



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAUDE

ANDREA ALVES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO GEL DE  
GALACTOMANANA DE SEMENTES DE *CASSIA GRANDIS*  
ASSOCIADO À FOTOBIMODULAÇÃO NO PROCESSO  
CICATRICIAL DE FERIDAS POR QUEIMADURA**

Recife

2023

ANDREA ALVES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO GEL DE  
GALACTOMANANA DE SEMENTES DE *CASSIA GRANDIS*  
ASSOCIADO À FOTOBIMODULAÇÃO NO PROCESSO  
CICATRICIAL DE FERIDAS POR QUEIMADURA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde do Centro de Biociências da UFPE, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biologia Aplicada à Saúde. Área de concentração: Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Carneiro da Cunha

Co-orientadora: Profa. Dra. Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque

Recife

2023

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Souza, Andrea Alves de.

Avaliação da atividade cicatrizante do gel de galactomanana de sementes de cassia grandis associado à fotobiomodulação no processo cicatricial de feridas por queimadura. / Andrea Alves de Souza. – 2023.

121 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Maria das Graças Carneiro da Cunha.

Coorientadora: Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia aplicada à saúde, 2023.

Inclui referências.

1. Biotecnologia. 2. Queimadura. 3. Cicatrização de feridas. 4. Fotobiomodulação. 5. Polissacarídeos. I. Cunha, Maria das Graças Carneiro da. (orient.). II. Albuquerque, Priscilla Barbosa Sales de. (coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-076

ANDREA ALVES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DO GEL DE  
GALACTOMANANA DE SEMENTES DE *CASSIA GRANDIS* ASSOCIADO À  
FOTOBIMODULAÇÃO NO PROCESSO CICATRICIAL DE FERIDAS POR  
QUEIMADURA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde do Centro de Biociências da UFPE, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biologia Aplicada à Saúde. Área de concentração: Biotecnologia.

**Aprovada em 24/01/2023**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Maria das Graças Carneiro da Cunha (Orientadora)

Departamento de Bioquímica – UFPE

---

Profa. Dra. Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque (Coorientadora)

Departamento de Medicina – UPE

---

Prof. Dr. Luiz Bezerra de Carvalho Júnior

(Membro Interno) – Departamento de Bioquímica – UFPE

---

Profa. Dra. Armele de Fátima Dornelas de Andrade

(Membro Interno) – Departamento de Fisioterapia – UFPE

---

Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva

(Membro Externo) – Departamento de Antibióticos – UFPE

---

Profa. Dra. Ana Carolina de Carvalho Correia

(Membro Externo) – Departamento de Medicina – UPE

## AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus por guiar minha vida e ter sua presença em todos os momentos, sem ele nada seria concretizado. A minha Santa Rita que me acompanha incansavelmente, me dando forças e abrindo meus caminhos.

Ao meu marido Daniel, parceiro de vida, por todos os dias, pelo apoio e compreensão durante o longo e árduo processo de estudo, cuidando das meninas de forma brilhante.

Às minhas filhas Duda e Manu, por quem me levanto todos os dias, pelo entendimento da ausência diária, apesar da pouca idade.

Aos meus pais, que sempre estiveram presentes torcendo pelas minhas conquistas. Especialmente a minha mãe por ser essa pessoa extraordinária a quem me espelho tanto.

As minhas tias da família Carneiro da Cunha, Tia Lucia, Tia Rosario, Tia Cidinha, Tia Conchita, Tia Sonia e Tia Clarice pelo apoio e educação que me proporcionaram pelo longo caminho da minha vida.

Aos meus amigos do Hospital de Aeronáutica de Recife, Jorge Veras, Juliana Andrade e Eduarda Lubambo, por cada troca de plantão, me dando condições para a realização dos experimentos.

À minha orientadora, Professora Graça Cunha, pelo estímulo de iniciar essa caminhada tão árdua e altruísta. Professora exemplar, que apoiou-me nos piores momentos, que não me deixou desistir em tempos difíceis, agradeço a sua generosidade, característica sua marcante, que todos ao seu redor reconhecem, sem você isso seria impossível.

À minha coorientadora Professora Priscila Albuquerque, que é um anjo em formato de gente, que sorte a minha ter cruzado seu caminho Pri, uma pessoa e profissional exemplar que vai ficar na minha memória para sempre.

Aos meus amigos e time, Kátia Alves, Zé Roberto Seixas e Rita Granja, por cada dia trabalhado juntos, por cada ensinamento, risadas e felizes dias que tivemos.

Aos colegas de laboratório de Antibióticos, Elisabeth Fernanda de Oliveira, Marília Grasielly de Farias e José Rivaldo de Lima, por dedicar tantas horas ensinando-me e colaborando com parte desse trabalho.

Aos queridos colegas do Laboratório de Biotecnologia da UFPE: Fernanda Andrade, George Souza, Adelmo Aragão-Neto, Jaqueline Wellen, pela ajuda diária.

Ao professor Paulo Soares pelo apoio e ensinamento que foi determinante para que o processo acontecesse.

À Doutora Maria Helena Madruga, pelas brilhantes aulas práticas com os animais, e também por toda paciência, de fazer-me entender que os ratos não iriam me matar, talvez morder, às vezes, mas que no fim eles sempre foram meus parceiros de estudo.

Ao secretário Fábio Costa que me auxiliou diversas vezes com toda paciência e amor, e a todos os Professores da PGBAS.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade cicatrizante do gel da galactomanana das sementes de *C. grandis*, com destaque para a sua potencialidade em queimaduras de segundo grau *in vivo* utilizando, associado à terapia de fotobiomodulação (TFBM). O gel foi preparado com 1,7% (p/v) da galactomanana extraída por precipitação etanólica. A atividade citotóxica foi realizada através do método do MTT com células L-929 (fibroblastos murinos) e a hemolítica utilizando eritrócitos murinos (ratos Wistar machos). A atividade cicatrizante *in vitro* foi avaliada frente a fibroblastos L-929, enquanto a *in vivo* utilizou 60 ratos machos Wistar albinos (*Rattus norvegicus*) pesando  $250 \pm 50$  g, anestesiados (xilazina  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$  e cetamina  $90 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), tricotomizados no dorso ( $3 \text{ cm}^2$ ) e higienizados (1% de polivinilpirrolidona-iodo). A queimadura de segundo grau foi confeccionada através do contato com barra de alumínio ( $\varnothing = 10 \text{ mm}$ ,  $90 \text{ graus C}$ ,  $15 \text{ s}$ ) sobre a pele dos animais divididos de forma aleatória em quatro grupos experimentais: (GG) - tratado com o gel de galactomanana; (GL) - tratado com laser (TFBM); (GLG) – tratado com TFBM associada ao gel de galactomanana; e (GC) – controle, tratado com NaCl 0,9%. Os resultados revelaram que o gel de galactomanana não apresentou citotoxicidade. A atividade cicatrizante *in vitro* mostrou que o gel de galactomanana ( $50 \mu\text{g/mL}$ ) promoveu um ambiente propício e estimulante ao crescimento celular ao longo do período de 6 a 72 h de tratamento. No processo de cicatrização *in vivo* foi observado que o GL apresentou valor de contração de ferida ( $13,89 \pm 3,41 \%$ ) inferior ( $p < 0,05$ ) aos demais grupos (média de 26% de contração sem diferença estatística entre eles) no terceiro dia de análise. No décimo quarto dia experimental, GG, GL e GLG apresentaram contração semelhante (média de 95%) e superior ( $p < 0,05$ ) ao GC ( $83,14 \pm 4,43\%$ ); com 21 dias, no entanto, todos os grupos apresentaram contração de aproximadamente 100% ( $p > 0,05$ ). Na análise histológica foi constatado que os GL e GLG demonstraram excelentes propriedades de cicatrização com 14 dias de análise; aos 21 dias, no geral, todos os grupos apresentaram recuperação da ferida quando comparados ao terceiro e décimo quarto dia de experimento. Diante das observações macroscópicas e microscópicas do estudo, é possível concluir que os tratamentos isolados com o gel de galactomanana ou a TFBM efetivamente aceleraram a cicatrização de queimaduras, no entanto o sistema “TFBM associada ao gel de galactomanana” promoveu reepitelização e remodelação estromal com melhor evolução de recuperação do epitélio devido ao efeito sinérgico positivo e, por isso, desponta como uma alternativa terapêutica promissora.

**Palavras chaves:** biotecnologia, queimadura, cicatrização de feridas, fotobiomodulação, polissacarídeos.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the healing activity of the galactomannan gel from *C. grandis* seeds, with emphasis on its potential in 2nd degree burns *in vivo* using Wistar rats, associated with photobiomodulation therapy (PBMT). Gel was prepared with 1.7% (w/v) galactomannan (extracted by ethanolic precipitation). Cytotoxic activity was performed using the MTT method with L-929 cells (murine fibroblasts) and hemolytic activity was performed in 96-well plates using murine erythrocytes (male Wistar rats). *In vitro* healing activity was evaluated against L-929 fibroblasts, and *in vivo* was used 60 male Wistar albino rats (*Rattus norvegicus*) weighing  $250 \pm 50$  g, anesthetized (xylazine 10 mg/Kg and ketamine 90 mg/kg), shaved on the back (3 Cm<sup>2</sup>) and sanitized (1% polyvinylpyrrolidone-iodine). The 2nd degree burn was made by contact with an aluminum bar ( $\varnothing = 10$  mm, 90 degree C, 15 s) on the skin of the animals randomly divided into four experimental groups: (GG) - treated with the gel from galactomannan; (GL) -laser treated (PBMT); (GLG) – treated with PBMT associated with galactomannan gel; and (GC) – control, treated with 0.9% NaCl. The results revealed that the galactomannan gel did not present cytotoxicity. *In vitro* healing activity showed that galactomannan gel (50  $\mu$ g/mL) promoted a favorable and stimulating environment for cell growth in the period from 6 to 72 h of treatment after injury. *In vivo* healing process, it was observed that the GL presented a wound contraction value ( $13.89 \pm 3.41\%$ ) lower ( $p < 0.05$ ) than the other groups (average of 26% of contraction with no statistical difference between them) on the 3rd day of analysis. On the 14th experimental day, GG, GL and GLG showed contraction similar (mean of 95%) and superior ( $p < 0.05$ ) to GC ( $83.14 \pm 4.43\%$ ); at 21 days, however, all groups showed contraction of approximately 100% ( $p > 0.05$ ). In the histological analysis, it was found that the GL and GLG showed excellent pro-wound healing properties after 14 days of analysis; at 21 days, in general, all groups showed wound recovery when compared to the 3rd and 14th days of the experiment. In view of the macroscopic and microscopic observations of the study, it is possible to conclude that the isolated treatments with galactomannan gel or PBMT effectively accelerated the healing of burns, however the system "PBMT associated with galactomannan gel" promoted re-epithelialization and stromal remodeling with better evolution of recovery of the epithelium due to the positive synergistic effect and, therefore, emerges as a promising therapeutic alternative.

