhor biocompatibilidade e biodegradabilidade do que aqueles baseados em polímeros sintéticos. (BALAKRISHNAN & BANERJEE, 2011).

2.4.2 Polissacarídeos

A necessidade de buscar alternativas ecológicas fez com que nos últimos anos se desenvolvessem hidrogéis à base de polissacarídeos já que muitos são atóxicos e/ou biodegradáveis. (MOTTA, 2009). Os polissacarídeos são comuns em preparações de hidrogéis, esse tipo de polímero natural possui fontes renováveis como: microrganismos, plantas e animais (Figura 8). A sua principal vantagem reside no fato de serem abundantes e econômicos e na possibilidade de serem modificados quimicamente (FANGUEIRO et al., 2010).

Figura 8 - Fontes naturais renováveis de polissacarídeos.

Fonte: A autora

As características e diversidade dessas macromoléculas podem estar relacionadas aos diferentes pesos moleculares, distribuição e composição química. Além disso, podem apresentar um grande número de grupos reativos em sua organização. (ALHAIQUE et al., 2016). Os hidrogéis de polissacarídeos possuem uma estrutura polimérica complexa e ramificada, da qual eles exibem altas propriedades adesivas e coesivas. (ROHOKALE et al., 2012).

Tais propriedades são bastante úteis em preparações farmacêuticas e utilizações biomédicas. Tornando-se um material de escolha em diversas aplicações, como: Cicatrização em feridas cutâneas (VICENTE et al., 2019), engenharia de tecidos (DO NASCIMENTO & LOMBELLO, 2016; RADHAKRISHNAN et al., 2017), reparo de tecidual (CARVALHO, 2017) e administração de medicamentos (GOPINATH et al., 2018).

Atualmente na literatura existe uma grande variedade de polissacarídeos naturais bastantes utilizados na preparação de hidrogéis, como: Quitosana (DO NASCIMENTO & LOMBELLO, 2016; CARVALHO, 2017; MENDES, 2019), Amido (VICENTE et al., 2019), Celulose (ZHAO et al., 2016; DAI & HUANG, 2016), Quitina (CHANG et al., 2011) e Goma xantana (LE & TURGEON, 2013; KANG et al., 2019).

Os hidrogéis à base de polissacarídeos naturais exibem propriedades únicas que respondem a estímulos e funções biológicas. A produção desses materiais utilizando polissacarídeos de origem microbiana tem recebido uma considerável atenção em estudos e pesquisas científicas nos últimos anos, devido a diversidade de substâncias e aplicabilidade em diferentes áreas como industriais, alimentícias e farmacêuticas.

Os polissacarídeos microbianos compreendem um grande número de biopolímeros versáteis produzidos por várias bactérias, leveduras e fungos. (GIAVASIS, 2013). Possui vantagens principalmente no que se refere a obtenção do produto comparando aos outros tipos de carboidratos. Como por exemplo: produção independente de condições climáticas, possibilidade de utilização de matérias-primas regionais, maior rapidez na obtenção do produto acabado e necessidade de espaço relativamente pequeno. (DE SOUZA & GARCIA-CRUZ, 2004). Porém, em alguns casos depende do tipo de microrganismo utilizado e o método de produção para o alcançar de rendimentos específicos.

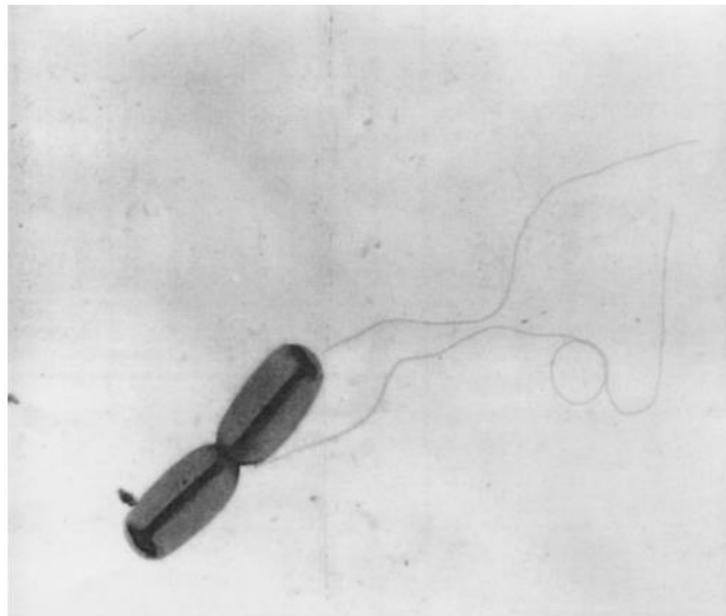
Os polissacarídeos microbianos bem estabelecidos pelas indústrias são as gomas: xantana, gelana, curdlana, pululana ou escleroglucana. Polissacarídeos de fungos, leveduras ou bactérias emergem, à medida que a pesquisa sobre cepas produtoras de polissacarídeos continua e as propriedades e a funcionalidade desses biopolímeros se tornam mais elucidadas. (GIAVASIS, 2013). São considerados materiais renováveis, biodegradáveis, geralmente atóxicos e com propriedades reológicas específicas. Portanto, são de grande aplicabilidade industrial em substituição aos polissacarídeos convencionais (FREITAS et al., 2009).

2.4.3 Goma Xantana

A goma xantana (GX) é um exopolissacarídeo natural de grande importância para a indústria de polímeros. São substâncias extracelulares secretadas pelo microrganismo *Xanthomonas campestris*, que através da fermentação aeróbica sintetiza a goma para evitar sua desidratação. Sendo estudada extensamente para o interesse de produção industrial por apresentar propriedades espessantes, estabilizantes ou evitando a sedimentação de substâncias em suspensão (BALDASSO et al., 2004; KRSTONOŠIĆ et al., 2019).

O termo “Goma” é comum para géis polissacarídeos hidrocoloidais que têm uma afinidade pela água e exibem propriedades de ligação com água e outros materiais orgânicos ou inorgânicos. (PALANIRA & JAYARAMAN. 2011). Capazes de formar dispersões, soluções intensamente viscosas ou géis na presença de um solvente ou agente de intumescência apropriado, em baixas concentrações. Grande parte da literatura refere-se a goma xantana como polissacarídeo B-1459, baseado nas cepas obtidas de coleções de cultura, principalmente da *X. campestris* pv *campestris* NRRL B-1459 e seus provenientes. A bactéria é do tipo gram negativa, fitopatogênica e apresentam-se predominantemente isoladas em forma de bastonetes que se movimentam por um flagelo único (FONARI, 2006).

Figura 9 - Micrografia eletrônica de transmissão de *X. Campestris*. (x 12 000)



Fonte: Garcia-Ochoa et al., (2000).

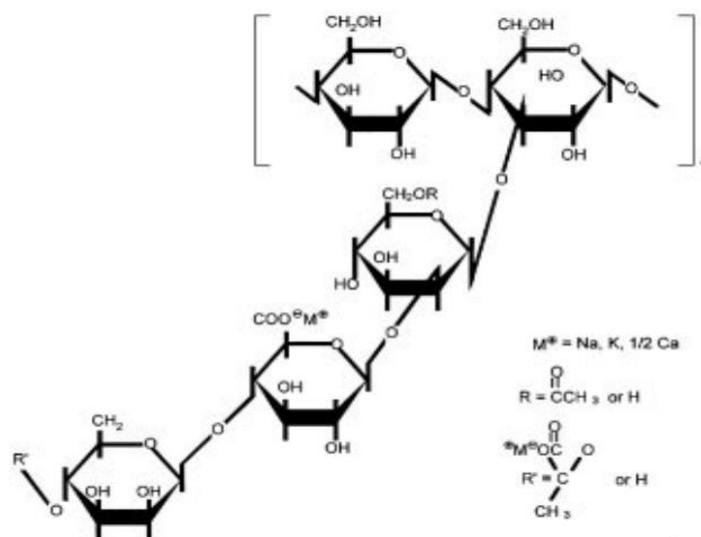
A descoberta da goma xantana em 1950 foi resultado de um programa sistemático de busca ou *screening* iniciado pelo *Northern Regional Research Laboratories* (NRRL) do

Departamento de agricultura dos Estados Unidos. (FORNARI et al., 2006; PALANIRA & JAYARAMAN, 2011; DINIZ et al., 2012). Em consequência do sucesso comercial da dextrana na década de 1940 o departamento iniciou uma busca exaustiva por microrganismos capazes de produzir polissacarídeos solúveis em água, tendo como resultado o descobrimento da goma xantana. (FORNARI 2006). Ficando comercializada a partir da década de 1960 (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

A produção de exopolissacarídeo está relacionado a sobrevivência do microrganismo (FORNARI, 2006). Sobre condições ambientais adversas como: secagem, oscilações de temperatura, radiação, certos produtos químicos e adesão (ROMERIO, 1995). Além disso, comporta-se contra ataques de amebas, fagócitos e bacteriófagos; e industrialmente é um produto capaz de formar soluções viscosas em meio aquoso, mesmo em pequenas concentrações (SOUZA e VENDRUSCOLO, 1999).

As qualidades industriais do xantano estão associadas a funções orgânicas presentes em sua cadeia estrutural (Figura 2). Formado por unidades repetidas de pentassacarídeos. (DA COSTA et al., 2015). Baseada em um esqueleto linear que consiste em β -D-glicose ligada a 1,4, que é substituída por uma cadeia lateral de trissacarídeo com duas manoses e um ácido glucurônico ligada a resíduos de glicose alternativos da cadeia principal. (CAI et al., 2018; MORRIS, 2017).

Figura 10 - Estrutura primária da goma xantana



Fonte: SWORN,(2009).

A presença de grupos orgânicos como ácido glucurônico e ácido pirúvico na cadeia lateral caracteriza o polímero como aniônico. O resíduo terminal de D-manose pode ter uma função de piruvato, cuja distribuição depende da cepa bacteriana e das condições de fermentação. A unidade D-manose não terminal na cadeia lateral contém uma função acetila. (TALUKDAR & KINGET 1995). As diferenciações estruturais dependem do microrganismo usado na produção e condições utilizadas no processo de fermentação (BORGES & VENDRUSCOLO, 2008).

A elaboração comercial da goma xantana ocorre a partir de uma cultura pura da bactéria por um processo de fermentação aeróbica submersa. Produzindo o polissacarídeo na superfície da parede celular durante seu ciclo de vida normal por um processo enzimático complexo. As bactérias são cultivadas em meio adequado, contendo glicose, uma fonte de nitrogênio e vários oligoelementos. Os requerimentos nutricionais mínimos necessários do meio fermentativo para a biosíntese de xantana são as fontes de C (carbono), N (nitrogênio) e P (fósforo) (BRANDÃO et al., 2010).

O atual processo de produção consiste nas etapas de obtenção do préinóculo, inóculo, fermentação, remoção das células, precipitação, separação e secagem da goma. (DA COSTA et al., 2015). Quando a fermentação final termina, o caldo é pasteurizado para matar as bactérias e a goma xantana é recuperada por precipitação com álcool isopropílico ou etanol. Finalmente, o produto é seco, moído e embalado. (SWORN, 2009). O crescimento dos microrganismos e a produção da goma xantana são influenciados por tais fatores como: o tipo de reator, o modo de operação (batelada ou contínuo), composição do meio, e as condições da cultura (temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido) (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

A demanda de xantano utilizada no Brasil é importada. Por isso, pesquisas têm sido realizadas baseando-se na produção a partir de resíduos industriais, seleção de novas linhagens e adequação nas condições ótimas de crescimento celular, produção, purificação e recuperação do polissacarídeo, com o objetivo de produzir xantana a nível industrial de alta qualidade e rendimento (LUVIELMO & SCAMPARINI, 2009). A goma xantana deve possivelmente continuar sendo o polímero mais utilizado nos próximos anos, por possuir características reológicas próprias com capacidade de alterar as propriedades básicas da água com capacidade de espessamento, estabilização, emulsificação, suspensão e gelificação. Possuindo alta viscosidade e características pseudoplásticas, justificando assim, sua aplicação nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e petroquímicas (BRANDÃO et al., 2008).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

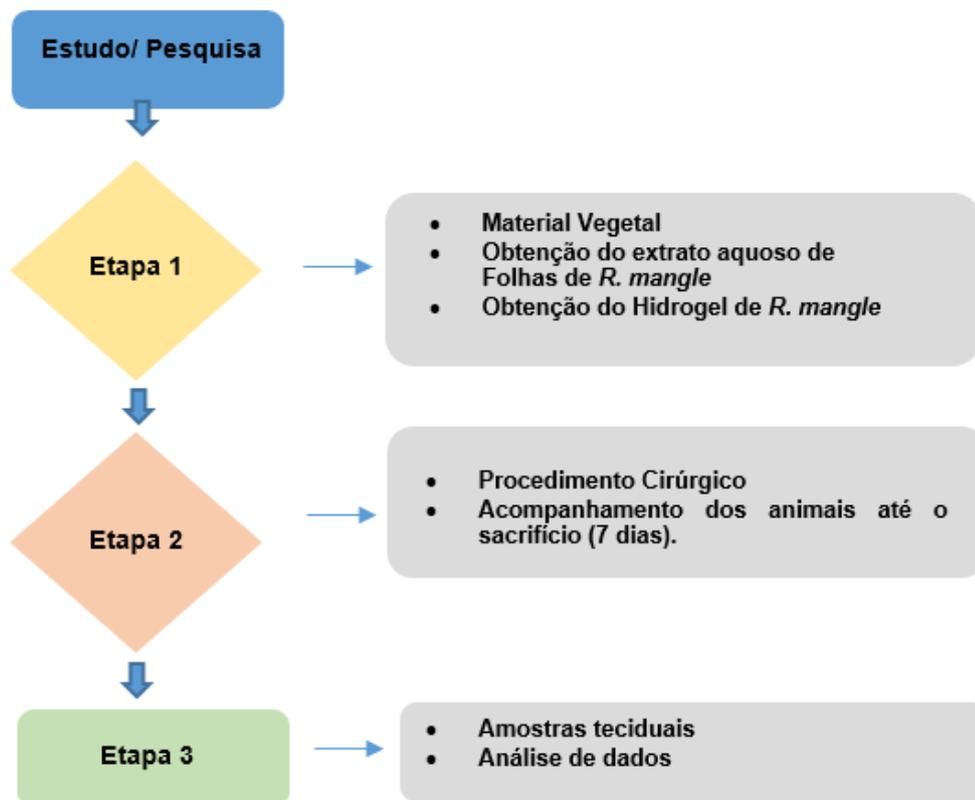
3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de intervenção ou experimental.

3.1.1 Intervenção Realizada

Os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para confecção de retalho cutâneo isquêmico a partir da divisão dos grupos experimentais, a Figura 11 mostra o fluxograma das etapas do estudo.

Figura 11 - Esquema do desenho de estudo



Fonte: A autora.

3.1.2 Local e Período do Estudo

A pesquisa e as análises de dados foi realizada pelo Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia (PPGM) do Departamento de Histologia e Embriologia - (DHE) no Centro de Biociências (CB) da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. E os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Departamento de Fisiologia e Farmacologia – (DFF) CCB/UFPE no período de Fevereiro de 2018 à Março de 2020.

3.2 MATERIAL VEGETAL

3.2.1 Obtenção do Extrato Aquoso de Folhas de *R. mangle*

O material vegetal utilizado nessa pesquisa constitui-se do extrato aquoso liofilizado das folhas de *R. mangle* obtido no Laboratório Pesquisa Translacional e Inovação Terapêutica Aplicada à Morfologia no DHE da UFPE. O extrato em pó foi armazenado em temperatura ambiente. O processamento e caracterização fitoquímica deste extrato encontra-se descritos no trabalho de OLIVEIRA (2018).

3.2.2 Diluição do Extrato e Escolha da Dose

A diluição padrão adotada está de acordo com o trabalho de OLIVEIRA (2018) que também utilizou o extrato aquoso de *R. mangle* a 5% para viabilizar a necrose em RCI. Portanto, optou-se por utilizar 13,6 mg em uma solução de 3mL para cada animal e distribuir 1mL em cada porção do retalho (proximal, média e caudal).

3.3 HIDROGEL

3.3.1 Obtenção do hidrogel de *R. mangle*

O hidrogel foi obtido do Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético (NUDEFAC) localizado no Departamento de Ciências farmacêuticas (DCFAR), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

3.3.2 Desenvolvimento e caracterização do hidrogel de *R. mangle*

As formulações foram desenvolvidas segundo a metodologia de MOHSIN & SHAIKH (2017) adaptado por SANTANA (2019). Foram utilizados 1,5% de Goma Xantana (GX) (Lote: NH201708200032- FAGRON) como base para formulações F1 (sem extrato de *R. mangle*) e F2 (com extrato de *R. mangle* a 5%). Os conservantes foram incorporados ao veículo e o extrato solubilizado em propilenoglicol imediatamente antes da incorporação. A tabela 2 apresenta a composição de cada formulação.