**Keywords:** biotechnology, burn, biological activity, wound healing, photobiomodulation, polysaccharides.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

---

### Capítulo I

- Figura 1 - Segmento representativo de uma cadeia de galactomanana de origem vegetal ..... 19
- Figura 2 - *Cassia grandis*: (A) Flor, (B) frutos, (C) semente e (D) endosperma ..... 23
- Figura 3 - Camadas da epiderme, estrato córneo, estrato granuloso, estrato espinhoso e estrato basal e suas células..... 27
- Figura 4 - Estratos e anexos da pele ..... 28
- Figura 5 - Quatro fases de cicatrização de feridas: hemostasia, inflamação, proliferação e fase de maturação ou remodelação ..... 29
- Figura 6 - Tipos de queimaduras..... 36
- Figura 7 - Profundidade de penetração nos tecidos pela TFBM nos diferentes comprimentos de onda ..... 39

### Capítulo II- ARTIGO 1- Efeito do gel de galactomanana obtida das sementes de *Cassia grandis* associado à fotobiomodulação no processo de cicatrização de queimaduras de segundo grau

- Fig. 1 - Efeito da concentração (1,5 – 50,0 µg/mL) do gel de galactomanana na viabilidade em células L-292 (fibroblastos murinos) pelo método do MTT, após 72h a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>; Controle negativo (CN): não recebeu o tratamento com o gel de galactomanana. Resultados expressos em relação ao controle negativo após aplicar ANOVA seguido do pós teste de Dunnett..... 55
- Fig. 2 - Efeito da concentração do gel de galactomanana (2500-78,12 µg/mL) no percentual de hemólise em eritrócitos de ratos

Wistar machos (2%); controle negativo (CN, solução salina) e controle positivo (CP, Triton X-100 a 1%). \* $p < 0.0001$ , em relação ao controle positivo, obtido pelo teste de variação do ANOVA seguido pelo teste de Dunnett ..... 57

Fig. 3 - Porcentagem de confluência da ferida indicando a taxa de fechamento da ferida em linhagem L-929, tratada com o gel de galactomanana na concentração de 50  $\mu\text{g/mL}$  no intervalo de tempo (0 – 72 h) ( $\blacktriangle$ ); CP: ( $\blacksquare$ ) Controle Positivo (meio DMEM suplementado com SFB 10%); CN: ( $\bullet$ ) Controle negativo (meio DMEM sem SFB)..... 59

Fig. 4 - Aspectos macroscópicos das feridas induzidas por queimadura de segundo grau, no momento do procedimento (dia 0) e nos demais dias de avaliação (3, 14 e 21), para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG)..... 60

Fig. 5 - Índice de contração das feridas induzidas por queimadura para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG) ao longo de 21 dias de experimento. (\*) representa diferença estatística ( $p < 0,05$ ) do GL em relação a todos os demais grupos experimentais. (\*\*) representa diferença estatística ( $p < 0,05$ ) quando comparado ao grupo controle (GC)..... 63

Fig. 6 - Observações celulares coradas em HE das feridas induzidas por queimadura para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG), respectivamente, com 3 (A, B, C e D), 14 (E, F, G e H) e 21 (I, J, K e L) dias de experimento. Legenda: destruição do estrato epitelial (\*), infiltrado inflamatório (\*\*), material proteico amorfo (seta preta), colágeno modificado (seta pontilhada), área de reepitelização (seta azul), área de remodelação estromal (seta

	vermelha). Barras de escala: 5 $\mu$ m.....	65
Fig. 7 -	Observações celulares coradas com TM das feridas induzidas por queimadura para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG), respectivamente, com 3 (A, B, C e D), 14 (E, F, G e H) e 21 (I, J, K e L) dias de experimento. Barras de escala: 5 $\mu$ m.....	68

**Capítulo III- ARTIGO 2- Biodegradable Synthetic Polymers in Application: A Review**

Fig 1 -	Health applications of biodegradable synthetic polymers.....	84
Fig 2 -	Comparative diagram between the wound healing phases (3,7 and 14 days) with the respective images of skin lesions in rats without and with treatment with polymeric formulations, which were photographed to a constant distance at the indicated times.....	85

**Capítulo IV- CAPÍTULO DE LIVRO - Health Application of Biodegradable Polymers**

Fig 15.1 -	Antipathogenic action that some biodegradable polymers can present and their possible mechanisms of action: (A) interacting with molecules on the pathogen surface and inducing intracellular signals, (B) being internalized and acting in the pathogenic internal environment or (C) directly destabilizing the membrane.....	100
Fig 15.2 -	Mechanism of action antitumoral natural polymers: (A) recognition of proteins and carbohydrates exhibited by tumor cells and (B) antiangiogenic action in tumor sites.....	101

## LISTA DE TABELAS

---

### **Capítulo III- ARTIGO 2- Biodegradable Synthetic Polymers in Application: A Review**

Table 1 -	Some biodegradable synthetic polymers used in biomedical applications.....	81
-----------	--	----

### **Capítulo IV- CAPÍTULO DE LIVRO - Health Application of Biodegradable Polymers**

Table 15.1-	Natural biopolymers applied in the health field .....	98
-------------	---	----

## SUMÁRIO

---

	CAPÍTULO I .....	13
1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1.	OBJETIVO GERAL .....	16
2.1.1	Objetivos Específicos.....	16
3	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1	POLISSACARÍDEOS.....	17
3.1.1	Galactomananas.....	18
3.1.1.1	<i>Galactomanana da Cassia grandis</i> .....	22
3.2	FERIDAS DE PELE E PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO .....	25
3.2.1	Sistema Tegumentar (Pele).....	26
3.2.2	Cicatrização de Feridas.....	29
3.3	QUEIMADURAS. ....	33
3.4	LASERTERAPIA / FOTOBIMODULAÇÃO.....	37
	CAPÍTULO II. ....	41
4	<b>ARTIGO 1- Efeito do gel de galactomanana obtida das sementes de <i>Cassia grandis</i> associado à fotobiomodulação no processo de cicatrização de queimaduras de segundo grau</b> .....	42
	CAPÍTULO III .....	76
5	<b>ARTIGO 2- <i>Biodegradable Synthetic Polymers in Biomedical Application: A Review</i></b> .....	77
	CAPÍTULO IV.....	95
6	<b>CAPÍTULO DE LIVRO- <i>Health Applications of Biodegradable Polymers</i></b> .....	96
7	<b>CONCLUSÃO</b> .....	108
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	109
	<b>ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA</b> .....	120
	<b>ANEXO B- MENSAGEM DA <i>CRC Press</i></b> .....	121

# CAPÍTULO I

## 1 INTRODUÇÃO

---

Os polímeros naturais, ou biopolímeros, constituem uma grande parte da biomassa em nosso planeta, sendo compostos por longas cadeias de monômeros do mesmo tipo ou de combinações de monômeros diferentes. Os polissacarídeos são exemplos de biopolímeros compostos por estruturas secundárias que desempenham importantes funções em plantas, animais e microrganismos. Devido à sua plurivalência e biodegradabilidade, alguns polissacarídeos estão sendo amplamente utilizados em indústrias biomédicas como materiais sustentáveis e renováveis (TORRES et al., 2019).

A procura por fontes renováveis para desenvolver hidrogéis à base de polissacarídeos tem despertado o interesse de muitos pesquisadores na área da engenharia biomédica, principalmente por serem gradualmente absorvidos pelo corpo humano e por alguns deles serem capazes de regenerar tecidos através da interação com células imunológicas, hidratando lesões e acelerando o processo cicatricial, como por exemplo as galactomananas.

As galactomananas são polissacarídeos constituídos por várias unidades dos monossacarídeos manose e galactose unidos por ligações glicosídicas, obtidos de diferentes fontes (vegetais, fungos e algas). As obtidas de fontes vegetais são encontradas, principalmente, no endosperma de sementes de plantas, que exercem funções de reserva de energia e hidratação e têm-se destacado por apresentar um elevado rendimento de extração. Em decorrência das suas propriedades particulares, como massa molar elevada, solubilidade em água e caráter não-iônico (POLLARD et al., 2010), podem atuar como estabilizador de emulsão e na preparação de filmes e em sistemas mistos como hidrogéis (ALBUQUERQUE et al., 2014; SOARES, 2015; RODRIGUEZ-CANTO et al., 2020), apresentando vasta aplicação na área da biotecnologia, especialmente nas indústrias farmacêutica, cosmética (ALBUQUERQUE et al., 2016) e alimentícia (ANDRADE et al., 2018a,b).

A galactomanana extraída de sementes de *Cassia grandis*, espécie amplamente encontrada na região da mata do Estado de Pernambuco, é capaz de formar gel na concentração superior a 1,7% (p/v) (ALBUQUERQUE et al., 2014) e suas membranas/filmes, elaboradas na concentração de 0,8% (p/v), foram capazes de acelerar o processo de cicatrização in vivo em ratos Wistar (ALBUQUERQUE et al., 2017).

A cicatrização de feridas é um processo complexo e dinâmico composto por vários eventos celulares que devem ser fortemente coordenados para reparar eficientemente o tecido danificado (WILKINSON e HARDMAN, 2020). Lesões causadas através de trocas térmicas, conhecidas como queimaduras, são provocadas pelos extremos de temperatura (frio ou calor), além de reações químicas, elétricas ou radiação. As queimaduras, consideradas um problema de saúde pública global, são responsáveis por cerca de 180 mil mortes anuais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Sociedade Brasileira de Queimaduras (SBQ), são registrados cerca de 1 milhão de casos de queimaduras por ano e, dependendo da gravidade das lesões, 200 mil casos são atendidos nos serviços de emergência enquanto 40 mil são hospitalizados, gerando altos custos para os serviços de saúde. No Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) destina cerca de R\$ 55 milhões/ano para o tratamento de pacientes vítimas de acidentes com queimaduras, cuja frequência média anual atinge 2 milhões. Cerca de 100 mil pessoas recebem atendimento hospitalar e 2500 vão a óbito (DALLE-CORTE et al., 2019).

Após a ocorrência da queimadura, o organismo responde com uma série de eventos fisiológicos, numa tentativa de restabelecer a continuidade epitelial. É sabido que a presença de hidrocoloide, como hidrogéis, nos locais de queimadura facilitam o desbridamento autolítico, resultando no aumento na proliferação celular, assim como a laserterapia, conhecida como terapia de fotobiomodulação (TFBM), por auxiliar no desempenho a nível celular, modulando a proliferação dos fibroblastos, a fixação e a síntese de colágeno e procolágeno, a promoção da angiogênese com a melhora do metabolismo energético nas mitocôndrias (LIMA et al., 2022), exibindo um tecido cutâneo de melhor qualidade (ANDRADE et al., 2020) e, conseqüentemente contribuindo para a melhoria da qualidade de vida física e psicológica do indivíduo.

Assim, visando uma terapia mais eficiente na cura de lesões causadas por queimaduras, e na busca por contribuir com o fortalecimento da indústria farmacêutica, médica e cosmética na região Nordeste do país, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o poder cicatrizante do gel da galactomanana extraída das sementes de *C. grandis*, associado ou não à TFBM, no processo in vivo de cicatrização de feridas por queimaduras de 2º grau em ratos Wistar.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade cicatrizante do gel de galactomanana extraída das sementes de *Cassia grandis* em queimaduras de segundo grau, induzidas em ratos Wistar, tratadas com o gel associado ou não à terapia de fotobiomodulação (TFBM).

#### 2.1.1 Objetivos Específicos

- Extrair a galactomanana contida nas sementes da *Cassia grandis*;
- Obter o gel da galactomanana a 1,7% (p/v);
- Avaliar o potencial citotóxico e hemolítico do gel de galactomanana;
- Avaliar a atividade cicatrizante *in vitro* do gel de galactomanana;
- Avaliar a atividade cicatrizante *in vivo* do gel de galactomanana associado ou não à TFBM, em ratos Wistar;
- Acompanhar a evolução do processo de cicatrização do ponto de vista clínico e microbiológico;
- Acompanhar a cicatrização do ponto de vista histopatológico, através de biopsia, nos dias 3, 14 e 21 do pós-operatório.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

---

#### 3.1 POLISSACARÍDEOS

Os polissacarídeos são polímeros naturais extraídos de plantas, algas, animais, fungos ou obtidos por fermentação que, por apresentarem diversas atividades biológicas, podem ser aplicados em uma ampla gama de usos, desde a área alimentícia até a indústria biomédica (ALBUQUERQUE et al., 2016). Suas atividades biológicas dependem de sua estrutura e propriedades físico-químicas, incluindo solubilidade em água, composição de monossacarídeos, grau de ramificação, estrutura e peso molecular (XIA et al., 2021).

Estruturalmente, os polissacarídeos são complexos e diversos e, em comparação a outras biomoléculas, possuem diversos grupos funcionais, incluindo –OH, –COOH, –NH<sub>2</sub> e –OSO<sub>3</sub>, tornando-os uma atrativa classe de polímeros com propriedades ajustáveis. As características estruturais envolvem composição química, massa molecular, esqueleto, comprimento, grau de ramificação, polimerização, ligação glicosídica e conformação 3D (LUO, 2020; HEIDARIAN et al., 2020).

Os polissacarídeos são macromoléculas biológicas compostas por mais de 20 açúcares simples (monossacarídeos) sequencialmente ligados através de ligações glicosídicas; podem ser classificados em várias classes com base na estrutura (lineares ou ramificados), função (armazenamento energético, estrutural e comunicação celular), composição (homo ou heteropolissacarídeos) e carga (neutros, aniônicos e catiônicos). Em termos de fonte de polissacarídeos, as plantas são uma das fontes mais ricas, compostas principalmente de celulose, hemicelulose, pectina e amido.

Basicamente, o isolamento, a purificação e a utilização dos polissacarídeos dependem de suas características estruturais. As principais estruturas dos polissacarídeos de produtos naturais são bastante complexas e diversas, porém as estruturas básicas de sua cadeia principal são frequentemente glucano, frutano, xilano, manano, galactano, etc., ou um polímero de dois ou vários monossacarídeos (por exemplo, galactomanana, pectina). Assim, devido à enorme heterogeneidade estrutural, as abordagens de isolamento e purificação são o passo inicial para estudos sobre a estrutura dos polissacarídeos, sua farmacologia e as relações estrutura-

atividade, uma vez que essas macromoléculas desempenham múltiplos efeitos terapêuticos (SHI, 2016).

Estudos recentes mostram que os polissacarídeos extraídos de produtos naturais desempenham um papel em várias atividades fisiológicas, como reconhecimento celular, diferenciação, metabolismo e resposta imune, além de exercer ação antioxidante, anti-tumoral, efeitos anti-inflamatórios, anticoagulantes, antibacterianos, hipolipidêmicos, imunomoduladores e hepatoprotetores (CHEN et al., 2020; JI et al., 2020; HOU et al., 2020; SONG et al., 2019).

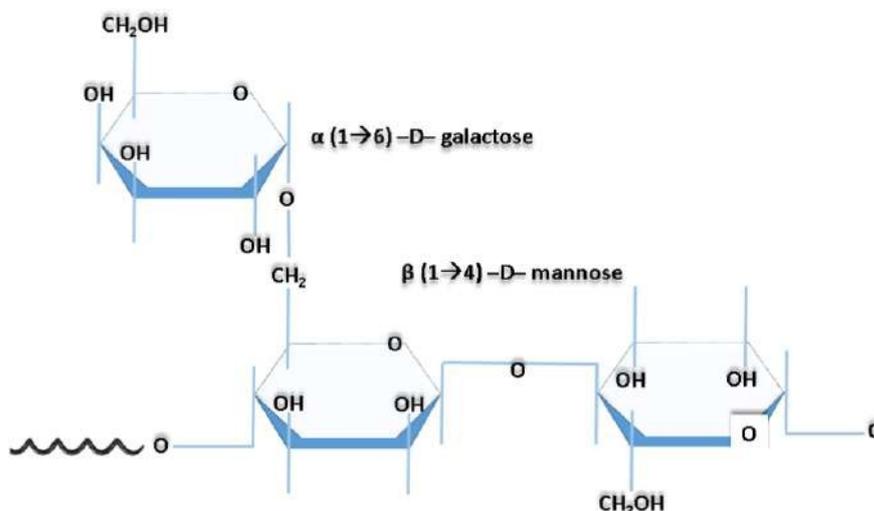
Os polissacarídeos naturais isolados de plantas e fungos são usados como matérias-primas nas indústrias alimentícia e farmacêutica devido a suas propriedades de pouca ou nenhuma toxicidade e efeitos colaterais mínimos; entretanto, muitos polissacarídeos naturais possuem baixa bioatividade quando comparados aos medicamentos sintéticos devido à sua estrutura e propriedades físico-químicas (CHAKKA e ZHOU, 2020; LAVUDI e SHTHATI, 2020). A presença dos diversos grupos funcionais dos polissacarídeos permite o ajuste de suas propriedades e, também, a personalização de suas funcionalidades, tais como a preparação de uma gama de novas bio-nanoestruturas (BILAL et al., 2021).

Por se comportarem como “materiais inteligentes/espertos/responsivos” e oferecerem uma variedade de propriedades que podem ser exploradas em diversas aplicações, os polissacarídeos naturais têm ganhado cada vez mais atenção (HOSSAIN et al., 2022). Dos vários polissacarídeos existentes, as galactomananas, ao longo das últimas décadas, têm atraído grande atenção pelo amplo uso nas indústrias alimentícia, farmacêutica, biomédica e cosmética devido às suas propriedades funcionais e terapêuticas.

### 3.1.1 Galactomananas

As galactomananas são polissacarídeos heterogêneos não iônicos biocompatíveis e biodegradáveis de ocorrência natural, compostos por uma cadeia linear com unidades  $\beta$ -1,4-D-manopirranose substituídas por unidades ligantes de  $\alpha$ -1,6-D-galactopirranose (Figura 1), que diferem uma da outra pela relação manose/galactose (M/G) (CERQUEIRA et al., 2011; YADAV e MAITI., 2020).

Figura 1. Segmento representativo de uma cadeia de galactomanana de origem vegetal.



Fonte: ALBUQUERQUE et al., 2016.