Tabela 2 - Composição das formulações.

Composição:	F1	F2
Extrato <i>R. mangle</i> (%)		5
Metabissulfite de Sódio (%)	1	1
Metilparabeno (%)	0,1	0,1
Propilparabeno (%)	0,05	0,05
Goma Xantana (%)	1,5	1,5
Água destilada q.s.p	100	100

O desenvolvimento destes hidrogéis e os estudos pré-formulação encontra-se detalhadamente descritos e apresentados no trabalho de SANTANA (2019), além de avaliações citotóxica e imunomoduladora. Antes da obtenção do hidrogel associado a *R. mangle* e dos testes biológicos *in vivo*, esses hidrogéis foram submetidos a experimentos a testes de avaliação farmacêutica como, por exemplo, características organolépticas, pH, reologia e espalhabilidade.

3.4 MATERIAL BIOLÓGICO

3.4.1 Aspectos Éticos

A realização deste estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco com processo de número 120/2019 (Anexo1). Foram priorizados os cuidados para menor sofrimento dos animais, desde a captação, realização do ato cirúrgico, cuidados pós operatórios, administração dos medicamentos e sacrifício dos mesmos. Não há conflito de interesses na realização deste estudo.

3.4.2 Animais Experimentais

Foram utilizados no total 20 Ratos Wistar fêmeas, da mesma linhagem reprodutiva com idade de 8 a 12 semanas, pesando em média 225 a 275g provenientes do Biotério do departamento de fisiologia e farmacologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE. Os animais foram mantidos a 27 ± 2 °C, com umidade relativa 44 a 56% e ciclos de luz e escuro de 10 e 14 h, respectivamente, durante uma semana antes e durante os experimentos. Foram aclimatados em gaiolas individuais, em temperatura controlada, livres de ruídos, estresse, respeitando os ciclos diurnos e noturnos e receberam alimentação padrão tipo LabinaÒ e água mineral *ad libitum*.

3.4.3 Modelo Proposto para Estudo de Retalhos Isquêmicos

A determinação do tamanho da área dos retalhos cutâneos randômicos é frequentemente difícil, porque eles apresentam uma nutrição ao acaso, o que facilita uma maior possibilidade de isquemia e necrose. A relação entre a largura do pedículo e o comprimento do retalho cutâneo é fundamental no estabelecimento da sua viabilidade. O modelo de McFarlane, que é um retalho de 9x3 cm com proporções de 3:1 é bastante utilizado entre os estudos para investigação de retalhos isquêmicos na literatura (ACEVEDO-BOGADO et al., 2002; ALMEIDA et al., 2004). McFarlane et al (1965) propuseram o modelo experimental de retalho cutâneo dorsal em ratos de base cranial medindo 10 x 4 cm, para estudar a necrose dos mesmos. Observaram necrose em 94,3% dos animais, com média de 25 a 50% da área. Este modelo foi modificado no ano seguinte, onde foi alterado o suprimento sanguíneo de cranial para caudal e foi proposta uma relação de comprimento e largura de 3:1, resultando em 9x3 cm. Apesar do modelo ser diferente, o autor manteve a homenagem a McFarlane e denominou o retalho como McFarlane modificado. (ADAMSON et al., 1966).

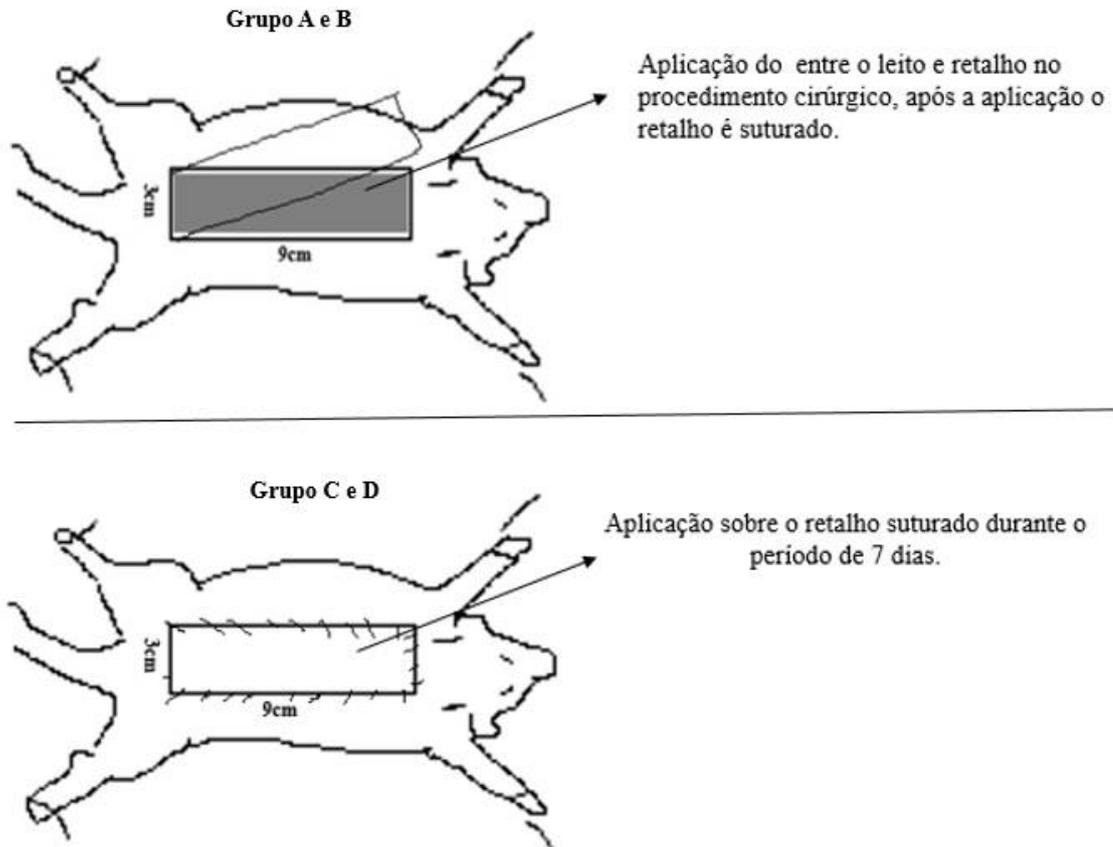
3.4.4 Divisão dos Grupos dos Animais de Estudo

Os animais submetidos à cirurgia foram divididos em 4 (quatro) grupos de 5 (cinco) animais com o total de 20 (vinte) animais para o procedimento cirúrgico, como demonstrado na tabela 3.

Tabela 3 - Divisão dos grupos dos animais de estudo

Grupos		Definição
Experimentais		
A	Controle	Grupo controle (Foi aplicado 3 ml de soro fisiológico 0,9% entre o leito e o retalho)
B	Extrato	Grupo do Extrato <i>R. mangle</i> (Aplicação de 3 ml do extrato aquoso da <i>R. mangle</i> entre o leito e o retalho)
C	Hidrogel + placebo	Grupo Hidrogel de 1,5 % de GX + placebo (Aplicação de Hidrogel associado ao sobre o retalho cutâneo durante 7 dias pós operatório)
D	Hidrogel + Extrato	Grupo Hidrogel 1,5 % de GX + Extrato de <i>R. mangle a</i> 5% (Aplicação sobre o retalho cutâneo durante 7 dias pós operatório).

Figura 12 - Esquema de aplicação das substancias nos animais de estudo.



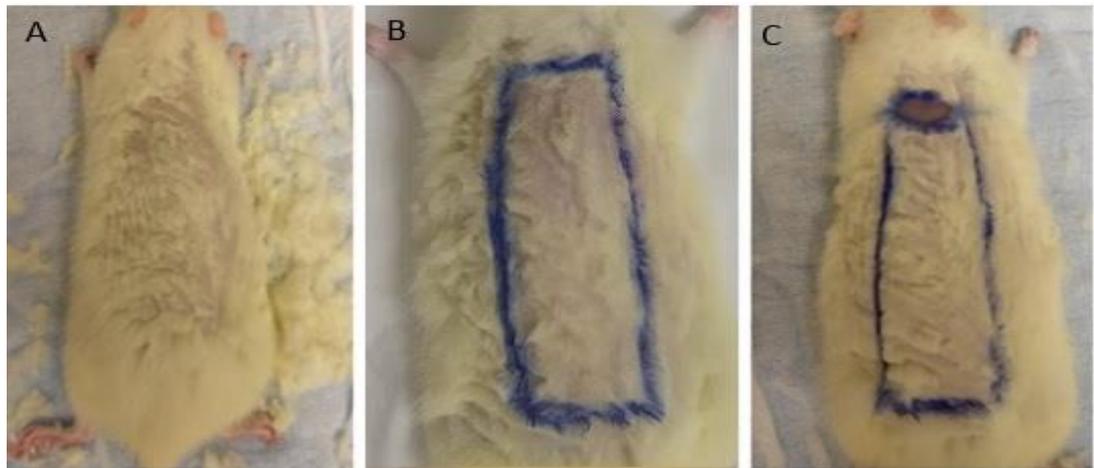
Fonte: A autora

3.4.5 Procedimento Cirúrgico

Os animais foram previamente pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal de solução de ketamina 75mg/Kg e xilazina 5mg/Kg. O plano anestésico para os procedimentos foi avaliado pela frequência respiratória regular e ausência de reflexos a estímulos, de acordo com os conceitos éticos da experimentação animal, sem causar dor ao animal. Após a anestesia os animais foram submetidos à tricotomia na região dorsal com a demarcação do retalho cutâneo medindo 3cm de base, a partir das proeminências posteriores do quadril do animal e 9cm de comprimento (Figura 13), modelo bastante utilizado em experimentos para viabilidade de porções distais de retalhos devido à previsibilidade da necrose ocorrida (MCFARLANE et al., 1965).

Para a antissepsia da área cirúrgica, foi utilizada solução de clorexidina a 2% e, posteriormente, foi realizada incisão sobre a extensão de pele demarcada previamente. A profundidade do plano de dissecção atingiu até a fáscia superficial, conhecida como *panniculus carnosus* (Figura 14), da extremidade do retalho até a sua base. Após a elevação do retalho (Figura 15) e hemostasia local, o retalho foi suturado de volta ao leito da ferida com fio de nylon 3-0 (Figura 15 e 16) e os animais foram acondicionados em gaiolas específicas com água e ração *ad libitum*. Cada animal ficou separado em gaiola única para evitar o canibalismo das áreas de necrose dos retalhos por outros animais.

Figura 13 - Etapas do procedimento cirúrgico.



Fonte: a autor

Legenda: A) Tricotomia da região dorsal. B) Demarcação 9x3 cm. C) Início do plano de dissecção. (Fonte: A autora)

Figura 14 - Elevação do retalho



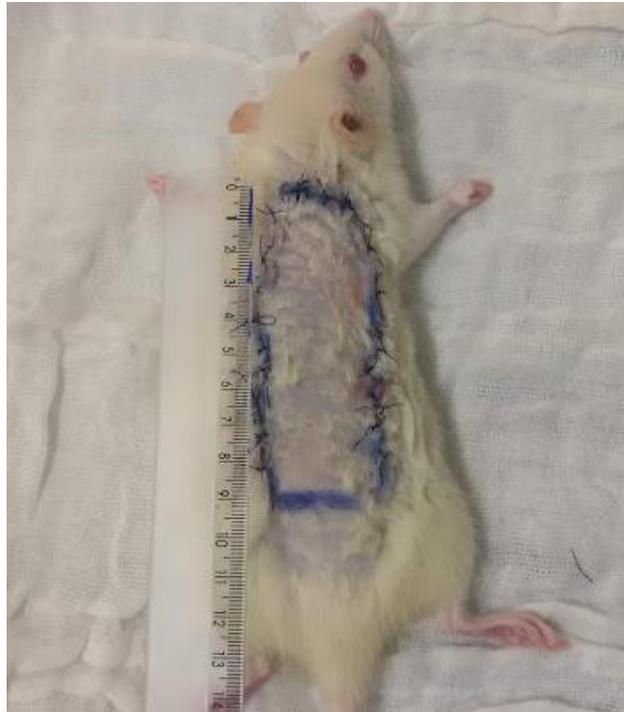
Fonte: A autora.

Figura 15 - Suturado com fio de nylon 3-0



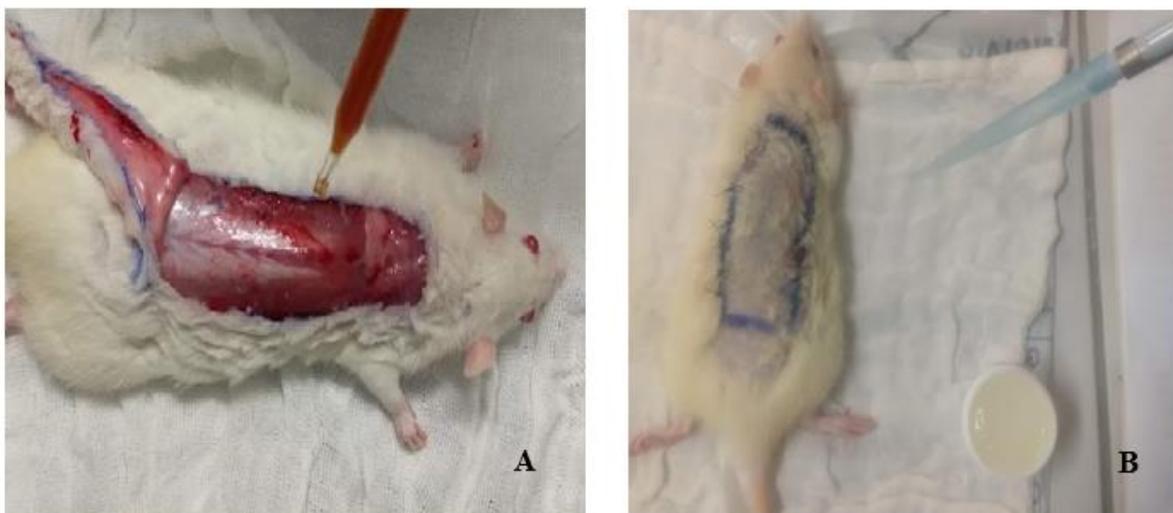
Fonte: A autora.

Figura 16 - Sutura e comprimento do retalho



Fonte: A autora.

Figura 17 - As intervenções realizadas nos grupos. A) Aplicação do extrato entre o leito e o retalho. B)



Aplicação do hidrogel sobre o retalho.

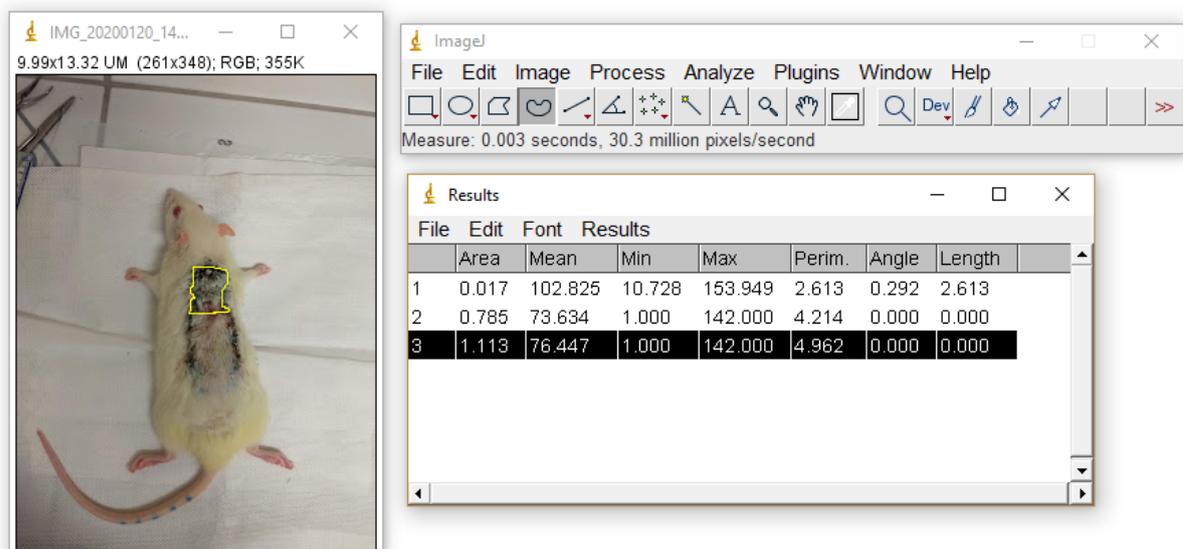
Fonte: A autora

3.4.6 Avaliação Clínica e Morfométrica das Áreas de Necrose nos Retalhos

No sétimo dia pós-operatório os retalhos foram avaliados clinicamente para delimitar a área de necrose em porção distal. Os animais foram anestesiados novamente pela mesma técnica descrita anteriormente, os retalhos foram avaliados macroscopicamente para delimitar a área de necrose da porção distal. A diferença entre tecido viável e tecido necrótico foi feita através da observação macroscópica sendo que o tecido viável possuía cor rósea, textura macia e crescimento de pelos diferindo-se do tecido necrótico que apresentava pele escurecida, rígida, fria e sem pelos. Os animais foram eutanasiados com hiperdosagem anestésica após a avaliação clínica.

Foram realizadas fotografias com câmera digital Nikon Collpix 16MP a uma distância de 40cm e com uma régua padrão localizada ao lado do animal para configuração de padrão de medidas nos programas de computador as fotos foram analisadas e as áreas foram mensuradas. As imagens foram analisadas em programa de computador *Adobe Photoshop®*, para delimitação digital da área previamente demarcada e, após essa etapa, a área necrótica e sua porcentagem em relação à área total do retalho eram calculadas no programa *ImageJ*.

Figura 18 - Cálculo da área de necrose no software *ImageJ*.



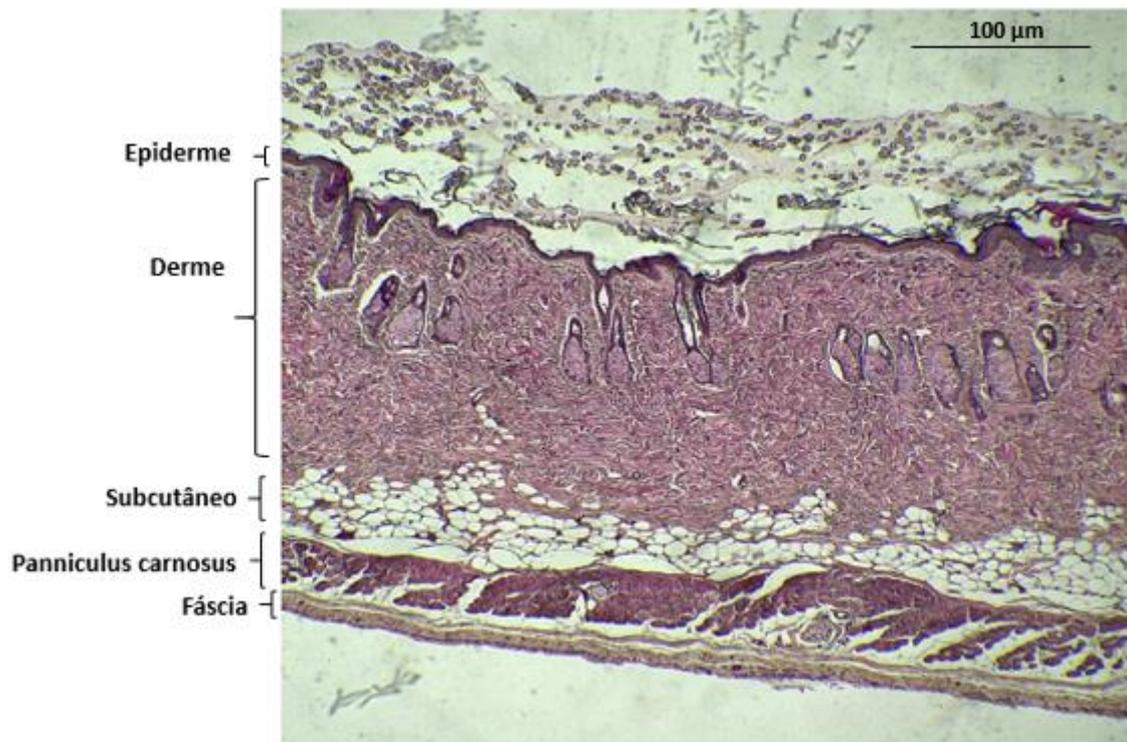
Fonte: a autora

3.4.7 Análise Histomorfométrica das Amostras

Após a eutanásia dos animais, ocorreu ressecção de segmento de 1cm² da região de transição entre a área viável e de necrose para realização de análise histomorfométrica. Foram retirados uma amostra de cada animal e armazenadas em solução tamponada de formaldeído a 10% para fixação. Na sequência passaram pelo método convencional de preparação de lâminas histológicas e após o processo de desidratação e diafanização, as peças foram incluídas em parafina e cortadas com espessura padronizada de 5µm, por meio de um micrótomo rotativo, Spencer – 820 do Departamento de Histologia e Embriologia- DHE / CCB – UFPE. Os cortes histológicos transversais da pele fina dos animais foram montados em lâminas histológicas e corados com hematoxilina e eosina (HE). As secções histológicas foram microfotografadas e analisadas através do *software Motic Images Plus 2.0*. Neste software foram realizadas cinco fotografias das amostras de cada animal, em uma ampliação de 40x.

Todas as fotografias foram realizadas na porção imediatamente inferior ao *panniculus carnosus* (Figura 19), já que o extrato e hidrogel foram aplicados nesta região, portanto é viável que o local seja o mais apropriado para ser avaliado. A área de transição entre o tecido saudável e necrótico eram identificada e as fotomicrografias eram realizadas imediatamente antes do tecido necrótico. Em cada fotomicrografia foram contados os fibroblastos e vasos sanguíneos em cinco campos distintos para cada animal.

Figura 19 - Camadas histológicas da pele do rato onde observa-se o *panniculus carnosus* que foi incluído nos retalhos.



Fonte: A autora

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados descritivamente através medidas: média, desvio padrão (média \pm DP), mediana e percentis 25 e 75. Para avaliar diferença entre os grupos foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e no caso de diferença significativa foi utilizado testes de comparações do referido teste. A escolha do teste de Kruskal-Wallis foi devido ao tamanho da amostra em cada grupo, número reduzido para a verificação da normalidade dos dados por grupo. O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5%. Os dados foram digitados na planilha EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o IMB SPSS na versão 25.

4 RESULTADOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

4.1.1 Obtenção do Extrato Aquoso

Apresentação do extrato em pó da *R. mangle* obtido no DHE – UFPE (Figura 20).

Figura 20 - Extrato aquoso de *R. mangle*.



Fonte: a autora

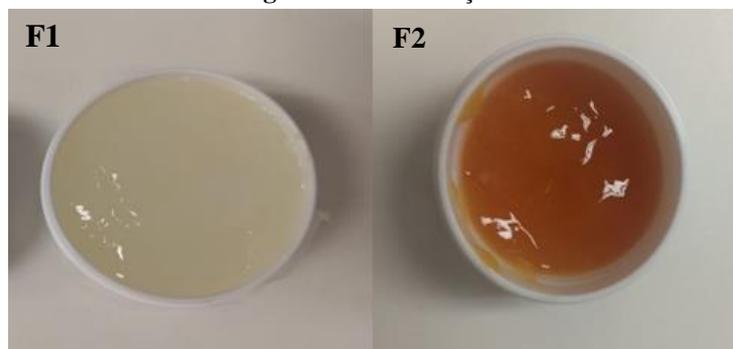
Os estudos fitoquímicos deste extrato encontra-se descritos no trabalho de OLIVEIRA (2018) e seus estudos *in vitro* foram reproduzido e analisados por SANTANA (2019).

4.2 OBTENÇÃO DO HIDROGEL

4.2.1 Hidrogéis

Os hidrogéis obtidos no NUDEFAC, apresentados na Figura 21. A formulação (**F1**) desenvolvidas com GX 1,5% + placebo e a formulação (**F2**) com incorporação da GX ativos da *R. mangle*.

Figura 21 - Formulações obtidas



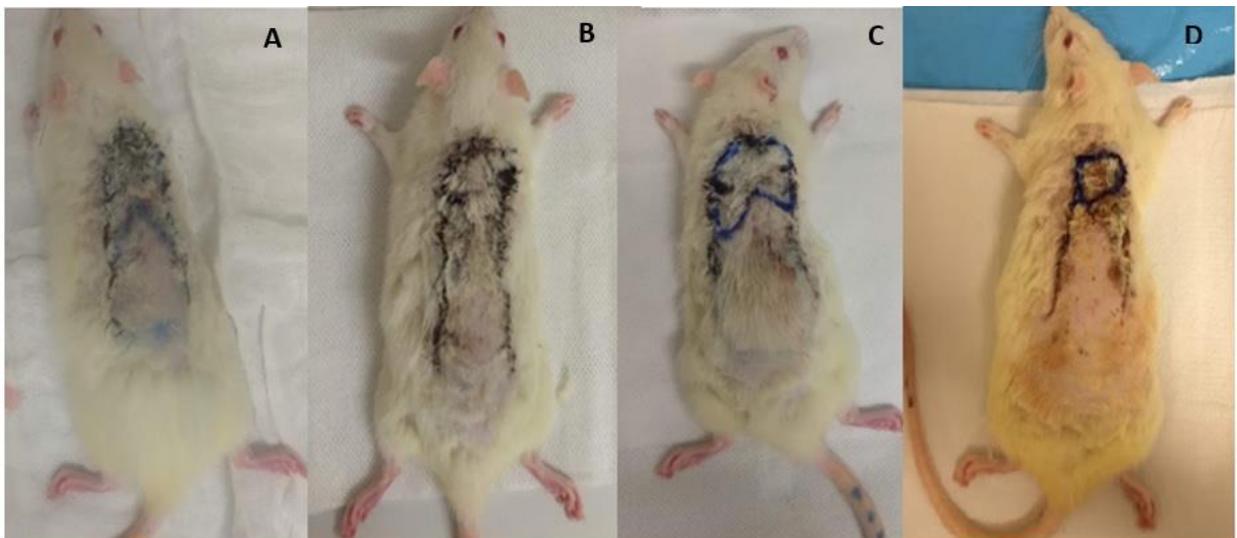
Legenda: Formulações desenvolvidas com GX a 1,5 % + placebo; (F1) e incorporados a 5% do extrato de *R. mangle* (F2). (Fonte: A autora).

4.3 MATERIAL BIOLÓGICO

4.3.1 Avaliação Clínica e Morfométrica da Área de Necrose nos Retalhos

Durante os experimentos não foram observadas eventos adversos relacionados ao retalho ou celulite pericatricial, além disso nenhum animal chegou a óbito. Sendo assim o experimento ocorreu normalmente e todos os animais apresentaram área necrosada, porém com algumas diferenças entre o tamanho das áreas como demonstrado na figura 22.

Figura 22 - Avaliação da Necrose (exemplar de cada grupo)



Legenda: Análise das áreas de necrose de cada animal. (A) Soro fisiológico; (B) Extrato aquoso de *R. mangle*; (C) Hidrogel de GX + placebo e (D) Hidrogel + extrato de *R. mangle*. (Fonte: a autora).

No decorrer do tratamento os animais demonstraram comportamentos agressivos e sensíveis ao toque, porém conseguiam se alimentar, caminhar e agirem normalmente durante as observações. Após 24 horas os retalhos apresentavam uma coloração arroxeadada em sua porção distal, entretanto sem nenhuma marcação evidente de área viável e não viável. Após três dias de tratamento, os retalhos mostravam uma delimitação mais evidente da intensidade da necrose. Após o período de 7 dias pós operatório foi possível observar e analisar as áreas de necrose nos retalhos cutâneos dorsais em cada grupo de animais.

O retalho apresentou evolução para necrose de sua ponta, iniciando com edema e isquemia de sua porção distal (Figura 22). A análise morfométrica evidenciou as diferentes áreas de necrose entre os animais, também foi possível diferenciar o tecido necrótico do tecido saudável de forma perceptível ao toque. Depois da análise foi realizado uma demarcação da

área necrosa, e após a eutanásia foram coletados as amostras de tecido para os exames histológicos.

Os dados estatísticos da área necrosada dos grupos de animais experimentais estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Estatísticas da área necrosada (cm²)

Grupo	Média ± DP	Mediana (P25; P75)
A (controle)	14,89 ± 1,16 ^(A)	15,00 (13,90; 15,82)
B (Extrato <i>R. mangle</i>)	11,55 ± 0,98 ^(B)	11,23 (10,75; 12,50)
C (Hidrogel GX + placebo)	10,54 ± 0,18 ^(C)	10,55 (10,37; 10,71)
D (Extrato <i>R. mangle</i> + Hidrogel)	10,24 ± 0,20 ^(D)	10,20 (10,11; 10,40)
Valor p	p⁽¹⁾ = 0,001*	

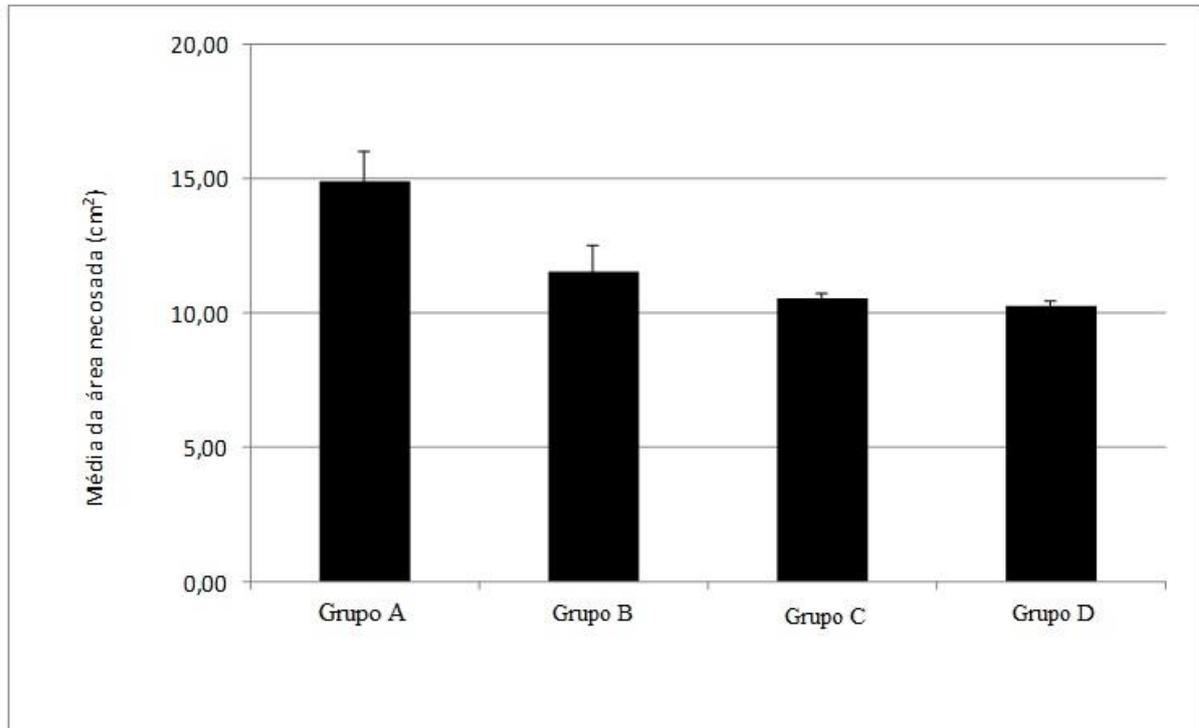
(1): Através do teste de Kruskal-Wallis com comparações do referido teste

Legenda: Entre os resultados contidos na tabela 4 destaca-se que a média e mediana da área necrosada em cm², os valores demonstrados foram maiores no grupo A (média de 14,89 cm² e mediana de 15,00 cm²), seguido das áreas dos grupos B (média e mediana iguais 11,55 e 11,23 cm²), grupo C (média e mediana iguais a 10,54 e 10,55 cm² respectivamente) e grupo D (média e mediana iguais a 10,24 e 10,20 cm²).

Esses dados explicam que a média obtida entre as áreas apresentou maior tamanho no grupo A que não recebeu o tratamento com hidrogel + *R. mangle*, em comparação aos outros grupos experimentais (B, C e D). Como também, houve diferenças significativas entre as médias das áreas necrosadas em todos grupos como explica o gráfico 1.

O gráfico 1 apresenta as comparações entre as áreas de necroses de cada grupo.

Gráfico 1 - Média da área necrosada



Legenda: Através do gráfico 1 é possível observar a diferença de área necrosada entre o grupos estudados grupo A (controle), B (extrato de aquoso de *R.mangle*), C (Hidrogel GX + placebo), D (Hidrogel GX + *R. mangle*).

A tabela 5 apresenta o percentual que a área necrosada representava na a área do retângulo de 27 cm² (tamanho padronizada media 9 cm de comprimento x 3 cm de largura).

Tabela 5 - Estatísticas do percentual da área necrosada.