Esses polissacarídeos são ricos em grupos hidroxila, o que permite que eles se liguem e absorvam água; ainda, por serem ricos em grupos cis-OH da manose, permitem a agregação de cadeia a cadeia via pontes de hidrogênio, de modo que a hidratação se torna mais complexa se a interligação cruzada ocorrer. Por substituição com galactose, a natureza estabelece impedimento estérico entre as moléculas e, assim, aumenta a solubilidade em água (PRAJAPATI et al., 2013). Isto é, a solubilidade em água das galactomananas aumenta com o aumento do teor de galactose (ou seja, com a diminuição da razão M/G), presumivelmente porque os substituintes de galactose inibem o empacotamento no estado sólido das cadeias de manana e contribuem para a entropia conformacional no estado de solução pela liberdade de rotação sobre as ligações (1→6). Um nível de substituição de galactose de 10% é necessário para a solubilidade em água (SILVEIRA e BRESOLIN, 2011). A relação M/G, geralmente entre 1 e 5,0, varia consideravelmente dependendo da fonte de galactomanana (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005; CERQUEIRA et al., 2011).

As galactomananas são fibras dietéticas solúveis comuns em plantas leguminosas e têm sido reportadas por suas atividades biológicas, tais como atividade antidiabética, potenciador imunológico e cicatrizante. Recentemente, Li et al. (2021) reportaram a presença de atividade antioxidante e antidiabética, assim como melhora da microbiota intestinal ao avaliarem as galactomananas de diferentes fontes. Ainda, porque as fibras dietéticas diminuem as concentrações plasmáticas pós-

prandiais de glicose, insulina e triglicerídeos, apresentam um efeito clínico hipocolesterolêmico relevante (PRAJAPATI et al., 2013).

Uma das grandes vantagens das galactomananas é sua capacidade de formar soluções muito viscosas em concentrações relativamente baixas que são apenas levemente afetadas pelo pH, força iônica e processamento de calor (SITTIKIYOTHIN, TORRES e GONÇALVES, 2005). A viscosidade das galactomananas tende a permanecer constante em um amplo intervalo de pH (1 a 10,5), principalmente devido ao caráter neutro de suas moléculas, e não se espera que suas propriedades mudem com a força iônica. No entanto, alguma degradação pode ocorrer sob condições altamente ácidas e alcalinas a altas temperaturas. A viscosidade e a estabilidade das soluções de galactomanana após o armazenamento dependem do tempo e da temperatura utilizados durante a preparação da solução formadora de filme. O aquecimento das galactomananas a temperaturas acima de 60 °C tende a fornecer uma alta viscosidade inicial, mas leva a uma estabilidade inferior (em termos de mudanças dependentes de tempo na viscosidade) (SRIVASTAVA e KAPOOR, 2005). As soluções de galactomanana geralmente exibem um comportamento não newtoniano, no qual a viscosidade diminui com o aumento da taxa de cisalhamento (GARTI et al., 1997; ALBUQUERQUE et al., 2014).

As principais fontes de obtenção de galactomanana são a partir de fontes microbianas e principalmente de plantas, onde desempenham função de reserva e cuja principal fonte é o endosperma das sementes, com destaque para os membros da família Leguminosae (CERQUEIRA et al., 2011), que possui espécies espalhadas por todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais, que variam de árvores emergentes até ervas diminutas e efêmeras (LEWIS et al., 2005).

As galactomananas podem ser obtidas em sua forma pura, com alto rendimento, por extração aquosa do endosperma das sementes de leguminosas (ALBUQUERQUE et al., 2016). Assim, por ser um recurso vegetal abundante, a produção de galactomanana em escala industrial tem sido amplamente visada, especialmente nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, inclusive como materiais promissores para serem utilizados como matriz de revestimento em processos de microencapsulação visando a liberação controlada de moléculas bioativas (PASCOAL et al., 2021), como revestimento eficiente capaz de manter a qualidade pós-colheita de frutos, atuando como barreira gasosa semipermeável, reduzindo a perda de massa e mantendo a qualidade das mangas Tomas Atkins por

um período mais longo de armazenamento (AGUIAR et al., 2011), assim como matriz de afinidade para purificação de lectinas ligantes de galactose (MOREIRA et al., 1998; SESHAGIRIRAO et al., 2005; GARROS-ROSA et al., 2006; BRAGA et al., 2011).

Geralmente, o peso molecular de galactomananas isoladas de sementes de leguminosas é tão alto quanto milhares de Dalton (Da, 1 Da = 1 g/mol) (TAO et al., 2021), com peso molecular médio na faixa de 1 a  $2 \times 10^6$  Da (CERQUEIRA et al., 2009). As galactomananas industriais são isoladas comercialmente das sementes de plantas guar, alfarroba, feno-grego e tara (KONTOGIORGOS, 2019).

Algumas indústrias utilizam a galactomanana por ser uma fonte barata, ecológica, não-tóxica e considerada GRAS (Geralmente Reconhecida como Segura). Por exemplo: na área alimentar, são comumente utilizadas como espessantes, estabilizantes e substitutos de gorduras em sorvetes, molhos, filmes ou revestimentos para prolongar a vida útil de vários alimentos (GERMANO et al., 2019). Também são destinadas para uma variedade de aplicações nas indústrias de laticínios, panificação, confeitaria, carnes e bebidas com o principal objetivo de aumentar a viscosidade, controlar a separação de fases e a sinérese e estruturar a água com a formação de uma rede tridimensional, enquanto as aplicações avançadas incluem a formação de materiais de embalagem biodegradáveis e o uso como veículos para entrega de produtos bioativos (KONTOGIORGOS, 2019). Na indústria farmacêutica, as galactomananas são utilizadas em diversas formas, como comprimidos ou cápsulas, hidrogéis e filmes, além do simples uso como excipiente inerte, onde desempenham papel na modificação da liberação do fármaco, principalmente no ambiente colônico, como matriz ou material de revestimento (SILVEIRA e BRESOLIN, 2011). Na indústria têxtil, elas são usadas para engrossar os corantes na impressão e tingimento de fibras, tecidos e carpetes. No campo dos explosivos, são usadas para espessar as soluções salinas de nitrato, que são os componentes básicos das formulações explosivas de lama, pois são composições mais seguras de usar (SITTIKIYOTHIN, TORRES e GONÇALVES, 2005).

As galactomananas, quando hidratadas, ocupam um grande volume hidrodinâmico em solução aquosa e controlam o comportamento reológico de toda a solução, por isso, são consideradas agentes gelificantes, enquanto mostram interações sinérgicas com outros polissacarídeos, como agar, xantana, carragenana e goma de mostarda amarela, formando uma rede de gel tridimensional em condições

apropriadas (FERNANDES, GONCALVES e DOUBLIER, 1994; SCHORSCH, GARNIER e DOUBLIER, 1997).

Os nanomateriais à base de galactomanana também têm sido testados para vacinação oral, administração oral de insulina, direcionamento de células cancerígenas e macrófagos, administração controlada de drogas, extração de metais pesados e aplicações de curativos (YADAV e MAITI, 2020). Ainda, segundo esses autores, as galactomananas da goma cássia, goma tara, Delonix, *Leucaena leucocephala* e *Punica granatum* estão entre os materiais menos estudados para aplicações biológicas e que a exploração de nanomateriais à base de galactomanana para uso em aplicações farmacêuticas são importantes para o crescimento econômico e social de países em desenvolvimento que possuem uma rica biodiversidade.

Assim, percebe-se que existe uma tendência mundial relacionada às pesquisas desenvolvidas sobre a utilização das galactomananas, indicando a grande necessidade de encontrar sementes que constituam novas fontes alternativas para extração deste polissacarídeo, especialmente para produção industrial.

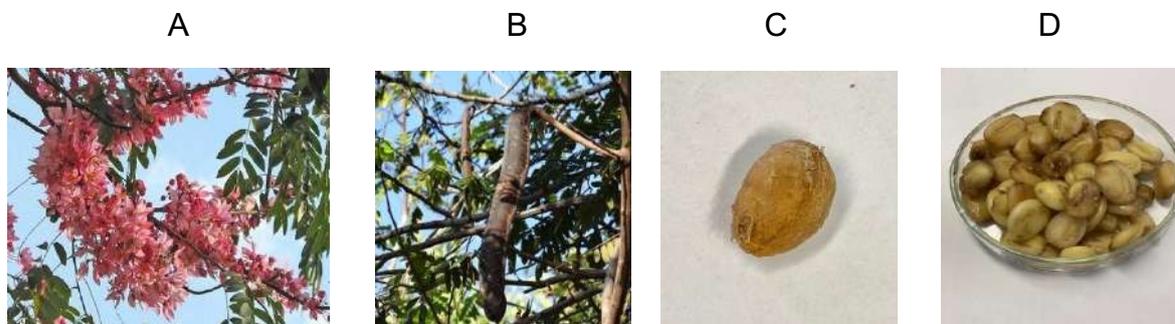
Dos principais biomas mundiais, o território brasileiro possui ao todo seis biomas (Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pampa e Pantanal), o que nos permite afirmar que o Brasil possui fontes ricas de espécies vegetais diversificadas para a extração de galactomananas a partir de sementes que poderiam alavancar a comercialização deste polissacarídeo, além de incluir a melhoria do valor agregado pela utilização de sementes sem capacidade germinativa. Apesar de ainda ser pouco explorada na literatura científica, as sementes de *C. grandis* é amplamente encontrada na região da mata do Estado de Pernambuco.