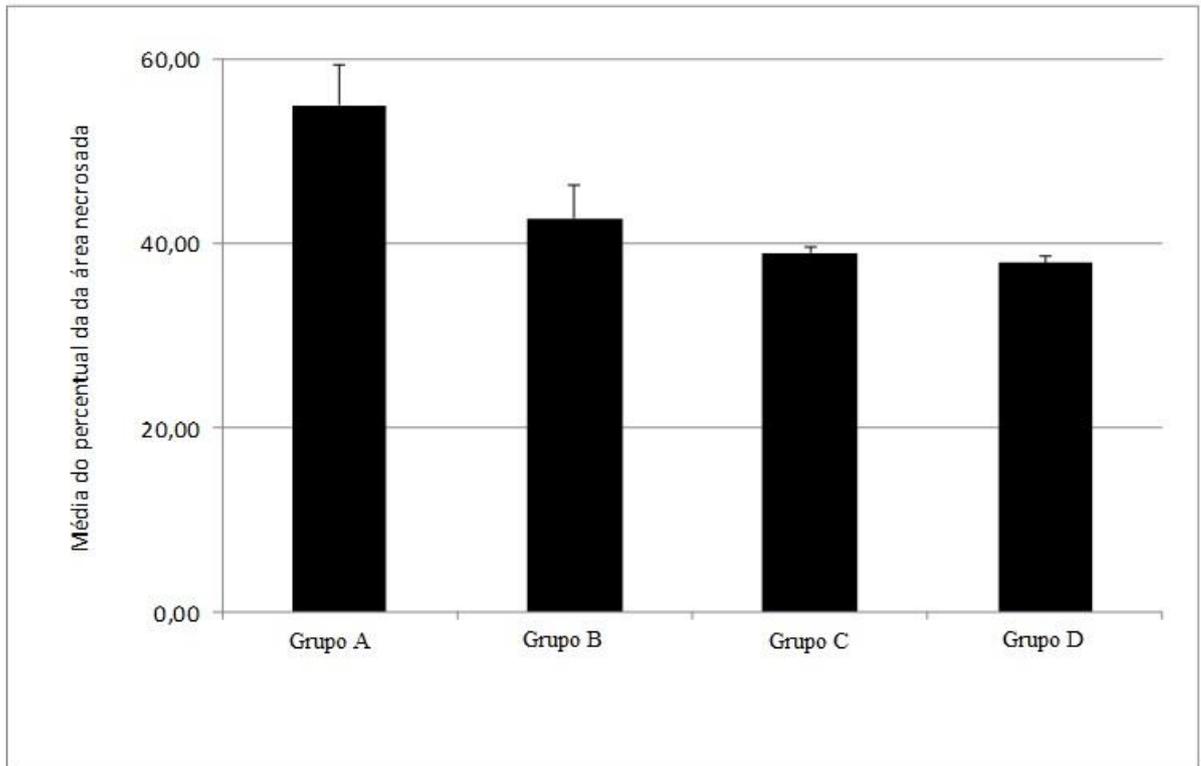
Grupo	Média ± DP	Mediana (P25; P75)
A) Controle	55,13 ± 4,30 ^(A)	55,56 (51,48; 58,57)
B) Extrato <i>R.mangle</i>	42,76 ± 3,62 ^(B)	41,59 (39,81; 46,30)
C) Hidrogel GX + Placebo	39,04 ± 0,65 ^(C)	39,07 (38,41; 39,65)
D) Extrato <i>R.mangle</i> + Hidrogel	37,93 ± 0,74 ^(D)	37,78 (37,43; 38,50)
Valor p	p ⁽¹⁾ = 0,001*	

(1): Através do teste de Kruskal-Wallis com comparações do referido test

Legenda: Os dados obtidos nesta tabela evidencia as médias da área de necrose entre os grupos, obtendo diferenças significativas demonstrado (*).

Na Tabela 5 se enfatiza que: a média e mediana do percentual correspondente a área necrosada foram mais elevadas no grupo A seguido dos grupos B, C e D (as médias foram respectivamente 55,13%, 42,76%, 39,04% e 37,93% e as medianas 55,56%, 41,59%, 39,07% e 37,78%. O gráfico 2 a apresenta a média do percentual dos grupos estudados neste estudo.

Gráfico 2 - Média da área necrosada.



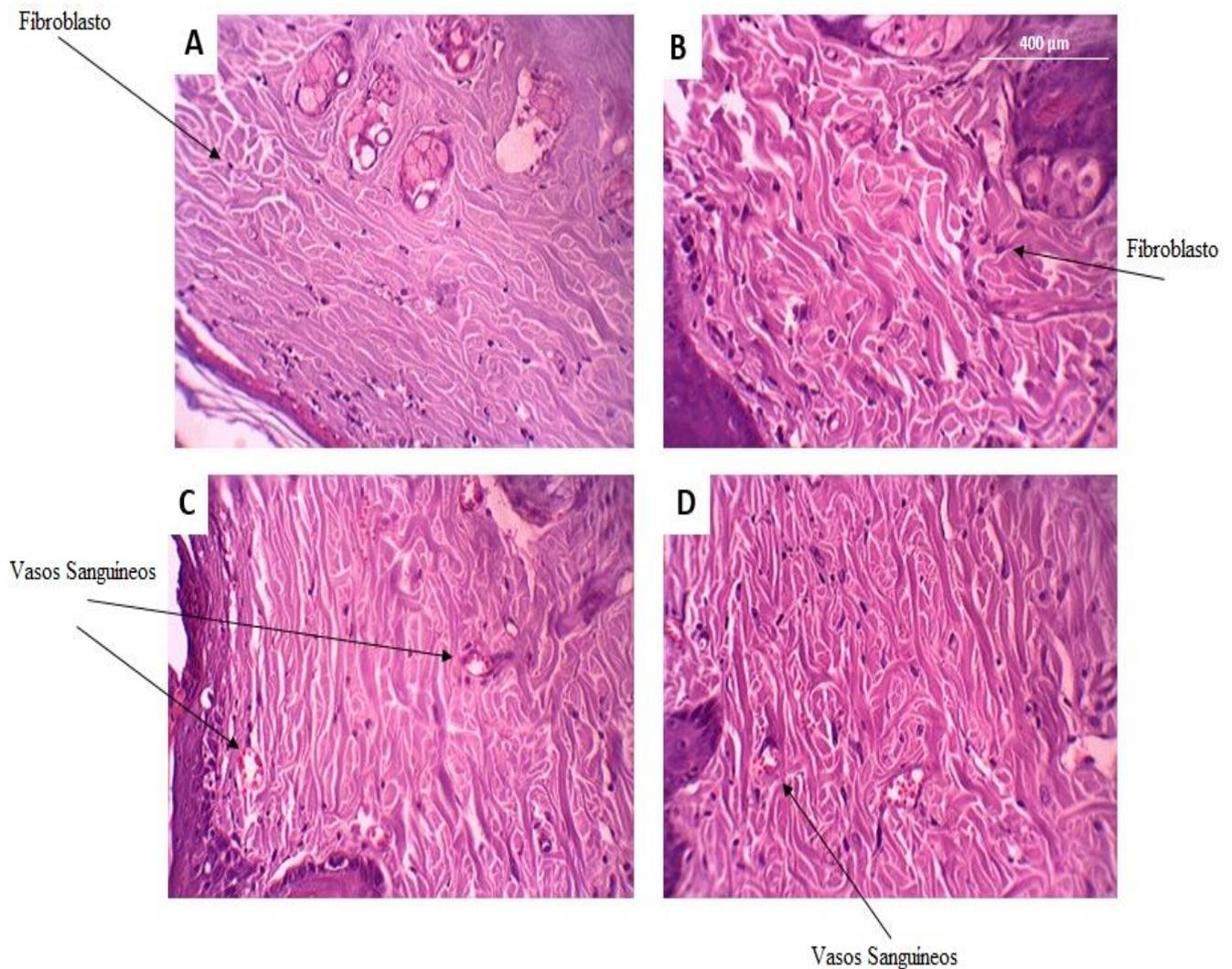
Legenda: O gráfico 2 demonstra que nos grupos B, C e D onde foram administradas substâncias houve um aumento da área de viabilidade do retalho diferentemente quando comparados ao grupo A (controle).

A análise estatística e o teste de comparação múltiplas indicaram diferença significativa com relação as áreas de necrose entre todos os grupos estudados. A variabilidade foi reduzida desde que os valores dos desvios padrão foram todos inferiores a 1/3 das médias correspondentes.

4.3.2 Análise Histomorfométrica das Amostras

Foram quantificados dois elementos: os fibroblastos e os vasos sanguíneos. Realizando a média entre a contagem das cinco lâminas de cada animal no aumento de 40x.

Figura 23 - Análise histológica dos grupos experimentais em HE.



Legenda: A figura apresenta os secções histológicas transversais com ampliações de 40x da pele nos respectivos grupos experimentais. As setas indicam os elementos que foram quantificados através das imagens histológicas, demonstrando os fibroblastos em A e B e os vasos sanguíneos demonstrados nos grupos C e D que foram tratados com os hidrogéis.

4.3.2.1 Fibroblastos

Os resultados estatísticos da contagem de fibroblastos apresenta-se na tabela 6 de acordo com os grupos de animais experimentais deste estudo.

Tabela 6 - Estatísticas da quantidade de fibroblastos segundo o grupo

Grupo	Média ± DP	Mediana (P25; P75)
A (controle)	3.093,00 ± 714,93	3.042,00 (2.406,00; 3.805,50)
B (extrato <i>R. mangle</i>)	2.820,20 ± 757,43	2.767,00 (2.132,50; 3.534,50)
C (hidrogel GX+ Placebo)	3.264,80 ± 449,88	3.232,00 (2.873,50; 3.672,50)
D (extrato <i>R. mangle</i> + hidrogel)	2.871,80 ± 695,14	2.818,00 (2.260,50; 3.510,00)
Valor p	p⁽¹⁾ = 0,687	

(1): Através do teste de Kruskal-Wallis.

Legenda: Na tabela 6 verifica-se que médias e medianas da quantidade de fibroblastos demonstrou que os grupos A e C apresentou o valores elevados em comparação aos grupos administrados com o extrato de *R.mangle* B e D, como também, não houve diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$).

Entretanto, o grupo A apresentou o maior número de fibroblastos com relação aos outros grupos, com respectivas medias e mediana Grupo A (média 3.093,00 mediana 3.042,00), grupo B (média 2.820,20 mediana 2.767,00), grupo C (média 3.264,80 mediana 3.232,00), grupo D (média 2.871,80 mediana 2.818,00). A variabilidade expressa pelo desvio padrão se mostra reduzido desde que a referida medida foi inferior a 1/3 das médias correspondentes.

4.3.2.2 Vasos sanguíneos

Os resultados estatísticos da contagem de vasos sanguíneos apresenta-se na tabela 7 de acordo com os grupos de animais experimentais deste estudo.

Tabela 7 - Estatísticas da quantidade de vasos sanguíneos

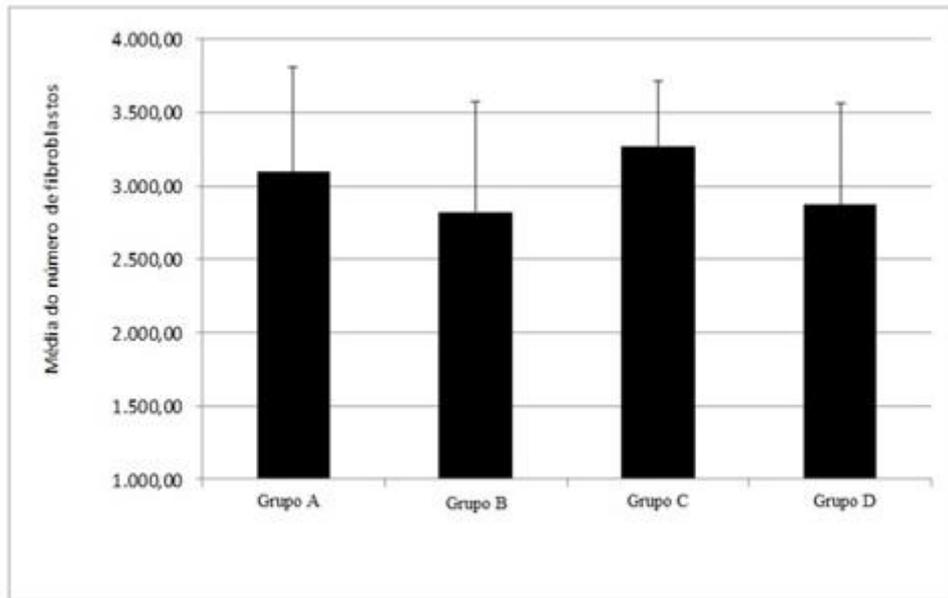
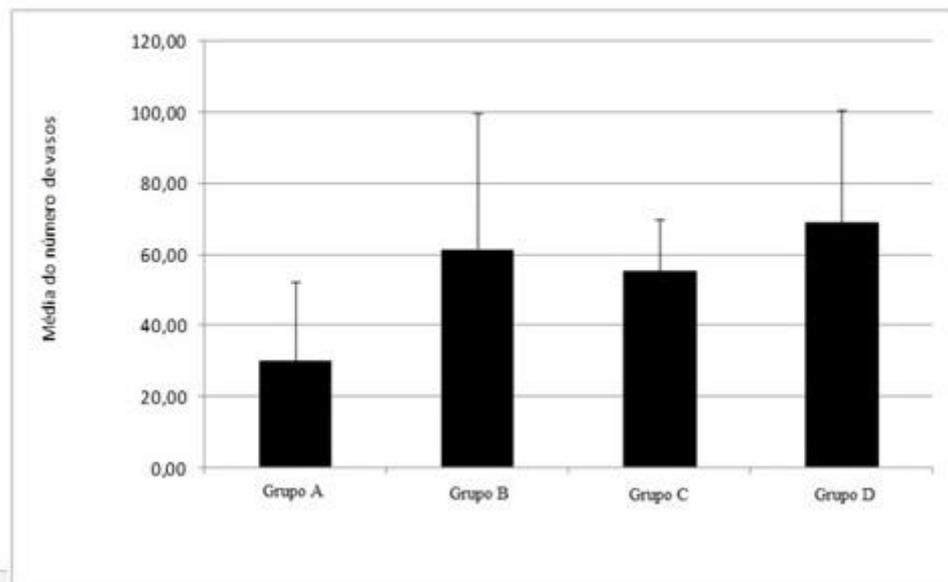
Grupo	Média ± DP	Mediana (P25; P75)
A (controle)	30,00 ± 22,11	34,00 (7,00; 51,00)
B (extrato <i>R. mangle</i>)	61,40 ± 38,12	51,00 (38,50; 89,50)
C (hidrogel GX+ Placebo)	55,20 ± 14,62	50,00 (42,50; 70,50)
D (extrado <i>R. mangle</i> + Hidrogel)	69,00 ± 31,41	68,00 (42,50; 96,00)
Valor p	p⁽¹⁾ = 0,282	

(1): Através do teste de Kruskal-Wallis.

Legenda: Na tabela 7 observa-se que a média e mediana da quantidade de vasos apresentados, sem diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Os resultados foram correspondentemente menos elevadas nos respectivos grupos: A (média de 30,00 e mediana igual a 34,00), seguida do grupo B (média de 55,20 e mediana igual a 50,00 vasos). Entretanto apresentaram número maiores no Grupo D (média de 69,00 e mediana 68,00), ainda assim sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos.

A variabilidade foi reduzida no grupo C desde que o valor do desvio padrão foi inferior a 1/3 da média correspondente e também não demonstrou número elevado no grupo D que apesar da média maior que os outros grupos o valor do desvio padrão foi inferior a metade da média correspondente e foi razoavelmente elevada nos outros dois grupos (desvios padrão superiores às médias correspondentes).

Gráfico 3 – Média da quantidade de fibroblastos segundo o grupo**Gráfico 4** – Média da quantidade de vasos sanguíneos por grupo.

Legenda: Os dados obtidos no gráfico 3 demonstraram que na contagem dos fibroblastos os grupos que tiveram o tratamento com o extrato de *R. mangle* (B e D) apresentaram praticamente valores próximos e consideráveis entre eles, porém, menor com relação aos outros grupos (C e A) que obteve o maior número de fibroblastos. O gráfico 4 demonstra a média da quantidade de vasos sanguíneos obtidos, é possível observar um aumento no número de vasos nos grupos B e D, que receberam o tratamento com *R. mangle*, demonstrando o aumento da neovascularização foi proporcionada pelas substâncias sobre as áreas dos retalhos. Entretanto através dos dados estatísticos analisados os valores demonstrados nos gráficos não foram significativos.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, foi utilizado o modelo de retalho cutâneo dorsal de base cranial, com dimensões de 9x3 cm, desenvolvido por Macfarlane, como modelo experimental para se estudar a necrose e a prevenção da mesma. Embora, sabemos que a pele de porco se assemelha a pele humana, o modelo adotado em ratos Wistar, o método de Macfarlane, é bastante utilizado em diversos estudos científicos (DE LIMA SILVA et al, 2009; GUIMARÃES et al., 2013; SOWA et al., 2012; FOURMAN et al., 2015; SEYED et al., 2017) que buscam viabilizar a necrose em retalhos cutâneos, analisar os fatores que interferem no suprimento vascular e propor substâncias que possam aumentar sua viabilidade. Além disso, a utilização dos ratos Wistar permitiu uma facilidade no manuseio, obtenção e baixo custo, bem como esse modelo experimental ser aceito internacionalmente.