#### 3.1.1.1 Galactomanana da *Cassia grandis*

A *C. grandis*, uma árvore de médio a grande porte (15 a 20 metros de altura), pertencente à família Leguminosae e subfamília Caesalpinioideae, (Figura 2), encontra-se difundida nas Antilhas e na América do Sul. No Brasil é principalmente cultivada no paisagismo urbano pela sua beleza, rápido crescimento e rusticidade, e conhecida por diversos nomes populares, tais como Cássia-rosa, Acácia, Marimari, Cássia-grande, Fedegoso, Marizeiro, Mata-pasto, Cássia, dentre outros (Jardinheiros.net). Suas folhas são inodoras e quase insípidas ao contrário do fruto (vagem), que tem cheiro e sabor fortes (Árvore do Brasil). É uma planta medicinal tradicionalmente usada para o tratamento de Diabetes *mellitus*, anemia e úlceras de

pele. A polpa do fruto de *C. grandis* contém triterpenos e esteroides, óleos essenciais, açúcares redutores, aminoácidos e aminas, saponinas, fenol e taninos, flavonoides e cumarinas (LAFOURCADE et al., 2014).

Figura 2. *Cassia grandis*: (A) Flor, (B) frutos, (C) semente e (D) endosperma



Fonte: <https://www.sitiodamata.com.br/acacia-rosa-cassia-grandis.html> e do acervo do autor.

O extrato do fruto de *C. grandis* (CgE) apresenta efeito antioxidante mais potente que o do ácido ascórbico, além de atoxicidade (LAFOURCADE et al., 2018). Diferentes formulações farmacêuticas contendo o CgE revelaram que suas nanodispersões permitiram liberação lenta dos compostos antioxidantes do extrato presentes no núcleo de nanopartículas contribuindo para o efeito antioxidante e a atividade inibidora de lipase e  $\alpha$ -glicosidase, sugerindo um promissor produto nanotecnológico para o tratamento de diabetes e no manejo da obesidade (PRADA et al., 2019). A formulação como comprimidos com efeito antioxidante, atividade inibitória da  $\alpha$ -glicosidase e efeito hipoglicêmico também pode ser sugerida como um produto promissor a ser usado para pacientes diabéticos, uma vez que a polpa do fruto desta espécie é um produto abundante e inexplorado, que ocorre naturalmente em áreas tropicais da América Central e do Sul (PRADA et al., 2020).

As sementes de *C. grandis* se apresentam como uma fonte alternativa para as galactomananas convencionais, com rendimento de extração na faixa de  $36 \pm 8\%$  (p/p), M/G = 2,44, e com as mesmas características de gomas comerciais e um potencial de aplicação biotecnológico principalmente devido à sua capacidade de atuar como líquido ou como gel, sendo assim úteis para as indústrias farmacêuticas e alimentícias (ALBUQUERQUE et al., 2014).

A caracterização reológica da galactomanana extraída das sementes de *C. grandis* exibiu platôs newtonianos seguidos por zonas de afinamento de cisalhamento

característica de soluções poliméricas até 1,5% (p/v) e, acima deste valor, o sistema apresentou tensão de escoamento associado a um gel fraco. Na concentração de 1,7% (p/v) foi possível obter o valor de concentração da galactomanana para a transição solução-gel. Esses resultados revelam que a galactomanana apresenta características reológicas adequadas para aplicações em produtos farmacêuticos, indústrias biomédicas, cosméticas e alimentícias (ALBUQUERQUE et al., 2014). O gel de galactomanana das sementes de *C. grandis* também foi avaliado como matriz imobilizadora para biomoléculas, tendo como modelo a lectina de *Cratylia mollis* (Cramoll). Os resultados, combinados com as características de espessamento e estabilização, tornam este gel uma promissora matriz imobilizadora que pode ser explorada para aplicações clínicas e cosméticas (ALBUQUERQUE et al., 2016).

Recentemente, Carvalho et al. (2021) reportaram a extração, caracterização e comportamento reológico da galactomanana de sementes de *C. grandis*, (Arbocenter Comércio de Sementes, SP/Brasil) obtida por 3 métodos distintos de extração. Eles concluíram que o método descrito por Albuquerque et al. (2014), com algumas modificações, apresentou o menor rendimento de extração (13,4% p/p), porém, os melhores resultados para razão M/G = 1,1, massa molar ( $1.01 \times 10^6$  Da) e comportamento reológico. Além disso, essa galactomanana mostrou potencial para ser aplicada em condições típicas de reservatórios de petróleo com temperaturas até 80 °C, apresentando-se como uma fonte promissora para recuperação aprimorada de óleo, uma vez que atendeu ao critério de viscosidade para esta aplicação.

Por possuir o poder de aumentar a viscosidade dos alimentos, a galactomanana de *C. grandis* pode apresentar diversas aplicações na indústria alimentícia, como substituto de gordura ou agente estabilizante, espessante e emulsionante. Por exemplo, esta mesma galactomanana de *C. Grandis* foi utilizada como substituinte parcial de gordura (margarina) em bolos do tipo esponja, isso é, uma substituição de 75% de gordura por 1,0% da galactomanana foi capaz de manter a microestrutura da superfície, comportamento reológico e aceitação sensorial semelhantes ao da formulação original contendo 100% de gordura (ANDRADE et al., 2018a), bem como aditivo em bolo sem glúten à base de feijão-fava que revelou que as amostras contendo 1,0% da galactomanana + 99% de feijão-fava não influenciou as características sensoriais dos bolos à base de favas (100%), tendo estas uma melhor aceitação sensorial quando comparadas com o bolo da referência comercial

(pré-mistura comercial sem glúten) (ANDRADE et al., 2018b), contribuindo assim em ambos os casos na elaboração de novos produtos alimentícios com apelo funcional.

Um novo hidrogel à base de dois polissacarídeos naturais foi preparado em meio aquoso com galactomanana (1,7% p/v) de sementes de *C. grandis* e k-carragenana comercial (0,5% p/v), contendo 0,2 M CaCl<sub>2</sub> a pH 5,0, e um estudo de vida de prateleira foi realizado ao longo de 90 dias de armazenamento a 4 °C, avaliando pH, cor, contaminação microbiana e reologia. Os resultados demonstraram que este hidrogel foi estável e pode ser sugerido para aplicações nas áreas médica e cosmética (SOARES, 2015).

Na área da saúde, no que diz respeito ao desenvolvimento de diferentes curativos para tecidos danificados, filmes de galactomanana (1,7% p/v) de sementes de *C. grandis*, associados ou não a Cramoll, foram aplicados em feridas cutâneas de ratos para avaliação do processo cicatricial durante 14 dias. Os resultados obtidos revelaram que, as feridas dos grupos testados apresentaram melhora da granulação, formação de epitélio e regeneração do colágeno. Esses resultados podem estar associados às propriedades inatas da galactomanana, que pode introduzir a via de sinalização mais rápida, assemelhando-se à matriz extracelular (MEC) natural e atraindo fibroblastos para a camada dérmica. Além disso, as características imunomoduladoras e mitogênicas da Cramoll aceleraram o processo de cicatrização de feridas, confirmadas por avaliação de citotoxicidade e análises imunohistoquímicas. Assim, os resultados sugerem um uso promissor dos filmes como curativos tópicos de feridas (ALBUQUERQUE et al., 2017).

### 3.2 FERIDAS DE PELE E PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

A ferida é uma interrupção na continuidade de um tecido corpóreo. Tal interrupção pode ser provocada por traumas mecânicos, térmicos, químicos e radiogênicos. Pode ser definida como qualquer ruptura da integridade da pele, membrana mucosa ou tecido de órgão. Existe uma distinção entre feridas simples que estão confinadas à pele e feridas complicadas que são mais profundas e que envolvem lesões nos músculos, nervos e vasos. (KUJATH e MICHELSEN, 2008).

As feridas na pele podem impedir a função da pele como barreira física, química e bacteriana. Portanto, o reparo de feridas é um setor crucial da indústria médica com o desenvolvimento contínuo de estratégias para tratar feridas. Vários curativos para feridas têm sido estudados e comercializados para prevenir a penetração de sujeira e

micróbios, manter um ambiente úmido, fechar a ferida aberta e permitir a penetração adequada de gás na ferida. Assim, a ocorrência comum de lesões dérmicas tornou o curativo um componente crítico na cicatrização de feridas (AJITERU et al., 2022, BISHT et al., 2022).

Para entender e tratar corretamente os diversos tipos de feridas, é necessário uma série de conhecimentos sobre a pele, fisiologia tegumentar, processo de cicatrização, tipos de curativos e, coberturas que podem ser utilizados.

### 3.2.1 Sistema tegumentar (Pele)

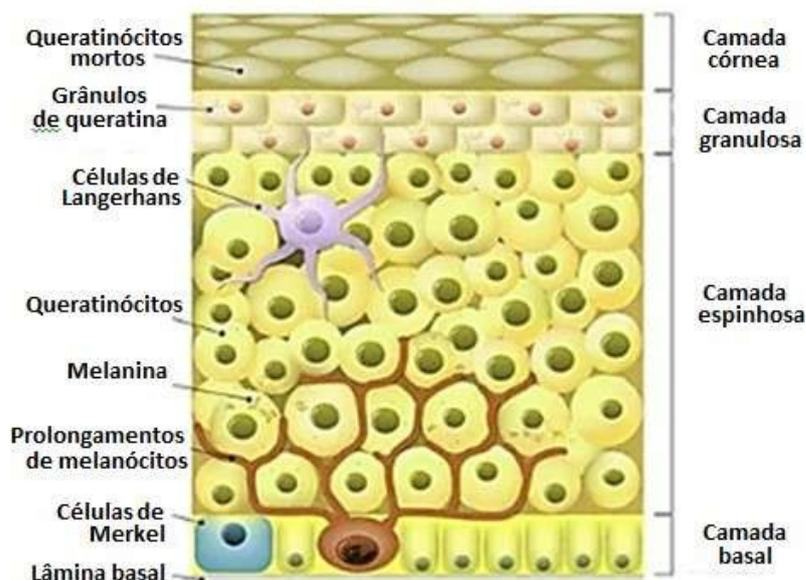
O Sistema tegumentar é o conjunto de estruturas que formam o revestimento externo dos seres vivos. Esse revestimento externo é chamado de tegumento ou integumento e nos vertebrados também é chamado de pele.

A pele é o maior órgão do corpo humano, cobrindo toda a superfície do corpo. É a principal interface entre os ambientes interno e externo que atua como uma barreira para proteger o corpo de uma variedade de estressores ambientais (calor, luz, lesões e infecção) e manter a homeostase, evitando a perda desregulada de água e eletrólitos, protegendo contra microrganismos patogênicos. A pele é dividida em três camadas: epiderme, derme e hipoderme ou tecido subcutâneo (ROGER et al., 2019; SOUCI e DENESVRE, 2021; KIM e DAO, 2022; AJITERU et al., 2022). Além de sua função de barreira, esse sistema desempenha muitas funções complexas, como regulação da temperatura corporal, manutenção do fluido celular, síntese de vitamina D e detecção de estímulos. Os vários componentes desse sistema trabalham em conjunto para realizar essas funções – por exemplo, a regulação da temperatura corporal ocorre por meio de termorreceptores que levam ao ajuste do fluxo sanguíneo periférico, do grau de transpiração e dos pelos corporais (KIM e DAO, 2022).

A epiderme é um epitélio escamoso estratificado composto principalmente por queratinócitos (95%) que representa a camada externa resistente da pele e atua como a primeira linha de defesa contra o ambiente externo. Os queratinócitos originam-se na camada basal, produzem queratina e são responsáveis pela formação da barreira hídrica epidérmica através da produção e secreção de lipídios. Os queratinócitos também regulam a absorção de cálcio pela ativação de precursores de colesterol pela luz UVB para formar vitamina D (YOUSEF, ALHAJJ e SHARMA, 2022). Nos mamíferos, essas células epiteliais especializadas estão organizadas em quatro camadas, nomeadamente da mais interna à camada mais externa: a basal (ou estrato

germinativo), espinhosa (ou estrato espinhoso), granular (ou estrato granuloso) e córnea (ou estrato córneo) (KHAVKIN, 2011; SOUCI e DENESVRE, 2021) (Figura 3).

Figura 3- Camadas da epiderme, estrato córneo, estrato granuloso, estrato espinhoso e estrato basal e suas células.



Fonte: <https://www.todamateria.com.br/epiderme/> (modificada)

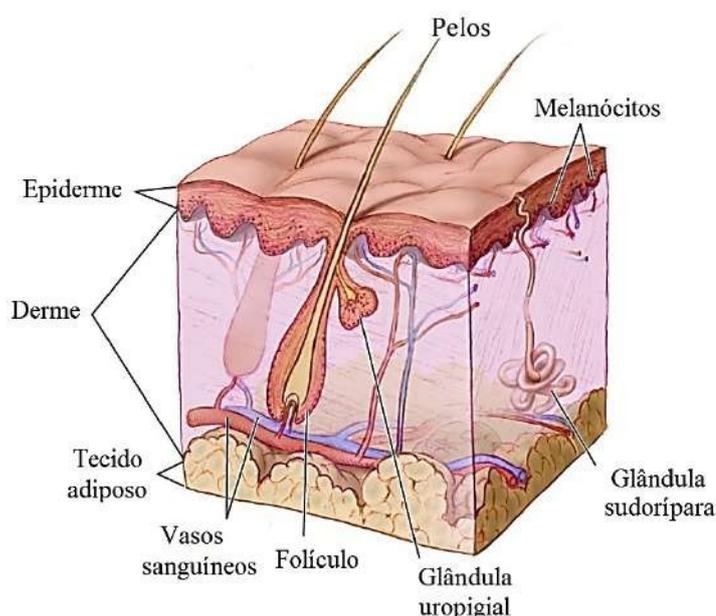
Na camada da epiderme, além dos ceratinócitos (também conhecidos como queratinócitos), existem mais três tipos de células: os melanócitos, que são responsáveis por sintetizar o pigmento melanina; as células de Langerhans, que atuam como elemento fundamental em reações imunes, apresentando antígenos dentro da epiderme e desempenhando um papel importante na cicatrização aguda de feridas; e as células de Merkel, que estão associadas a terminações nervosas sensoriais na pele e podem funcionar como mecanorreceptores (YOUSEF, ALHAJJ e SHARMA, 2022).

A camada epidérmica faz interface com a derme subjacente pela junção dermoepidérmica, facilitando a troca regulada de substâncias (LANGTO et al., 2016), isto é, a derme está ligada à epiderme ao nível da membrana basal. A composição da derme é principalmente fibrosa, composta por fibras colágenas e elásticas. Entre os componentes fibrosos, encontra-se uma "substância fundamental" extracelular amorfa contendo glicosaminoglicanos, como ácido hialurônico, proteoglicanos e glicoproteínas (BROWN e KRISHNAMURTHY, 2022). A derme é dividida em duas camadas: a derme papilar e a derme reticular. A derme papilar é a camada superior,

mais fina, composta por tecido conjuntivo frouxo altamente vascularizado. A camada reticular é a camada profunda, formando uma espessa camada de tecido conjuntivo denso que constitui a maior parte da derme. A derme abriga as glândulas sudoríparas, cabelos, folículos pilosos, músculos, neurônios sensoriais e vasos sanguíneos (YOUSEF, ALHAJJ e SHARMA, 2022).

A hipoderme, ou tecido subcutâneo, também é chamada de fáscia subcutânea e localiza-se abaixo da derme, sendo, uma camada profunda de tegumento e não considerada parte da pele (TORTORA e DERRICKSON, 2009). É formada predominantemente por tecido conjuntivo frouxo e tecido adiposo, desempenhando duas funções principais: isolamento térmico e fixação da pele às estruturas subjacentes (SAMPAIO e RIVITTI, 2014), juntamente com alguns apêndices da pele, como folículos pilosos, neurônios sensoriais e vasos sanguíneos (YOUSEF, ALHAJJ e SHARMA, 2022) (Figura 4).

Figura 4 – Estratos e anexos da pele



Fonte: <https://escolaeducacao.com.br/wp-content/uploads/2020/05/estrutura-da-pele1.jpg>

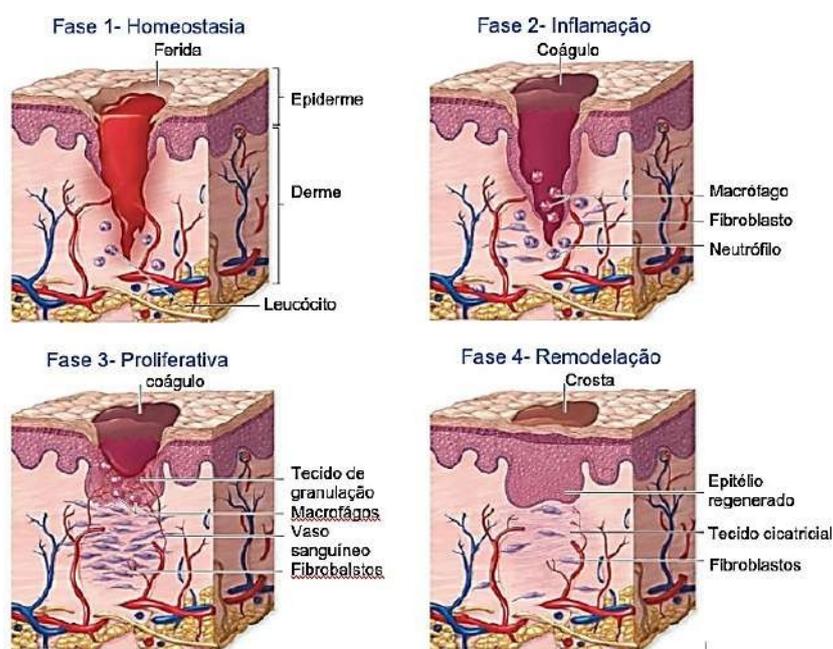
Pela exposição permanente à atmosfera externa, a pele se torna muito desprotegida e, por isso, susceptível a diferentes tipos de lesões, como queimaduras, úlceras e feridas (MIR et al., 2018).

### 3.2.2 Cicatrização de feridas

A formação de cicatrizes é uma consequência comum de lesões na pele que leva a uma ampla gama de efeitos adversos, incluindo deformidades físicas e distúrbios psicológicos (MONAVARIAN et al., 2019). É um processo fisiológico importante para manter a integridade da pele após o trauma, seja por acidente ou por procedimento intencional. O desarranjo nos comportamentos celulares ligados a feridas pode levar ao comprometimento da cicatrização e à formação de feridas crônicas que não cicatrizam, sendo um fardo socioeconômico significativo devido à sua alta prevalência e recorrência. Assim, há uma necessidade urgente de uma melhor compreensão biológica e clínica dos mecanismos que sustentam o reparo de feridas (WILKINSON e HARDMAN, 2020).

A cicatrização da ferida é uma reação fisiológica natural à lesão tecidual. Contudo, não é um fenômeno simples e envolve uma interação complexa entre vários tipos de células, citocinas, mediadores, e o sistema vascular (WALLACE, BASEHORE e ZITO, 2022). Isto é, a cicatrização de feridas envolve quatro fases sucessivas, mas sobrepostas, incluindo hemostasia, fase inflamatória, fase proliferativa e fase de remodelação (Figura 5) (WANG et al., 2018; BUNMAN et al., 2016).

Figura 5: Quatro fases de cicatrização de feridas: hemostasia, inflamação, proliferação e fase de maturação ou remodelação.



Fonte :Modificado de BUNMAN et al., 2016.