No decorrer do estudo experimental nenhum animal sofreu óbito e não foram observados processos de irritação local, secreções ou outras complicações em relação aos RCI. Os hidrogéis de polímeros naturais utilizados apresentaram biocompatibilidade e foram testados previamente para evitar qualquer complicação ou irritação aos grupos de estudo, buscando minimizar quaisquer riscos ou procedimentos indesejados que poderiam retardar ou prejudicar a pesquisa realizada.

O retalho cutâneo efetuado foi do tipo randômico, por ser o mais utilizado na medicina veterinária para cães e gatos, segundo FOSSUM et al., (2002). O período de observação dos retalhos cutâneos foi fixado em sete dias pós-operatório, como relatado em estudos anteriores. A essa altura, a área de necrose já estava definida, o processo de angiogênese já havia se instalado e havia neovascularização do leito e da região perimetral do retalho cutâneo como também relatado por GUIMARAES et al., (2013) *Apud* ESTEVÃO et al., (2013).

Os animais foram observados, diariamente durante o tratamento avaliando-se o comportamento, peso e aspecto do retalho. Considerou-se como aspecto macroscópico de tecido viável aquele com coloração e textura normais ou com poucas alterações na camada superficial da pele, e necrose, quando a pele apresentava textura endurecida, coloração escura e crosta (PACE et al., 2006). De acordo com Pedretti (2017) os segmentos intermediários do retalho são aqueles chamados de “zona de transição”, pois estão entre a porção proximal, onde a sobrevivência dos retalhos é esperada, devido à proximidade do aporte vascular, e a porção distal, onde a necrose pode ocorrer, devido à maior distância do suprimento sanguíneo. Sendo assim

as áreas submetidas a isquemia e reperfusão são aquelas em que a intervenção farmacológica pode alterar a evolução do retalho.

Os resultados encontrados neste estudo demonstraram valores significativos entre as áreas médias de necrose em todos os grupos de animais experimentais. Os grupos C e D tratados com hidrogel + placebo e hidrogel + extrato de *R. mangle* apresentaram uma menor área de necrose em RCI com relação aos outros grupos A e B que também foram estudados nos experimentos. Esses dados podem ser justificados devido à presença dos hidrogéis que intensificam o processo de neovascularização e proporcionam uma maior quantidade de água e liberação controlada dos componentes biologicamente ativos e presentes no extrato de *R. mangle*, o polissacarídeo GX presente no hidrogel natural testado e aplicado neste experimento possui estudos na literatura que evidencia sua utilização na composição dos hidrogéis de liberação controlada. (KULKARNI & SA., 2009; SHALVIRI et al., 2010; SILVA 2014).

O uso de hidrogéis naturais com a finalidade terapêutica no tratamento de necrose em retalho cutâneo está sendo testado em estudos recentes. (HIHARA et al., 2020; WEY et al., 2013). Os hidrogéis reduzem significativamente a dor, atribuindo sensação refrescante, favorável a sua elevada umidade que evita a desidratação das terminações nervosas. Esse ambiente ajuda na autólise, ou seja amolece e hidrata tecidos desvitalizados, possibilitando sua remoção. Os efeitos benéficos do meio úmido incluem: prevenção de desidratação do tecido e morte celular, angiogênese acelerada, desbridamento autolítico, pois eles retêm as enzimas e água que ajudam na fibrinólise, e redução da dor, atribuída a proteção que o meio úmido fornece as terminações nervosas do ressecamento e exposição (BLANES, 2004).

Segundo MAO et al., (2019) o sistema de entrega de hidrogel deve corresponder à renovação do progresso da regeneração do retalho cutâneo e promover a sobrevivência do mesmo. Desta forma, podemos enfatizar que a realização de uma aplicação diária e contínua no tratamento da necrose administrados pelos hidrogéis durante o período de sete dias pós operatório pode gerar benefícios.

Outros trabalhos também relataram tratamento diário na necrose, porém durante 10 dias pós operatório (GUIMARAES et al., 2013), pois a reparação do tecido lesado é um processo dinâmico e complexo. No estágio inicial da recuperação do RCI o tecido sofre danos e conseqüentemente homeostase e apoptose celular, que podem ser causados por isquemia, hipóxia, inflamação. Então, no período de proliferação, as células proliferam rapidamente e

neste caso é necessário um cuidado mais intenso e adequado durante o tratamento de prevenção de necrose.

Além disso a área da necrose nos grupo B e D, não justificam as áreas entre os grupos tratados com *R. mangle*, pois a menor área de necrose ocorreu com os grupos C e D que utilizaram o hidrogel + extrato da *R. mangle* e hidrogel + placebo. Evidenciando que a utilização isolada do extrato aquoso da *R. mangle* (grupo B) não resultaram em diminuição significativa da área de necrose em relação ao grupo C e D. Sendo possível concluir que, a associação entre os dois componentes hidrogel + extrato e o hidrogel + placebo aplicados durante os 7 dias pós-operatório foram mais eficientes que o extrato aplicado em uma única vez sobre o retalho. E que o hidrogel pode ter mantido os benefícios dos princípios ativos dos compostos fenólicos presentes no extrato da planta, mantendo os benefícios anti-inflamatórios e antioxidante por um período de tempo maior.

Entretanto com relação aos resultados obtidos do grupo C, hidrogel + placebo, neste estudo que também foi considerado significativo na diminuição da área de necrose em RCI, devido à presença da GX na composição do hidrogel. A GX é usada como agente espessante, estabilizador de emulsão e intensificador de textura. Além de consolidar muitos sistemas à base de água possui uma ampla gama de aplicações desde da indústria alimentícia até a farmacêutica. Segundo SINGHVI et al., (2019) A GX é utilizada especialmente em sistemas avançados de administração de drogas, administração de drogas nasais, administração de drogas no cérebro, cicatrização de feridas, formas de dosagem orais sólidas e líquidas e outros, sendo também investigado para engenharia de tecidos e cosméticos.

Em cosméticos estudos revelam que as propriedades físico-químicas de uma formulação podem ser melhores com o uso de GX. (SAHARUDIN et al., 2016). A GX também foi estudada para o tratamento de apoptose celular em coelhos diminuindo a taxa de apoptose precoce e mantendo a morfologia dos condrócitos de coelho induzidos por nitroprussiato de sódio *in vitro*. (CHEN et al., 2015). Sendo assim podemos dizer que o hidrogel + placebo também apresentou efeitos benéficos ao tratamento de necrose em RCI.

Os dados encontrados neste trabalho corroboram com o estudo de OLIVEIRA (2018) que também utilizou o extrato aquoso de *R. mangle* a 5% para viabilizar a necrose em RCI. E especificou que a presença de compostos fenólicos no extrato da *R. mangle* pode justificar a maior viabilidade dos retalhos obtidos no grupo tratados com biofilme de *R. mangle* + biopolímeros de betaglucana. Porém, estudos com compostos secundários presentes na planta

sugerem efeito benéfico similar ao obtido neste estudo. EMSEM et al., (2005), em estudo prévio, utilizaram o extrato da *Hippophae rhamnoides L.* que também é rico em compostos fenólicos, principalmente os flavonóides, houve redução da área de necrose em RCI em ratos.

Os benefícios da utilização de *R. mangle* é evidenciado em estudos anteriores, como na avaliação pré-clínica *in vitro* de SANTANA (2019), promovidos pelo hidrogel de *R. mangle* 5% associado ao Ácido Ascórbico 10% proporcionaram uma compreensão inicial da resposta imunológica e do potencial efeito cicatrizante *in vitro*. Efeitos também avaliados por ARAÚJO (2017) que usou no desenvolvimento de creme cicatrizante o extrato aquoso das folhas de *R. mangle* com a concentração de 5%, apresentando resultados favoráveis para reparação tecidual em testes *in vitro* e *in vivo*.

A análises histomorfométrica das amostras estudadas não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) com relação à contagem médias dos fibroblastos em cada grupo experimental. Apesar dos fibroblastos apresentarem em maior quantidade nos grupos A e C que corresponde ao controle e o hidrogel + placebo. Os resultados aqui observados não demonstrou alterações a manutenção dos tecido conjuntivos pela síntese de componentes da matriz extracelular pois os valores de fibroblastos apresentados em cada grupo foram similares. Os fibroblastos exercem profundos efeitos na proliferação e diferenciação dos queratinócitos (essenciais na revitalização) e também na deposição de proteínas (PAGNANO et al., 2008).

A quantidade de fibroblastos apresentados entre os grupos não tratados pode evidenciar ao momento de transição entre as fase inflamatória e proliferativa de cicatrização do RCI, diferindo dos demais grupos tratados, isso ocorre devido o tempo de tratamento desses animais que aconteceu durante os setes dias pós operatório. Sendo assim, os grupo tratados com *R. mangle* prevalecia na fase inflamatória, enquanto os grupos não tratados majoritariamente encontrava-se em fase proliferativa. O mesmo ocorreu com CAPELLA et al (2016) que avaliou o potencial cicatrizante do extrato oleoso Urucum (*Bixa orellana L*) e apresentou entre os seus grupos tratados durante sete dias a prevalecia na fase inflamatória, enquanto o grupo com soro fisiológico e vaselina encontrava-se na fase proliferativa, porém no 14° dia, todos os grupos de tratamento encontravam-se nas fases proliferativa ou de maturação. Sendo possível exemplificar que houve a permanência de intenso infiltrado inflamatório no 7° dia indicando uma ação pro-inflamatória e quimiotática do extrato, garantindo que as reações ocorram pra ativar ou aumentar aspectos específicos da inflamação.

Todavia com relação a contagem de vasos sanguíneos, foram apresentados uma maior quantidade nos grupos B e D que receberam o tratamento com o e extrato aquoso em *R. mangle*. Porém, não foram estatisticamente significativos ($p > 0,05$) devido os valores de DP que foi inferior a metade da média correspondente, sendo razoavelmente elevada nos grupos A e B que apresentou os DP superiores às médias correspondentes.

Esses dados provavelmente se refere, não apenas, ao potencial cicatrizante e antioxidante do extrato que encontra-se evidenciado na literatura (SÜNTAR et al., 2012; OLIVEIRA, 2018; ARAUJO 2019) mais também, com a associação do extrato da *R. mangle* com o hidrogel de GX. Estimulando assim a formação de uma neovascularização através da angiogênese, que devido a hipóxia do retalho inicia uma cascata de mecanismo moleculares e celulares que resultarão no crescimento de pequenos vasos. De acordo com SÜNTAR et al (2012) o processo de angiogênese é impulsionado pelo estágio inflamatório tardio. Na angiogênese, as células endoteliais migram em direção à área lesada e formam novos vasos sanguíneos e capilares, levando oxigênio e nutrientes para a área da ferida.

Além disso, a utilização de ratas fêmeas em todos os grupo de animais experimentais, o que pode ter ocasionado uma influência hormonal (Ciclo astral) durante a cicatrização dos RCI. Estudos em modelos animais, mostraram que o estrógeno é uma espécie de mediador crítico na cicatrização de feridas (BIONDO-SIMÕES et al 2005). O metabolismo das células epiteliais da pele, é influenciado pelo hipoestrogenismo, alterando o colágeno e a concentração de glicoaminoglicans, neste último ocorre a diminuição da concentração de água.

Nos estudos de NICOLAU et al., (2014) que avaliou os efeito do estradiol e progesterona tópicos na cicatrização de feridas e concluiu que o estradiol associado à progesterona inibiu a formação do colágeno tipo III e a progesterona isolada apenas contribuiu no processo de reepitelização das feridas. Sendo assim, estradiol e progesterona influenciam a cicatrização de feridas, angiogênese e remodelamento.

Portanto não foi evidenciado um estímulo de proliferação de fibroblastos com a utilização do hidrogel da GX + *R. mangle*, porém houve um aumento na produção de vasos sanguíneos, que pode ser destacado devido a presença da GX que é um polissacarídeo e proporcionou um teor de água como também intensificou o acúmulo de substâncias a partir dos compostos fenólicos presente no extrato de *R. mangle*, sugerindo um processo de melhoria da área de necrose em RCI devido a neovascularização. Desta maneira a utilização desses dois componentes influenciou na liberação lenta dos compostos fenólicos presentes na *R. mangle*.

Resultando em uma menor área de necrose e menos efeitos adversos demonstrando eficiência no tratamento dos RCI em ratos.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Espera-se que o desenvolvimento deste trabalho contribua com estudos e pesquisas relacionadas a viabilidade da necrose em RCI, principalmente na investigação do processo de neovascularização desses retalhos com a utilização de extratos ou substâncias naturais, ampliando o campo de estudos experimentais, para verificar a influência de outras substâncias no processo de reparação em RCI. Como também favorecer no desenvolvimento de novos medicamentos de uso tópico com biocompatibilidade, degradabilidade e baixo custo para fins terapêuticos.

7 CONCLUSÃO

- Os hidrogéis aplicados nesta pesquisa apresentou biocompatibilidade por não ocasionar nenhum efeito adverso aos RCI tratados na pesquisa.
- No estudo morfométrico as áreas médias de necrose entre os grupos de animais demonstrou resultados estatísticos significativos.
- No estudo histomorfométrico não foi observado diferença significativa na análise dos fibroblastos e vasos sanguíneos entre os grupos estudados.
- A aplicação de hidrogel associado ao extrato de *R. mangle* a 5% apresentou resultado positivo e diminuição da área de necrose sendo eficaz em aumentar a viabilidade de RCI em ratos.
- Além disso, os dados sugerem que a utilização do hidrogel pode desempenha um papel importante na prevenção de necrose em RCI através da liberação controlada de substâncias.

REFERÊNCIAS

- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. **Journal of advanced research**, v. 6, n. 2, p. 105-121, 2015.
- AKAMATSU J, UEDA K, TAJIMA S, NOZAWA M. Sulfatide elongates dorsal skin flap survival in rats. **Journal of Surgical Research**, v. 92, n. 1, p. 36-39, 2000.
- ALHAIQUE, F., CASADEI, M. A., CENCETTI, C., COVIELLO, T., DI MEO, C., MATRICARDI, P., MONTANARI, E., SETTIMIO, P., PAOLICELLI, P. From macro to nano polysaccharide hydrogels: An opportunity for the delivery of drugs. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, , v. 32, p. 88-99, 2016.
- ÁLVARES, L. O. T., DOS SANTOS MARTINS, E., DE OLIVEIRA LEITE, G. M., DÓREA, M. A., BARROS, E. M. N., DE ANDRADE, M. C., & DE OLIVEIRA, M. S. (2018). Efeitos da babosa (Aloe vera) na cicatrização de retalhos cutâneos em ratas ooforectomizadas. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 10, n. 3, p. 230-237, 2018.
- ALONGI, D.M. The energetic of mangrove forests. **Townsville, Austrália, Springer**, p. 216, 2009.
- ANDRADE-CETTO, A., ESCANDÓN-RIVERA, S. M., TORRES-VALLE, G. M., & QUIJANO, L. Phytochemical composition and chronic hypoglycemic effect of *Rhizophora mangle* cortex on STZ-NA-induced diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 6, p. 744-750, 2017.
- ANDRADE, G. R. P. Argilominerais em solos de manguezais da costa brasileira.2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo, 2010.
- ANDRADE, S. S. C. D. A., & JORGE, M. H. P. D. M. Internações hospitalares por lesões decorrentes de acidente de transporte terrestre no Brasil, 2013: permanência e gastos. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 26, p. 31-38, 2017.
- ALMEIDA, V. L. S.; GOMES, J. V.; BARROS, H. M.; NAVAES, A. Produção de mudas de mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*) e mangue-branco (*Laguncularia racemosa*) na tentativa de conservação do manguezais em comunidades carentes do Litoral Norte do Estado de Pernambuco. 2002. ICBEU CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITARIA. 2002 UFPB Disponível em:
< http://www.prac.ufpb.br/anais/Icbeu_anais/anais/meioambiente/racemosa.pdf >; Acesso em: 04 de Abril de 2020.
- ARAÚJO, E. R. D., OLIVEIRA, D. C., DA CUNHA SOARES, T., LANGASSNER, S. M. Z., TAVARES, J. C. M., & CAVALCANTI, D. G. K. (2015). Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera Colubrina* frente à bactérias gram negativa e gram positiva. **Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)**. v. 5, n. 3, p. 66-71, 2015.
- ARAÚJO, J. G. Desenvolvimento de creme de *Rhizophora mangle* L: avaliação do potencial cicatrizante em feridas cutâneas. 2015. 132 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

- ARMAS, ED, SARRACENT, Y., MARRERO, E., FERNÁNDEZ, O. E BRANFORD-WHITE, C. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract (RMABE) in the treatment of aphthous ulcers: a pilot study. **Current medical research and opinion**. v. 21, n. 11, p. 1711- 1715, 2005.
- BALL, M.C. Ecophysiology of mangroves. **Tree, New York**, v.2, p129-142, 1988
- BALAKRISHNAN, B., & BANERJEE, R. Biopolymer-based hydrogels for cartilage tissue engineering. **Chemical reviews**. v. 111, n. 8, p. 4453-4474, 2011.
- BALDASSO, C.; MARTINS, S.; SANGIOVANNI, P. Espessantes. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
- BANDARANAYAKE, W. M. Bioactivities, bioactive compounds and chemical constituents of mangrove plants. **Wetlands Ecology and Management**, v. 10, n. 6, p. 421-452, 2002.
- BARIS, R., KANKAYA, Y., OZER, K., KOCER, R. G., BEKTAS, C. I., KARATAS, A., ... & ASTARCI, H. M. The effect of microneedling with a roller device on the viability of random skin flaps in rats. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 131, n. 5, p. 1024-1034, 2013.
- BARR, J.G.; FUENTES, J.D.; ENGEL, V.; ZIEMAN, J.C. Physiological responses of red mangroves to the climate in the Florida everglades. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 114, p.1-13, 2009
- BARRAL, S. M., ARAUJO, I. D., VIDIGAL, P. V. T., MAYRINK, C. A. C., ARAUJO, A. D., & COSTA, P. R. D. Effects of sildenafil on the viability of random skin flaps. **Acta cirurgica brasileira**, v. 26, n. 4, p. 314-319, 2011.
- BERENGUER, B., SÁNCHEZ, L. M., QUILEZ, A., LÓPEZ-BARREIRO, M., DE HARO, O., GALVEZ, J., & MARTIN, M. J. Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle* L. against NSAID-induced gastric ulcers. **Journal of ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 194-200, 2006.
- BIN C, DINGSHENG L, LEYI C, BIN L, YUTING L, LIREN W, ZHIJIE L. Beneficial effects of Xuebijing injection on random skin flap survival in rats. **Journal of Surgical Research**, v. 196, n. 2, p. 421-426, 2015.
- BIONDO-SIMÕES, M. D. L. P., ZIMMERMANN, E., DAHER, T. S., BORSATO, K. S., & NORONHA, L. D. Effects of hormonal replacement therapy on colon anastomosis healing in rats. **Acta cirurgica brasileira**, v. 20, n. 3, p. 237-242, 2005.
- BLANES, L. Tratamento de feridas. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo, 2004.
- BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2008.
- BRADBURY, S., IVINS, N., HARDING, K., & TURNER, A. Measuring outcomes with complex patients: an audit of the effect of Actiform Cool on painful wounds. **Wounds UK**, v. 4, n. 3, p. 22-31, 2008.
- BRANDÃO, L. V.; NERY, T. B. R.; MACHADO, B. A. S.; ESPERIDIÃO, M. C. A.; DRUZIAN, J. I. Produção de goma xantana obtida a partir do caldo de cana. **Food Science and Technology**, 28; p. 217- 222, 2008.

- BRANDÃO, L. V., ESPERIDIÃO, M. C., & DRUZIAN, J. Utilização do soro de mandioca como substrato fermentativo para a biosíntese de goma xantana: viscosidade aparente e produção. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 3, p. 175-180, 2010.
- BRUNOZI, A. E., SILVA, A. C., GONÇALVES, L. F., & VERONEZI, R. J. B. Qualidade de vida na lesão medular traumática. **Revista neurociências**, v. 19, n. 1, p. 139-144, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos**. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Mediciniais da Central de Medicamentos. 1º edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- BORELLA, J. C., TEIXEIRA, J. C. L., PUGA, R. L. A., & STEVANATO, M. C. B. Formas farmacêuticas semissólidas a base de Papaína – Avaliação preliminar da estabilidade, contaminação microbiológica e atividade enzimática. **Visão Acadêmica**, v. 19, n. 2, 2018
- CAO B, WANG L, LIN D, CAI L, GAO W. Effects of lidocaine on random skin flap survival in rats. **Dermatologic Surgery**, v. 41, n. 1, p. 53-58, 2015.
- CAI, Y., DENG, X., LIU, T., ZHAO, M., ZHAO, Q., & CHEN, S. Effect of xanthan gum on walnut protein/xanthan gum mixtures, interfacial adsorption, and emulsion properties. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 391-398, 2018.
- CAPELLA, S. O., TILLMANN, M. T., FÉLIX, A. O. C., FONTOURA, E. G., FERNANDES, C. G., FREITAG, R. A. SANTOS, M.A.Z. FÉLIX, S.R & NOBRE, M. O. Potencial cicatricial da Bixa orellana L. em feridas cutâneas: estudo em modelo experimental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 104-112, 2016.
- CARNESOLTAS LÁZARO, D., IZQUIERDO LÓPEZ, Y., FRIAS VÁZQUEZ, AI, DOMÍNGUEZ ODIO, A., GONZÁLEZ, JE, SÁNCHEZ, LM, E GARCÍA DELGADO, N. Genotoxic assessment of aqueous extract of *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo) by spermatozoa head assay. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 15, n. 1, p. 0-0, 2010
- CARTY, M. J., TAGHINIA, A., & UPTON, J. Fascial flap reconstruction of the hand: a single surgeon's 30-year experience. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 125, n. 3, p. 953-962, 2010.
- CARVALHO, Isadora Cota. Hidrogéis híbridos poliméricos de quitosana funcionalizada e gelatina fotoreticulados como matrizes porosas tridimensionais para potencial reparo de tecido epitelial. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais) - Escola de Engenharia. Universidade Federal de Minas Gerais. 2017.
- CHAMPANERIA, M. C., WORKMAN, A. D., & GUPTA, S. C. Sushruta: father of plastic surgery. **Annals of plastic surgery**, v. 73, n. 1, p. 2-7, 2014.
- CHANG, C., CHEN, S., & ZHANG, L. Novel hydrogels prepared via direct dissolution of chitin at low temperature: structure and biocompatibility. **Journal of materials chemistry**, v. 21, n. 11, p. 3865-3871, 2011.
- CHEN, Q., MEI, X., HAN, G., LING, P., GUO, B., GUO, Y... & XU, F. Xanthan gum protects rabbit articular chondrocytes against sodium nitroprusside-induced apoptosis in vitro. **Carbohydrate polymers**, v. 131, p. 363-369, 2015.

- CHRYSOPOULO, M. T., & DESVIGNE, L. Flaps, classification. 2008. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/1284474-overview#a1>. Acessado em 07 de Agosto de 2020.
- COELHO F, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of **Maruda**. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, p.159-175, 2009.
- COIMBRA, P. M. A. Preparação e caracterização de sistemas de libertação controlada de fármacos com base em polímeros de origem natural. 2010. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 2010.
- COLTRO P.S., FERREIRA M.C., BATISTA B.P.S.N., NAKAMOTO H.A., MILCHESKI D.A. & TUMA JUNIOR P. Atuação da cirurgia plástica no tratamento de feridas complexas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 38, n. 6, p. 381-386, 2011.
- CONOVER, W. J. **Practical nonparametric statistics**. John Wiley & Sons, 1998.
- CONWAY, E. M., COLLEN, D., & CARMELIET, P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. **Cardiovascular research**, v. 49, n. 3, p. 507-521, 2001.
- COSTA, M. S., PINFILDI, C. E., GOMES, H. C., LIEBANO, R. E., ARIAS, V. E., SILVEIRA, T. S., & FERREIRA, L. M. Effect of low-level laser therapy with output power of 30 mW and 60 mW in the viability of a random skin flap. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 28, n. 1, p. 57-61, 2010.
- CUNHA, A. P.; UCHÔA, A. F. J.; ALMEIDA, R. R.; RIBEIRO, A. C. B.; BRITO, D. H. A.; VIEIRA, I. G. P.; GOMES, E. C.C.; RICARDO, N. M. P. S.; RICARDO, N. M. P. S. Desenvolvimento de membranas de alginato e pectina associadas a bioativos vegetais para tratamento em queimaduras. In: 7o Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. 2012.
- DA COSTA, M. R. M. F., NUCCI, E., OLIVEIRA Jr, E. N. Produção de goma xantana a partir de soro de leite. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 1319-1326, 2015.
- DA COSTA PEDRETTI, S. L. Ação da pentoxifilina na vitalidade e no reparo tecidual dos retalhos cutâneos em ratos, administrada via subcutânea. 2019. Tese (Doutorado em Ciências Aplicadas à Cirurgia) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais 2019.
- DAI, H., & HUANG, H. Enhanced swelling and responsive properties of pineapple peel carboxymethyl cellulose-g-poly (acrylic acid-co-acrylamide) superabsorbent hydrogel by the introduction of carclazyte. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 3, p. 565-574, 2017.
- DE-FARIA, F. M., ALMEIDA, A. C. A., LUIZ-FERREIRA, A., DUNDER, R. J., TAKAYAMA, C., DA SILVA, M. S., ... & TOMA, W. Mechanisms of action underlying the gastric antiulcer activity of the *Rhizophora mangle* L. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 139, n. 1, p. 234-243, 2012.
- DA MOTA, D. S. C., SICURO, F. L., RESENDE, A. C., DE MOURA, R. S., BOTTINO, D. A., & BOUSKELA, E. Effects of açai and cilostazol on skin microcirculation and viability of TRAM flaps in hamsters. **Journal of Surgical Research**, v. 228, p. 253-262, 2018.

DOMANSKY, C.R; BORGES, L.E. Manual para prevenção de lesões de pele. Recomendações baseadas em evidências. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012.

DE SOUZA, D. M., & GARCIA-CRUZ, C. H. Produção fermentativa de polissacarídeos extracelulares por bactérias. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 25, n. 2, p. 253-262, 2004

DINIZ, D. D. M., DRUZIAN, J. I., & AUDIBERT, S. Produção de goma xantana por cepas nativas de *Xanthomonas campestris* a partir de casca de cacau ou soro de leite. **Polímeros**, v. 22, n. 3, p. 278-281, 2012.

DOS SANTOS, L. E. E. F., DA SILVA, B. A., DE SALLES, J. B., & FINGOLO, C. E. Estudo do extrato de *Rhizophora mangle* e seus efeitos in vitro sobre a atividade da 7-etoxiresorufinao-desetilase (erod) microsossomal hepática em ratos. **Episteme Transversalis**, v. 10, n. 3, 2019.

EMSEN, I. M. A new agent for flap survival–Hippophae rhamnoides L.(sea buckthorn): An experimental study in rats. **Canadian Journal of Plastic Surgery**, v. 13, n. 4, p. 195-198, 2005.

ESTEVÃO, L. R. D. M., MEDEIROS, J. P. D., SCOGNAMILLO-SZABÓ, M. V. R., BARATELLA-EVÊNCIO, L., GUIMARÃES, E. C., CÂMARA, C. A. G. D., & EVÊNCIO-NETO, J. Efeitos da administração tópica de pomada de óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) na viabilidade de retalhos cutâneos em ratos. **Acta cirurgica brasileira**, v. 28, n. 12, p. 863-869, 2013.

FARHAT, W., VENDITTI, R., MIGNARD, N., TAHA, M., BECQUART, F., & AYOUB, A. Polysaccharides and lignin based hydrogels with potential pharmaceutical use as a drug delivery system produced by a reactive extrusion process. **International journal of biological macromolecules**, v. 104, p. 564-575, 2017.

FANGUEIRO, J., GONÇALVES, A. S., & SOUTO, E. B. Proteínas e polissacarídeos utilizados na preparação de sistemas de transporte de substâncias activas. 2010.

FEKSA, L. R., TROIAN, E. A., MULLER, C. D., VIEGAS, F., MACHADO, A. B., & RECH, V. C. Hydrogels for biomedical applications. In: **Nanostructures for the Engineering of Cells, Tissues and Organs**. William Andrew Publishing, 2018. p. 403-438.

FERNANDES, A. R. O. Retalhos cutâneos para a reconstrução do nariz. 2010. Tese de doutorado. Universidade de Coimbra, 2010.

FERNANDEZ, O., CAPDEVILA JZ; DALLA, G., MELCHOR, G. Efficacy of *Rhizophora mangle* aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. **Fitoterapia**, v. 73, n. 7-8, p. 564-568, 2002.

FERREIRA, F. S., SANTOS, S. C., BARROS, T. F., ROSSI-ALVA, J. C., FERNANDEZ, L. G. Atividade antibacteriana in vitro de extratos de *Rhizophora mangle* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 3, p. 305-310, 2011.

FOURMAN, M.S., GERSCH, R.P., PHILLIPS, B.T., NASSER, A., RIVARA, A., VERMA, R. DAGUM A.B., ROSENGART T.K., BUI, D.T. Comparison of laser Doppler and laser-

assisted indocyanine green angiography prediction of flap survival in a novel modification of the McFarlane flap. **Annals of Plastic Surgery**, v. 75, n. 1, p. 102-107, 2015.

FORNARI, R. C. G. Aproveitamento de soro de queijo para a produção de goma xantana. 2006. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Brasil. 2006.

FOSSUM T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4^a ed. Elsevier, Rio de Janeiro, p.192-228, 2014.

FOSSUM, T.W.; HEDLUND, C.S.; HULSE, D.A.; JOHNSON, A.L.; SEIM, H.B.; WILLARD, M.D.; CARROLL, G.L. **Cirurgia do sistema tegumentar**. In: FOSSUM, T.W. *Cirurgia de pequenos animais*. São Paulo: Roca, p.101-171, 2002.

FREITAS, F.; ALVES, V.D.; PAIS, J.; COSTA, N.; OLIVEIRA, C.; MAFRA, L.; HILLIOU, L.; OLIVEIRA, R.; REIS, M.A.M. Characterization of an extracellular polysaccharide produced by a *Pseudomonas* strain grown on glycerol. **Bioresource technology**, v. 100, n. 2, p. 859-865, 2009.

FREITAS, F. R., CAPETI, K. G., SAMPAIO, C. R. Educação ambiental sobre manguezal no Colégio Estadual Prof^a Regina de Mello e comunidade local em Paranaguá-PR. **Unisanta BioScience**, v. 6, n. 2, p. 120-128, 2017.

FISHER, O. Z., KHADEMHOSEINI, A., LANGER, R., PEPPAS, N. A. Bioinspired materials for controlling stem cell fate. **Accounts of chemical research**, v. 43, n. 3, p. 419-428, 2010.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V.E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery and properties. **Biotechnology Advances**, Ontario, v. 18, n. 7, p. 549-579, 2000.

GAO, W., QIAO, X., MA, S., CUI, L. Adipose-derived stem cells accelerate neovascularization in ischaemic diabetic skin flap via expression of hypoxia-inducible factor-1 α . **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 15, n. 12, p. 2575-2585, 2011.

GIAVASIS, I. Production of microbial polysaccharides for use in food. In: **Microbial production of food ingredients, enzymes and nutraceuticals**. Woodhead Publishing, p. 413-468, 2013.

GOPINATH, V., SARAVANAN, S., AL-MALEKI, AR, RAMESH, M., & VADIVELU, J. A review of natural polysaccharides for drug delivery applications: Special focus on cellulose, starch and glycogen. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 107, p. 96-108, 2018.

GOTO, P. L. Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas por polimerização in situ a partir de nanoemulsões produzidas por inversão de fases. 89p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

GÖZÜ, A., PODA, M., TASKIN, E. I., TURGUT, H., ERGINEL-ÜNALTUNA, N., DOGRUMAN, H., & ÖZSOY, Z. Pretreatment with octreotide modulates iNOS gene expression, mimics surgical delay, and improves flap survival. **Annals of plastic surgery**, v. 65, n. 2, p. 245-249, 2010.

GROEBER F, HOLEITER M, HAMPEL M, HINDERER S, SCHENKE-LAYLAND K. Skin tissue engineering – in vivo and in vitro applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 63, n. 4-5, p. 352-366, 2011.

GUIMARÃES, MVTN, MOREIRA, GHG, ROCHA, LP, NICOLUZZI, JEL, SOUZA, CJFD, & REPKA, JCD. Ação da l-arginina na evolução de retalhos cutâneos de ratos sob exposição à nicotina. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgões**, v. 40, n. 1, pág. 49-54, 2013.