O reparo da ferida começa com a hemostasia, onde um tampão plaquetário previne a perda de sangue e uma matriz preliminar de fibrina é formada. Imediatamente após a lesão, ocorre a ruptura do endotelial vascular e a exposição da lâmina basal, o que resulta no extravasamento de componentes sanguíneos e o disparo dos eventos clássicos da coagulação para permitir a formação de um tampão plaquetário que previne a perda de sangue com uma matriz preliminar de fibrina sendo formada (WILKINSON e HARDMAN, 2020). As plaquetas são cruciais no recrutamento de células imunes para o local da lesão e são os principais contribuintes para a hemostasia e a coagulação, as quais são ativadas quando encontram a matriz subendotelial vascular (GOLEBIEWSKA e POOLE, 2015). A agregação de plaquetas segue a vasoconstrição arterial para o revestimento endotelial danificado. A liberação de adenosina 5' difosfato (ADP) resulta na aglomeração de plaquetas e inicia o processo de trombose. Essa vasoconstrição é um processo de curta duração que logo é seguido por vasodilatação, que permite o influxo de glóbulos brancos e mais trombócitos (WALLACE, BASEHORE e ZITO, 2022).

Já o processo inflamatório é um complexo mecanismo de defesa do hospedeiro que visa a eliminação de fatores deletérios e a alteração da homeostase, sendo constituído de vários estágios interdependentes controlados por uma ampla gama de mediadores (PASTWINSKA et al., 2017). Isto é, a fase inflamatória começa com hemostasia e quimiotaxia. Tanto os glóbulos brancos quanto os trombócitos aceleram o processo inflamatório, liberando mais mediadores e citocinas. Além do fator de crescimento derivado de plaquetas, outros fatores promovem a degradação do colágeno, a transformação dos fibroblastos, o crescimento de novos vasos e a reepitelização, que ocorrem ao mesmo tempo, mas de forma sincronizada. Mediadores como serotonina e histamina são liberados das plaquetas e aumentam a permeabilidade celular. O fator de crescimento derivado de plaquetas atrai fibroblastos e, juntamente com o fator de crescimento transformador, aumenta a divisão e multiplicação dos fibroblastos. Os fibroblastos, por sua vez, sintetizam colágeno (WALLACE, BASEHORE e ZITO, 2022). Para a ativação das vias inflamatórias, a cascata de coagulação e o sistema imunológico são necessários para evitar a perda contínua de sangue e fluidos, para remover tecidos mortos e moribundos e para interromper a infecção (GONZALES et al., 2016). A inflamação inata evoluiu como defesa primária contra a invasão de feridas patogênicas; essa resposta imune é iniciada por sinais induzidos por lesão, padrões moleculares associados a danos

(DAMPs) liberados por células necróticas e tecidos danificados e padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) de componentes bacterianos. Esses PAMPs e DAMPs ativam células imunes residentes, como mastócitos, células de Langerhans, células T e macrófagos, ligando-se a receptores de reconhecimento de padrões para induzir vias inflamatórias a jusante (CHEN e DIPIETRO, 2017).

Os neutrófilos, que chegam logo após a lesão, são recrutados para a ferida a partir de vasos danificados, atraídos por quimioatraentes, incluindo interleucina 1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e endotoxinas bacterianas, como lipopolissacarídeo (LPS). Assim, os neutrófilos removem tecido necrótico e patógenos, via fagocitose e liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS), peptídeos antimicrobianos, eicosanóides e enzimas proteolíticas (KOLACZKOWSKA e KUBES, 2013). A resposta inflamatória é complexa, modulada por uma infinidade de fatores intrínsecos e extrínsecos. A inflamação descontrolada e excessiva promove lesão tecidual e retarda a cicatrização. Na ausência de infecção, os neutrófilos da ferida diminuem alguns dias após o início da lesão (BONIAKOWSKI et al., 2017).

Os monócitos circulantes entram no tecido da ferida onde, em resposta ao meio local, diferenciam-se em macrófagos. Embora seja geralmente sugerido que os macrófagos são recrutados após os neutrófilos, há relatos de que uma onda inicial de monócitos foi observada entrando na ferida simultaneamente com os neutrófilos (RODERO et al., 2014). Os macrófagos são células efetoras mestres no reparo tecidual, exibindo versatilidade e alta plasticidade. Eles atingem o pico de infiltração da ferida 72h após a lesão em camundongos e 7 dias após a lesão em humanos (DAS et al., 2015).

Por sua vez, a fase proliferativa da cicatrização é caracterizada por extensa ativação de queratinócitos, fibroblastos, macrófagos e células endoteliais para orquestrar o fechamento da ferida, deposição de matriz e angiogênese (SHAW e MARTIN, 2016). Esta fase proliferativa ou de granulação não ocorre em um momento distinto, mas está em andamento o tempo todo em segundo plano (WALLACE, BASEHORE e ZITO, 2022). Ou seja, é caracterizada por epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. A epitelização é iniciada por queratinócitos presentes na borda da ferida, bem como de apêndices dérmicos, como folículos capilares, suor e glândulas sebáceas. A angiogênese envolve a formação de endotélio de parede fina a partir de vasos preexistentes, em contraste

com a vasculogênese, que indica a formação de novo de vasos (WATT e FUJIWARA, 2011).

Os macrófagos desempenham um papel significativo na angiogênese, auxiliando os comportamentos das células endoteliais microvasculares. Eles produzem proteases para degradar a densa rede de fibrina e fatores quimiotáticos (por exemplo, fator de necrose tumoral alfa - TNF- $\alpha$ , fator de crescimento endotelial vascular - VEGF e fator de crescimento transformador beta - TGF- $\beta$ ) para conduzir a migração endotelial (DU CHEYNE, TAY e DE SPIEGELAERE, 2020). Já os fibroblastos aparecem pela primeira vez na ferida após 24h e requerem suprimento adequado de oxigênio para a produção de colágeno e são responsáveis pela produção de elastina e organização da matriz extracelular. Todos esses são elementos críticos do tecido de granulação e servirão de base para o estágio final, maturação e remodelação (LIAO et al., 2007; SU et al., 2010; JANIS e HARRISON, 2016).

Já a fase de maturação e remodelação da ferida requer a reorganização do colágeno recém-depositado em uma rede organizada e estruturalmente sólida baseada em glicosaminoglicanos e proteoglicanos que resultam em uma cicatriz rapidamente cicatrizada. Inicialmente, os fibroblastos se multiplicam e aumentam a produção de colágeno na célula. Os fibroblastos são o principal tipo de célula responsável pela remodelação da MEC da ferida, substituindo o coágulo de fibrina inicial por hialuronano, fibronectina e proteoglicanos, e formando fibrilas de colágeno maduras posteriormente no reparo (DARBY et al., 2014). Esses proteoglicanos formam o núcleo da ferida e ajudam a estabilizá-la. Então, a reepitelização começa a ocorrer com a migração de células da periferia da ferida e bordas adjacentes (WALLACE, BASEHORE e ZITO, 2022).

A composição de colágeno da pele adulta não lesionada é de aproximadamente 80% de colágeno tipo I e 10% de colágeno tipo III. Em contraste, o tecido de granulação é composto predominantemente pelo colágeno tipo III associado ao embrião (aproximadamente 30%), com apenas 10% de colágeno tipo I. À medida que a cicatrização progride, o colágeno tipo III é substituído pelo colágeno tipo I, aumentando diretamente a resistência à tração da cicatriz em formação. Um aumento geral na formação de colágeno é visto por 4 a 5 semanas após o ferimento (WITTE e BARBUL, 1997; BROUGHTON, JANIS e ATTINGER, 2006).

Uma alteração em qualquer estágio do processo cicatricial pode levar ao desenvolvimento de feridas crônicas que não cicatrizam de forma correta acarretando um fardo econômico e de saúde de forma significativa. Dessa forma, uma compreensão contínua dos mecanismos subjacentes à cicatrização de feridas faz-se necessário para o desenvolvimento de novas e melhores terapias que acelerem o reparo tecidual (RIDIANDRIES, TAN e BURSILL, 2018), em particular os tecidos danificados por queimaduras térmicas.

### 3.3 QUEIMADURAS

As queimaduras são lesões subestimadas que estão associadas a morbidade e mortalidade substanciais. Segundo a OMS, a queimadura é uma lesão na pele ou outro tecido orgânico, causada principalmente pelo calor ou devido à radiação, radioatividade, eletricidade, fricção ou contato com produtos químicos. As queimaduras térmicas (calor) ocorrem quando algumas ou todas as células da pele ou de outros tecidos são destruídas por: líquidos quentes (escaldaduras), sólidos quentes (queimaduras de contato) ou chamas (queimaduras de chama). As queimaduras são um problema de saúde pública global, responsável por cerca de 180mil mortes anuais; a maioria delas ocorre em países de baixa e média renda e quasedois terços ocorrem na África e no Sudeste Asiático. As lesões por queimaduras não fatais são uma das principais causas de morbidade e ocorrem principalmente em casa e no local de trabalho. As mulheres adultas e as crianças são particularmente vulneráveis a queimaduras (WHO, 2018). Em todo o mundo, a carga média de crianças mortas por queimaduras é de 2,5 por 100.000 em 103 países, com o maior fardo na África Subsaariana (4,5 por 100.000) (SENGOELGE, EL-KHATIB e LAFLAMME, 2017).

Globalmente, as queimaduras são a 3ª principal causa de morte por lesão entre crianças de 1 a 9 anos. No entanto, o manejo de queimaduras pediátricas é sempre desafiador devido a sua natureza específica, as áreas de enxerto doadoras são limitadas, em consequência da sua pequena área de superfície e a aparência cosmética que afetará a criança mais tarde na vida (NOURELDIN et al., 2022). Embora de modo geral, as queimaduras estejam em declínio, ainda são uma das principais causas de lesões, incapacidades, mortes e transtornos. A recuperação de sobreviventes de queimaduras é afetada pela disponibilidade de tratamento especializado, reabilitação física e apoio psicossocial para vítimas de queimaduras e

familiares, contudo ainda é limitada, especialmente em ambientes com recursos limitados como nos países de baixa e média renda (VAN NIEKERK, 2022).