GUSMÃO, B.S., VERDELONE, C.X.O., NARDI, A.B., REIS FILHO, N. P., Técnicas de Reconstrução para Defeitos Cutâneos em Região de Cotovelo. **Investigação**, v. 18, n. 1, 2019. Disponível em: < file:///C:/Users/Cliente/Downloads/3226-Texto%20do%20artigo-11692-1-10-20190412.pdf >; Acesso em 05 de abril de 2020.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 18-23, 2012.

HALLOCK, G. G., RICE, D. C. Evidence for the efficacy of TRAM flap delay in a rat model. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 96, n. 6, p. 1351-1357, 1995.

HASLIK W, KAMOLZ LP, MANNA F, HLADIK M, RATH T, FREY M. Management of full-thickness skin defects in the hand and wrist region: first long-term experiences with the dermal matrix Matriderm. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, v. 63, n. 2, p. 360-364, 2010.

HIHARA, M., KAKUDO, N., MORIMOTO, N., HARA, T., LAI, F., JO, J., TABATA, Y., KUSUMOTO, K. Improved viability of murine skin flaps using a gelatin hydrogel sheet impregnated with bFGF. **Journal of Artificial Organs**, p. 1-10, 2020.

İNCE, B., BILGEN, F., GÜNDEŞLIOĞLU, A. Ö., DADACI, M., & KOZACIOĞLU, S. Use of systemic Rosmarinus officinalis to enhance the survival of random-pattern skin flaps. **Balkan medical journal**, v. 33, n. 6, p. 645, 2016.

ISAAC, C., DE LADEIRA, P. R. S., DO RÊGO, F. M. P., ALDUNATE, J. C. B., & FERREIRA, M. C. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 3-4, p. 125-131, 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 11ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008.

KANG, M., ODERINDE, O., LIU, S., HUANG, Q., MA, W., YAO, F., & FU, G. Characterization of Xanthan gum-based hydrogel with Fe³⁺ ions coordination and its reversible sol-gel conversion. **Carbohydrate polymers**, v. 203, p. 139-147, 2019.

KAPLOWITZ, M. D. Assessing mangrove products and services at the local level: the use of focus groups and individual interviews. **Landscape and Urban Planning**, v. 56, n. 1-2, p. 53-60, 2001.

KARAÇAL, N., AMBARCIOĞLU, Ö., TOPAL, U., MAMEDOV, T., KUTLU, N. Enhancement of dorsal random-pattern skin flap survival in rats with topical lidocaine and prilocaine (EMLA): enhancement of flap survival by EMLA. **Journal of Surgical Research**, v. 124, n. 1, p. 134-138, 2005.

KONDIAH, P. J., CHOONARA, Y. E., KONDIAH, P. P., MARIMUTHU, T., KUMAR, P., DU TOIT, L. C., PILLAY, V. A review of injectable polymeric hydrogel systems for application in bone tissue engineering. **Molecules**, v. 21, n. 11, p. 1580, 2016.

KEIL, H., MUELLER, W., HEROLD-MENDE, C., GEBHARD, MM, GERMANN, G., ENGEL, H. E REICHENBERGER, MA. Preoperative shock wave treatment enhances ischemic tissue survival, blood flow and angiogenesis in a rat skin flap model. **International Journal of Surgery**, v. 9, n. 4, p. 292-296, 2011.

KIM EK, EOM JS, AHN SH, SON BH, LEE TJ. The efficacy of prophylactic low-molecular-weight heparin to prevent pulmonary thromboembolism in immediate breast reconstruction using the TRAM flap. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 123, n. 1, p. 9-12, 2009.

KIM HJ, XU L, CHANG KC, SHIN SC, CHUNG JI, KANG D, KIM SH, HUR JA, CHOI TH, KIM S, CHOI J. Anti-inflammatory effects of anthocyanins from black soybean seed coat on the keratinocytes and ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. **Microsurgery**, v. 32, n. 7, p. 563-570, 2012.

KLOXIN, A. M., KLOXIN, C. J., BOWMAN, C. N., & ANSETH, K. S. Mechanical properties of cellularly responsive hydrogels and their experimental determination. **Advanced materials**, v. 22, n. 31, p. 3484-3494, 2010.

KRSTONOŠIĆ, V., MILANOVIĆ, M., & DOKIĆ, L. Application of different techniques in the determination of xanthan gum-SDS and xanthan gum-Tween 80 interaction. **Food hydrocolloids**, v. 87, p. 108-118, 2019.

KULKARNI, R. V., SA, B. Electroresponsive polyacrylamide-grafted-xanthan hydrogels for drug delivery. **Journal of Bioactive and compatible Polymers**, v. 24, n. 4, p. 368-384, 2009.

JIANG, R., LIN, C., JIANG, C., HUANG, Z., GAO, W. E LIN, D. Nobiletin enhances the survival of random pattern skin flaps: Involvement of enhancing angiogenesis and inhibiting oxidative stress. **International Immunopharmacology**, v. 78, p. 106010, 2020.

LE COCQ, H., & STANLEY, P. R. W. Closing the gap: skin grafts and flaps. **Surgery (Oxford)**, v. 29, n. 10, p. 502-506, 2011.

LE HIR, A. Noções de farmácia galênica. 6.ed. São Paulo, Andrei, 1997.

LE, X. T., & TURGEON, S. L. Rheological and structural study of electrostatic cross-linked xanthan gum hydrogels induced by β -lactoglobulin. **Soft Matter**, v. 9, n. 11, p. 3063-3073, 2013.

LIMA, A. P. D. D. Síntese e caracterização de hidrogéis compósitos superabsorventes a base de poli(acrilamida e vermiculita). 2008. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Universidade Federal do Ceará.

LUCAS, J. B. The Physiology and Biomechanics of Skin Flaps. **Facial plastic surgery clinics of North America**, v. 25, n. 3, p. 303-311, 2017.

LUVIELMO, M. M. SCAMPARINI, A. R. P.; Goma Xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**, v. 5, n° 1: 50-67, 2009.

MANCHIO, J. V., LITCHFIELD, C. R., SATI, S., BRYAN, D. J., WEINZWEIG, J., & VERNADAKIS, A. J. Duration of smoking cessation and its impact on skin flap survival. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 124, n. 4, p. 1105-1117, 2009.

MARRERO, E., SANCHEZ, J., DE ARMAS, E., ESCOBAR, A., MELCHOR, G., ABAD, M. J., ... & ALCARAZ, M. J. COX-2 and sPLA2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of *Rhizophora mangle* (red mangrove). **Fitoterapia**, v. 77, n. 4, p. 313-315, 2006.

MARINHO, A.G.C. *Rizophora mangle* e ácido tânico: uma associação em creme para o tratamento de feridas. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

MARTIGNAGO, CCS, TIM, CR, ASSIS, L., NEVES, LMG, BOSSINI, PS, RENNO, AC, ... E PARIZOTTO, NA. Comparison of two different laser photobiomodulation protocols on the viability of random skin flap in rats. **Lasers in Medical Science**, v. 34, n. 5, p. 1041-1047, 2019.

MARROQUÍN TINTÍ, M. N. Evaluación de la actividad cicatrizante de extractos etanólicos de hoja y corteza de mangle rojo (*Rhizophora mangle L*) mediante técnicas in vitro, para su aprovechamiento en la industria fitofarmacéutica. 2016.

MAO, X., CHENG, R., ZHANG, H., BAE, J., CHENG, L., ZHANG, L., ... & Sun, X. Self-Healing and Injectable Hydrogel for Matching Skin Flap Regeneration. **Advanced Science**, v. 6, n. 3, p. 1801555, 2019.

MCCLOUD, T., NEMEC, J., MUSCHIK, G., SHEFFIELD, H., QUESENBERRY, P., SUFFNESS, M., CRAGG, G., THOMPSON, J. Extraction of bioactive molecules from plants. In: **Presented at the International Congress on Natural Products Research 1988**. Park City, UT, July 17–2.

MCFARLANE, R. M., DEYOUNG, G., HENRY, R. A., & MCFARLANE, R. M. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 35, n. 2, p. 177-182, 1965.

MELCHOR, G., ARMENTEROS, M., FERNÁNDEZ, O., LINARES, E., & FRAGAS, I. Antibacterial activity of *Rhizophora mangle* bark. **Fitoterapia**, v. 72, n. 6, p. 689-691, 2001.

MENDES, M. D. S. L., DE AGUIAR, K. L. N. P., PEREIRA, K. A. B., DE OLIVEIRA, P. F., & MANSUR, C. R. E. Hidrogéis à base de poliacrilamida e quitosana com potencial aplicabilidade no controle de conformidade em reservatórios de petróleo. **Revista Eletrônica Perspectivas da Ciência e Tecnologia-ISSN: 1984-5693**, v. 11, p. 1, 2019.

MENDONÇA, R. J. D., & COUTINHO-NETTO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 257-262, 2009.

MITTERMAYR, R., HARTINGER, J., ANTONIC, V., MEINL, A., PFEIFER, S., STOJADINOVIC, A., SCHADEN., W., REDL, H. Extracorporeal shock wave therapy (ESWT) minimizes ischemic tissue necrosis irrespective of application time and promotes tissue revascularization by stimulating angiogenesis. **Annals of surgery**, v. 253, n. 5, p. 1024-1032, 2011.

- MOHSIN J, SHAIKH JRH. Preparation and evolution of herbal gel formulation. *JPRE* 2017: 1(2) 201-224.
- MOTTA, C. Preparação e caracterização de hidrogéis superabsorventes a partir de quitosana e poliacrilonitrila. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.
- MORRIS, E. R. Ordered conformation of xanthan in solutions and “weak gels”: Single helix, double helix—or both?. **Food Hydrocolloids**, v. 86, p. 18-25, 2019.
- MONTEIRO-RIVIERE, Nancy A. Structure and function of skin. In: Toxicology of the Skin. CRC Press, p. 15-32, 2010.
- MORAES, J. T., BORGES, E. L., LISBOA, C. R., CORDEIRO, D. C. O., ROSA, E. G., ROCHA, N. A. Conceito e classificação de lesão por pressão: atualização do National Pressure Ulcer Advisory Panel. **Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro**, v. 6, n. 2, 2016.
- NAIDOO, G., TUFFERS, A. V., & VON WILLERT, D. J. Changes in gas exchange and chlorophyll fluorescence characteristics of two mangroves and a mangrove associate in response to salinity in the natural environment. **Trees**, v.16, n. 2-3 p.140-146, 2002.
- NASCIMENTO, M. H. M. D., & LOMBELLO, C. B. Hidrogéis a base de ácido hialurônico e quitosana para engenharia de tecido cartilaginoso. **Polímeros**, v. 26, n. 4, p. 360-370, 2016.
- NEBULA, M.; HARISANKAR, H. S.; CHANDRAMOHANAKUMAR, N. Metabolites and bioactivities of Rhizophoraceae mangroves. **Natural products and bioprospecting**, v. 3, n. 5, p. 207-232, 2013.
- NESBIT, R.D; LAUB, D. R. Flaps. Random skin flaps. 2009. Disponível em: <<https://emedicine.medscape.com/article/1284569-overview#a1>> Acessado em 28 de Setembro 2020.
- NEZAMI, B. G., TALAB, S. S., EMAMI, H., ASSA, S., RASOULI, M. R., ASADI, S., ... & DEHPOUR, A. R. Chronic upregulation of the endogenous opioid system impairs the skin flap survival in rats. **Annals of plastic surgery**, v. 63, n. 5, p. 558-563, 2009.
- NISHIOKA, MA, PINFILDI, CE, SHELIGA, TR, ARIAS, VE, GOMES, HC E FERREIRA, LM. LED (660 nm) and laser (670 nm) use on skin flap viability: angiogenesis and mast cells on transition line. **Lasers in medical science**, v. 27, n. 5, p. 1045-1050, 2012.
- ODA, A. M. *Conocarpus erectus* Leaf Extract for Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity. **Indonesian Journal of Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 407-414, 2017.
- OFORI-KWAKYE.K; KWAPONG, A.A; BAYOR, M.T. Wound healing potential of methanol extract of *Spathodea campanulata* stem bark formulated into a topical preparation. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 3, 2011.
- OGUIDO, C. M. K.; SHIBATTA, L. S. Permeabilidade dos ativos na cosmetologia. In: CONGRESSO MULTIPROFISSIONAL EM SAÚDE. Londrina. Anais... Londrina: EdUnifil, p. 124 – 126, 2011.

- ONOFRE, N. A. Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos a partir de ágar, agarose e kefirana com incorporação de nanopartículas de prata. 111p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) Centro de Tecnologia e Geociência, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.
- OKUDA, T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. **Phytochemistry**, v. 66, n. 17, p. 2012-2031, 2005.
- OLIVEIRA, J. A. V. Aplicação da *Rhizophora mangle* associada ao biopolímero de betaglucana em retalhos cutâneos isquêmicos em ratos. 2018. 91 f. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências da Saúde), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.
- ORHAN, E., AKA, İ. Ö., YÜZBAŞIOĞLU, M., YAVUZ, B., BILENSOY, E., & UZ, A. K. The effect of *Arnebia purpurea* extract on the survival of random pattern skin flaps in rats. **The European Research Journal**, v. 4, n. 3, p. 152-156, 2018.
- ORHAN, E., AKA, İ. Ö. YÜZBAŞIOĞLU, M., YAVUZ, B., BILENSOY, E., & UZ, A. K. The Effect of *Quercus coccifera* L. Extract on the Necrosis of Random-pattern Skin Flaps in Rats. **Medical Bulletin of Haseki/Haseki Tip Bulteni**, v. 57, n. 3, 2019.
- PACE, D. CAMPOS, A. C., & GRAF, R. Efeito de substâncias antioxidantes (vitamina C, vitamina E e ginkgo biloba) na viabilidade de retalho cutâneo dorsal em ratos. **Revista da Sociedade Brasileira Cirurgia Plástica**, v. 21, n. 2, p. 77-81, 2006.
- PAGNANO, L. D. O., BARALDI-ARTONI, S. M., PACHECO, M. R., SANTOS, E. D., OLIVEIRA, D., & LUI, J. F. Morfometria de fibroblastos e fibrócitos durante o processo cicatricial na pele de coelhos da raça Nova Zelândia Branco tratados com calêndula. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1662-1666, 2008.
- PARK J.E, BARBUL A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. **The American Journal of Surgery**, v. 187, n. 5, p. S11-S16, 2004.
- PARK, H., KIM, M. H., YOON, Y. I., PARK, W. H. One-pot synthesis of injectable methylcellulose hydrogel containing calcium phosphate nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, v. 157, p. 775-783, 2017.
- PAL, K., BANTHIA, A. K., & MAJUMDAR, D. K. (2009). Polymeric hydrogels: characterization and biomedical applications. **Designed monomers and polymers**, v. 12, n. 3, p. 197-220, 2009.
- PALANIRAJ, A., & JAYARAMAN, V. Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. **Journal of Food Engineering**, v. 106, n. 1, p. 1-12, 2011.
- PANDOLFO M. L. M. O processo de envelhecimento cutâneo- As novas perspectivas frente à evolução da cosmetologia, da estética e das tecnologias de produção de cosméticos. 2011. Trabalho de conclusão do curso (Pós-graduação em Estética e Cosmetologia). Universidade Veiga de Almeida. Rio de Janeiro. 2010.
- PASPARAKIS, M., HAASE, I., & NESTLE, F. O. Mechanisms regulating skin immunity and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 14(5), 289–301, 2014.

PARIDA, A.K.; DAS, A.B.; MITTRA, B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera paviflora*. **Trees**, New York, v.18, p.167-174, 2004.

PARK, H., KIM, M. H., YOON, Y. I., & PARK, W. H. One-pot synthesis of injectable methylcellulose hydrogel containing calcium phosphate nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, v. 157, p. 775-783, 2017.

PATRA, J. K., & MOHANTA, Y. K. Antimicrobial compounds from mangrove plants: A pharmaceutical prospective. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 20, n. 4, p. 311-320, 2014.

PEDRETTI S.L.C; RENA C.L.; ECBC-MG; CASTÃNÓN C.M.N; DUQUE A.P.N; PEREIRA F.H; NUNES T.A. 2017. Efeitos do dimetilsulfóxido e da pentoxifilina na vitalidade de retalhos cutâneos em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 44, n. 5, p. 457-464, 2017.

PERERA, L. M. S., ESCOBAR, A., SOUCCAR, C., REMIGIO, M. A., & MANCEBO, B. Pharmacological and toxicological evaluation of *Rhizophora mangle* L., as a potential antiulcerogenic drug: Chemical composition of active extract. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 2, n. 4, p. 56-63, 2010.

PEPPAS, N. A. Hydrogels in regenerative medicine. **Advanced materials**, v. 21, n. 32-33, p. 3307-3329, 2009.

PEPPAS, N. A., SLAUGHTER, B. V., & KANZELBERGER, M. A. Polymer Science: A comprehensive reference, Hydrogels. **Polym. Biol. Med**, v. 9, p. 385-395, 2012.

PIL, M. W., BOEGER, M. R., MUSCHNER, V. C., PIE, M. R., OSTRENSKY, A., & BOEGER, W. A. Postglacial north-south expansion of populations of *Rhizophora mangle* (*Rhizophoraceae*) along the Brazilian coast revealed by microsatellite analysis. **American Journal of Botany**, v. 98, n. 6, p. 1031-1039, 2011.

POPP, M.; LARHER, F.; WEIGEL, P. Osmotic adaption in Australian mangroves. In: **Ecology of coastal vegetation**. Springer, Dordrecht, v.61, p.247-253, 1985.

PRISTA, L.N.; Alves, A.C.; Morgado, R. **Tecnologia farmacêutica**. 5a ed., v. 1, Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.

PU, C. M., LIU, C. W., LIANG, C. J., YEN, Y. H., CHEN, S. H., JIANG-SHIEH, Y. F., CHIEN, C.L., CHEN., Y.C., CHEN, Y. L. Adipose-derived stem cells protect skin flaps against ischemia/reperfusion injury via IL-6 expression. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 137, n. 6, p. 1353-1362, 2017.

RADHAKRISHNAN, J., SUBRAMANIAN, A., KRISHNAN, U. M., SETHURAMAN, S. Injectable and 3D bioprinted polysaccharide hydrogels: from cartilage to osteochondral tissue engineering. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 1, p. 1-26, 2017.

RAMADAN, M. F., AMER, M. M. A., MANSOUR, H. T., WAHDAN, K. M., EL-SAYED, R. M., EL-SANHOTY, S., EL-GLEEL, W. A. Bioactive lipids and antioxidant properties of

wild Egyptian *Pulicaria incise*, *Diplotaxis harra*, and *Avicennia marina*. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 4, p. 239-245, 2009.

RAMALINGAM, V.; RAJARAM, R. Enhanced antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of *Rhizophora apiculata*: An experimental report. **3 Biotech**, v. 8, n. 4, p. 200, 2018.

RAMÍREZ A, BENÍTEZ L., ROJAS DE ASTUDILLO L., ROJAS DE GÁSCUE B.. Materiales polimeros de tipo hidrogeles: revisión sobre su caracterización mediante ftir, dsc, meb y met. **Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales**, v. 36, n. 2, p. 108-130, 2016.

REEF, R., FELLER, I. C., LOVELOCK, C. E. Nutrition of mangroves. **Tree Physiology**, v. 30, n. 9, p. 1148-1160, 2010.

ROGERS, A. D., DOS PASSOS, G., & HUDSON, D. A. The scope of plastic surgery. **South African journal of surgery**, v. 51, n. 3, p. 106-110, 2013

ROHOKALE, S. S., DHANORKAR, Y. D., PAHUJA, V., & KULKARNI, G. T. Characterization of selected Polysaccharide hydrogels as pharmaceutical excipients. **Journal of Chronotherapy and Drug Delivery**, v. 3, n. 2, p. 41-54, 2012.

ROMEIRO RS. **Bactérias fitopatogênicas**. Viçosa: UFV Impr. Univer ; 1995.

SABADINI, R. C. Redes poliméricas de macromoléculas naturais como hidrogéis superabsorventes. 2015. Tese (Doutorado em Ciências) Instituto de Química São Carlos da Universidade de São Paulo, 2015.

SACKHEIM, K., DE ARAUJO, T. S., & KIRSNER, R. S. Compression modalities and dressings: their use in venous ulcers. **Dermatologic therapy**, v. 19, n. 6, p. 338-347, 2006.

SAHARUDIN SH, AHMAD Z, BASRI M. Role of xanthan gum on physicochemical and rheological properties of rice bran oil emulsion. **International Food Research Journal**, v. 23, n. 4, p. 1361, 2016.

SÁNCHEZ J, MELCHOR G, MARTÍNEZ G, ESCOBAR A, FAURE R. Antioxidant activity of *Rhizophora mangle* bark. **Fitoterapia**, v. 77, n. 2, p. 141-143, 2006.

SÁNCHEZ, J., FAURE, R., MARTÍNEZ, G., VEGA, E., & Fernández, O. Propiedades antioxidantes de *Rhizophora mangle* (L.) y su relación con el proceso de curación de heridas en ratas. **Revista de Salud Animal**, v. 31, n. 3, p. 170-175, 2009.

SÁNCHEZ, L. M., MELCHOR, G., ALVAREZ, S., & BULNES, C. Caracterización química y toxicológica de una formulación cicatrizante de *Rhizophora mangle* L. **Revista de Salud Animal**, v. 20, n. 2, p. 69-72, 1998.

SANTANA, E.S. Hidrogéis à base da associação de *Rhizophora mangle* e ácido ascórbico: desenvolvimento e avaliações citotóxica e imunomoduladora, 2019. Dissertação (Mestrado em Morfotecnologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y., CINTRÓN-MOLERO, G., SOARES, M. L. G., & DE-ROSA, T. Brazilian mangroves. **Aquatic Ecosystem Health & Management**, v. 3, n. 4, p. 561-570, 2000.

- SCOZZAFAVE, G., ABEL, J., BLOCH, R., ANDREONI, W., PASTRO, D., MIRANDA, F., & NETO, F. Aplicações clínico-cirúrgicas do retalho antebraquial: análise de 89 casos. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 25, n. 2, p. 361-366, 2001.
- SHALVIRI, A., Liu, Q., ABDEKHODAIE, MJ, & Wu, XY. Novel modified starch–xanthan gum hydrogels for controlled drug delivery: Synthesis and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 4, p. 898-907, 2010.
- SHI, C., XU, M. J., BAYER, M., DENG, Z. W., KUBBUTAT, M. H., WAEJEN, W & LIN, W. H. Phenolic compounds and their anti-oxidative properties and protein kinase inhibition from the Chinese mangrove plant *Laguncularia racemosa*. **Phytochemistry**, v. 71, n. 4, p. 435-442, 2010.
- SINGER, AJ, & CLARK, RA. Richard AF. Cutaneous wound healing. **New England journal of medicine**, v. 341, n. 10, p. 738-746, 1999.
- SINGHVI, G., HANS, N., SHIVA, N., & DUBEY, S. K. Xanthan gum in drug delivery applications. In: **Natural Polysaccharides in Drug Delivery and Biomedical Applications**. Academic Press, 2019. p. 121-144.
- SHOHAYEB, M.; ABDEL-HAMEED, E.; BAZAID, S. Antimicrobial activity of tannins and extracts of different parts of *Conocarpus erectus* L. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 3, n. 2, p. 544-553, 2013.
- SHIMIZU, R., & KISHI, K. Skin graft. **Plastic surgery international**, v. 2012, 2012.
- SINGH, V. The father of surgery. **National journal of maxillofacial surgery**, v. 8, n. 1, p. 1, 2017.
- SILVA, I. D. V. D. (2014) Preparação e caracterização de blendas formadas por goma xantana e poli (álcool vinílico) para aplicação na área de liberação controlada de fármacos. 2014. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal da Paraíba, 2014.
- SILVA, J.P.G; SILVA R.K.S.; LIMA, R.B.A; SILVA, V.F.S; FELICIANO, A.L.P, Caracterização dendrológica de *Rhizophora mangle* L., Recife – Pe. XIII jornada de ensino, pesquisa e extensão – JEPEX 2013 – UFRPE: Recife, 09 a 13 de dezembro 2013. (ANAIS). Disponível em <<http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R1340-2.pdf>> Acesso em: 04/04/2020.
- SILVA, T. R. Densidade energética da madeira de *Rhizophora mangle*. 2018. 33f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal). Universidade de Brasília, Faculdade de Tecnologia, Departamento de Engenharia Florestal, 2018.
- SEYED JAFARI, S. M., SHAFIGHI, M., BELTRAMINELLI, H., GEISER, T., HUNGER, R. E., & GAZDHAR, A. Morteza et al. Improvement of flap necrosis in a rat random skin flap model by in vivo electroporation-mediated HGF gene transfer. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 139, n. 5, p. 1116e-1127e, 2017.
- SLAUGHTER, B. V., KHURSHID, S. S., FISHER, O. Z., KHADEMHOSEINI, A., & PEPPAS, N. A. Hydrogels in regenerative medicine. **Advanced materials**, v. 21, n. 32-33, p. 3307-3329, 2009.

- SOUZA, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T. Produção e caracterização dos biopolímeros sintetizados por *X. campestris* pv *pruni* CEPAS 24 e 58. **Ciência e Engenharia**, v. 8, n. 2, p. 115-123, 1999.
- SOWA, M. G., FRIESEN, J. R., LEVASSEUR, M., SCHATTKA, B., SIGURDSON, L., & HAYAKAWA, T. The utility of near infrared imaging in intra-operative prediction of flap outcome: a reverse McFarlane skin flap model study. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 20, n. 5, p. 601-615, 2012.
- SULEIMAN, M. M., BAGLA, V., NAIDOO, V., & ELOFF, J. N. Evaluation of selected South African plant species for antioxidant, antiplatelet, and cytotoxic activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 6, p. 643-650, 2010.
- SÜNTAR, I., AKKOL, E. K., NAHAR, L., SARKER, S. D. Wound healing and antioxidant properties: do they coexist in plants?. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 2, n. 2, p. 1-7, 2012.
- SWORN, G. Xanthan gum. Handbook of hydrocolloids. 2009. The utility of near infrared imaging in intra-operative prediction of flap outcome: a reverse McFarlane skin flap model study. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 20, n. 5, p. 601-615, 2012.
- TACANI, P. M., LIEBANO, R. E., PINFILDI, C. E., GOMES, H. C., ARIAS, V. E., FERREIRA, L. M. Mechanical stimulation improves survival in random-pattern skin flaps in rats. **Ultrasound in medicine & biology**, v. 36, n. 12, p. 2048-2056, 2010.
- TAKIKAWA, M., SUMI, Y., ISHIHARA, M., KISHIMOTO, S., NAKAMURA, S., YANAGIBAYASHI, S., HATTORI, H., AZUMA, R., YAMAMOTO, N & KIYOSAWA, T. PRP&F/P MPs improved survival of dorsal paired pedicle skin flaps in rats. **Journal of Surgical Research**, v. 170, n. 1, p. e189-e196, 2011.
- TALUKDAR, M. M.; KINGET, R. Swelling and drug release behaviour of xanthan gum matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 120, n. 1, p. 63-72, 1995.
- TANG, S., ZHAO, L., YUAN, J., CHEN, Y., & LENG, Y. Physical hydrogels based on natural polymers. In: **Hydrogels Based on Natural Polymers**. Elsevier, 2020. p. 51-89.
- TURIN SY, LI DD, VACA EE, FINE N. Nitroglycerin ointment for reducing the rate of mastectomy flap necrosis in immediate implant-based breast reconstruction. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 142, n. 3, p. 264e-270e, 2018.
- VASQUES, R. O. R., TONINI, W. C. T., CUEVAS, J. M., SANTOS, D. F., FARIA, T. A., DE CARVALHO FALCÃO, F., ... & COUTO, E. D. C. G. Utilização das áreas de manguezais em Taipús de Dentro (Maraú, Sul da Bahia). **Revista de Gestão Costeira Integrada-Journal of Integrated Coastal Zone Management**, v. 11, n. 2, p. 155-161, 2011.
- VICENTE, J. D., SANTO, G. R., PALIN, G. C., REATI, L. A., URANO, T. K., TRINDADE, W. A., AMARAL, P.F.G.P., GERONIMO, E., OTUTUMI, L.K., LOURENÇO, ELB & DRAGUNSKI, D. C. Hidrogel de biopolímero de poliamido de mandioca acelera o processo de cicatrização em feridas cutâneas induzidas em ratos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, n. 3, p. 889-898, 2019.

WEI, S. Y., YIN, G. Q., HAN, Z. Q., PAN, X. Y., & LIN, B. J. Symbol Natural hirudin hydrogel improves the survival rate of random pattern flaps. **Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research**, v. 17, n. 53, p. 9107-9112, 2013.

WENDEL, G. H., TEVES, M.R., PAREDES, J. D., SANCHEZ PERERA, L.M., PELZER, L. E. Evaluation of the Antidiarrheal Activity of *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 32, n. 1, p. 128-131, 2013.

WICHTERLE, O., LÍM, D. Hydrophilic gels for biological use. **Nature**, v. 185, n. 4706, p. 117-118, 1960.

YANG, M., SHENG, L., LI, H., WENG, R., & LI, Q.-F. Improvement of the skin flap survival with the bone marrow-derived mononuclear cells transplantation in a rat model. **Microsurgery: Official Journal of the International Microsurgical Society and the European Federation of Societies for Microsurgery**, v. 30, n. 4, p. 275-281, 2010

YOSHIOKA, S. A.; FIGUEIRA, T. G.; CRUSCA, J. S.; SILVA JÚNIOR, N. F. Estudos Histológicos e Macroscópicos do Reparo Tecidual com Uso do Ácido Hialurônico no Processo Cicatricial de Incisão Cutânea em Ratos. In: **V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2011 May 16-21, 2011, Habana, Cuba**. Springer, Berlin, Heidelberg, v.33, p. 140-143, 2013.

ZANDI, K., TAHERZADEH, M., YAGHOUBI, R., TAJBAKHS, S., RASTIAN, Z., & SARTAVI, K. Antiviral activity of *Avicennia marina* against herpes simplex virus type 1 and vaccine strain of poliovirus (An in vitro study). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 10, p. 771-775, 2009.

ZHAO, D., HUANG, J., ZHONG, Y., LI, K., ZHANG, L., & CAI, J. High-strength and high-toughness double-cross-linked cellulose hydrogels: a new strategy using sequential chemical and physical cross-linking. **Advanced Functional Materials**, v. 26, n. 34, p. 6279-6287, 2016.

ZAHEDI P, REZAEIAN I, RANAIE-SIADAT SO, JAFARI SH, SUPAPHOL P. A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. **Polymers for Advanced Technologies**, 21(2), 77–95, 2010.

ZHANG, LL, LIN, YM, ZHOU, HC, WEI, SD & CHEN, JH. Condensed tannins from mangrove species *Kandelia candel* and *Rhizophora mangle* and their antioxidant activity. **Molecules**, v. 15, n. 1, p. 420-431, 2010.

ANEXO A — CARTA DE ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife – PE – Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 12 de fevereiro de 2020

Ofício nº 02/20

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira**

Centro de Biociências

Departamento de Histologia e Embriologia/ UFPE

processo nº 120/2019

Certificamos que a proposta intitulada "**Desenvolvimento e aplicação de hidrogel de *rhizophora mangle* na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmico**", registrado com o **120/2019** sob a sponsabilidade de **Prof. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira** o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 17/12/2019

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	dezembro de 2019 a Dezembro de 2020
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogênico
Nº de animais	20
Peso/Idade	225 a 275g/ 8 a 12 semanas
Sexo	femea (20)
Origem: Biotério de Criação	Biotério setorial do departamento de Fisiologia e farmacologia do Centro de Biociências- CB/ UFPE.
Destino: Biotério de Experimentação	Bioterio do Departamento de Antibioticos /CB / UFPE.

Atenciosamente


 Prof. Sebastião R. F. Silva
 -Presidente CEUA/UFPE
 STAGE 2146041

ANEXO B — AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES CIENTÍFICAS

CA DRFB N° 120/2014

24 de outubro de 2014.

Ao Senhor

JEYMESSON RAPHAEL CARDOSO VIEIRA

Prezado Senhor,

Cumprimentando Vossa Senhoria, nos reportamos ao Processo CPRH n° 013520/2014, referente ao requerimento para realização de atividades de pesquisa na APA de Santa Cruz e na APA Estuarina de Santa Cruz, sendo o local de coleta às margens do Canal de Santa Cruz e Rio Paripe, próximo a Vila Velha, Ilha de Itamaracá - PE.

Após análise da documentação apresentada vimos informar que o projeto **"Tecnologia Morfológica Aplicada à Inovação Terapêutica: Uma Perspectiva de Investigação de Produtos Naturais da Região de Mangue"** foi aprovado, estando autorizada a realização da citada pesquisa. No entanto, em caso de realização de atividades em áreas particulares, estas somente poderão ocorrer mediante a anuência do proprietário das terras. Salientamos ainda, que esta autorização permite as atividades de campo e coleta de material para estudo, entretanto, o acesso ao patrimônio genético deverá ser autorizado pelos órgãos competentes.

Informamos que a Unidade de Conservação APA de Santa Cruz possui sede e administração local, desta forma, caso haja necessidade de apoio para a realização das atividades de campo, faz-se necessário contato prévio com a equipe de gestão da Unidade.

Atenciosamente,


CINTHIA RENATA VIEIRA DE LIMA

Diretoria de Recursos Florestais e Biodiversidade