Estudos recentes realizados em países da África com pacientes vítimas de queimaduras revelaram que na Tanzânia a falta de confiança, capacidade cirúrgica e a pontualidade do encaminhamento foram fatores importantes que afetaram negativamente o acesso do paciente ao atendimento cirúrgico (BOTMAN et al., 2022); no Quênia, onde as queimaduras são comuns, revelaram que (i) um em cada dez pacientes admitidos com queimaduras vinha a óbito e que a mediana da área de superfície total queimada foi um preditor de presença de complicações de queimaduras e tempo de internação; (ii) a intervenção hospitalar oportuna também reduziria as complicações de queimaduras, bem como o tempo de permanência no hospital; (iii) há necessidade de uma educação continuada por parte da saúde pública sobre a segurança contra incêndio no ambiente doméstico para crianças e outras pessoas vulneráveis (ODONDI, SHITSINZI e EMARAH, 2020).

No Brasil, a Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), uma das maiores gestoras de hospitais públicos do país, divulgou dados da Unidade de Tratamento de Queimados (UTQ) Dr. Ivo Pitanguy do Hospital João XXIII (HJXXIII) – um dos centros de referência no país para esse tipo de atendimento, alertando para o cuidado no manuseio do álcool em decorrência do isolamento social devido a pandemia da covid-19. Os dados de admissão de pacientes queimados em enfermaria e em terapia intensiva em 2020 foram pouco mais de 20% e 30%, respectivamente, e nos quatro primeiros meses de 2021, foram de quase 30% na enfermaria e de mais de 40% na UTI (Unidade de Terapia Intensiva), em razão da má utilização do produto. O risco de explosões é potencializado com o uso e o armazenamento de álcool em casa, levando a queimaduras mais graves, além do perigo da inalação de fumaça e, por consequência, a queimadura de vias aéreas. Ainda em relação aos casos das queimaduras atendidas no HJXXIII, considerando tanto os casos graves quanto os que nem sempre exigem internação, mais da metade são causadas por contato com líquidos muito quentes – as chamadas escaldaduras. Em 2020, dos atendimentos a queimados na unidade, 60% foram em decorrência desse tipo de acidente e, desse total, 19,6% foram com crianças de 0 a 11 anos (ALVES e PINTO, 2021).

O progresso econômico, estruturas domésticas e ambientais aprimoradas, tecnologia de energia e intervenções de educação de segurança são, portanto, contribuições significativas para a prevenção de queimaduras (VAN NIJEKERK,

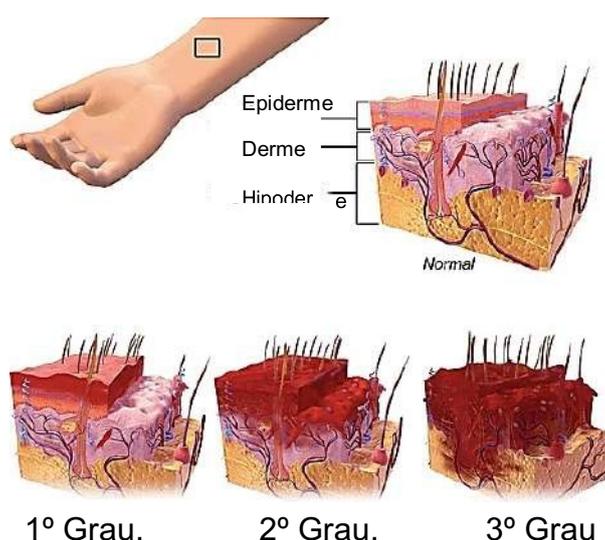
2022). Um estudo utilizando uma amostra representativa de 2.548.971 crianças (<18 anos) tratadas por queimaduras em emergência dos Estados Unidos de 1990 a 2014, com dados do *National Electronic Injury Surveillance System*, revelou que o número e a taxa de queimaduras diminuíram 30,0% e 38,9%, respectivamente. A maioria dos pacientes (58,4%) eram meninos, 64,0% tinham <6 anos e 7,4% foram internados. As queimaduras térmicas foram responsáveis por 60,2% das lesões, sendo as mais comuns em mãos/dedos (37,1%), seguidas da cabeça/pescoço (19,6%). O mecanismo de lesão especificado mais comum foi agarrar/tocar (18,4%), seguido de derramamento/salpico (16,4%). Embora o número de crianças tratadas por queimaduras tenha diminuído, continua sendo uma importante fonte de lesão pediátrica, demonstrando a necessidade de aumentar os esforços de prevenção, especialmente entre crianças pequenas <6 anos de idade (MITCHELL et al., 2020).

O resfriamento de queimaduras térmicas com água corrente tem sido usado por décadas para aliviar a dor (RAGHUPATI, 1968). Um único ensaio randomizado com 96 participantes relatou que o resfriamento com água por 20 minutos reduziu a temperatura da pele de forma mais eficaz ativamente do que os produtos para queimaduras industrializados (CHO e CHOI, 2016). Da mesma forma, um estudo experimental em pele humana mostrou recentemente que o resfriamento é uma intervenção apropriada de primeiros socorros para reduzir a profundidade da queimadura (WRIGHT et al., 2019). De acordo com o estudo de revisão sistemática realizado por Djärv et al. (2021), a duração ideal do resfriamento para queimaduras térmicas permanece desconhecida e pesquisas prospectivas futuras são indicadas para melhor definir essa recomendação de tratamento.

As queimaduras atuam nos tecidos de revestimento do corpo humano, determinando destruição parcial ou total da pele e seus anexos, podendo atingir camadas mais profundas como tecido celular subcutâneo, músculos, tendões e ossos. São classificadas com base na profundidade da queimadura e em sua extensão na pele (KIM e KIM, 2017). Essas lesões são denominadas como superficiais (antes referidas como 1º grau), de espessura parcial (conhecidas como de 2º grau) ou de espessura total (referidas como de 3º grau), conforme ilustradas na Figura 6. As queimaduras superficiais afetam apenas a epiderme, apresentando-se hiperemiadas, edematosas e dolorosas. As queimaduras de espessura parcial podem ser superficiais ou profundas. As superficiais acometem a derme e sua camada superior (derme papilar) apresentando bolhas, umidade e dor acentuada, deixando

mínimo tecido cicatricial. As queimaduras profundas de espessura parcial acometem quase toda a espessura da derme, apresentando coloração pálida e menos dor. Nas queimaduras de espessura total, a lesão acomete toda espessura da pele e, em alguns casos, se estende ao tecido subcutâneo, músculo e osso. São de aspecto esbranquiçado e rígido e, por não haver elementos dérmicos para regeneração, só cicatrizam com enxerto (LINDE, 2002).

Figura 6. Tipos de queimadura.



**Fonte:** <https://maestrovirtuale.com/tipos-de-queimaduras-e-suas-caracteristicas-com-imagens/>

Assim, em casos mais simples de queimaduras, é possível a cura somente com a troca de curativos e pomadas cicatrizantes para regeneração do tecido. Contudo, os casos mais graves requerem maior cuidado, com possibilidade de cirurgias de enxerto (uso de fatias de pele saudável que são transferidas para a área lesionada) ou retalhos (transferência de pele e tecidos irrigados por artérias, até o local da queimadura). Isso é, o tratamento de queimaduras também é influenciado pelo tipo de perda estética, que pode variar desde mudanças na cor da pele até a perda de tecido. Vale ressaltar que o tratamento de queimaduras não requer somente o trabalho dos cirurgiões plásticos, mas sim de uma equipe multidisciplinar que atua tanto na fase aguda quanto no tratamento de sequelas. Assim, de acordo com o grau da lesão e comprometimento do paciente, participam do processo de atendimento diferentes profissionais como fisioterapeutas, nutricionistas, enfermeiros, psicólogos e fonoaudiólogos (SBCP-SC, 2019).

O tratamento de queimaduras sempre foi um desafio, tanto pela sua gravidade como pela multiplicidade de complicações que normalmente ocorrem. A fim de reduzir gastos, o setor da biotecnologia oferece grande potencial de desenvolvimento em várias áreas. Na área de saúde humana, o tamanho global do mercado de tratamento de queimados foi estimado em US\$ 1,88 bilhão em 2018. Estimativas preveem um crescimento de cerca de 6,8% até o final de 2025 (GRAND VIEW RESEARCH, 2019).

Nos últimos anos, uma crescente demanda por procedimentos e tratamentos minimamente invasivos para melhorar o apelo estético e terapêutico nos casos de queimaduras surgiu como um fator importante para o crescimento do mercado. Assim, a procura por fontes renováveis para desenvolver biomateriais à base de polissacarídeos que acelerem o processo de cura tem despertado o interesse de muitos pesquisadores na área. Por sua vez, a laserterapia, por ser não invasiva, tem demonstrado ser um recurso valioso no tratamento de queimados por estimular o processo de cicatrização com maior organização das fibras colágenas, influenciando o aspecto estético da cicatriz (ARAGÃO-NETO et al., 2017).

### 3.4 LASERTERAPIA / FOTOBIMODULAÇÃO

O termo laser é um acrônimo para *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, que significa amplificação da luz por emissão estimulada da radiação. Embora tenha sido Albert Einstein quem concebeu os princípios da geração desse tipo de luz, somente em 1960 foi produzido o primeiro emissor de laser (BAXTER, 2003; LOW e REED, 2001). O laser representa um dispositivo constituído por substâncias de origem sólida, líquida ou gasosa que produz um feixe de luz, frequentemente denominado de “raio laser”, quando excitadas por uma fonte de energia (LINS et al., 2010).

A evolução constante dos conhecimentos em saúde e o aprimoramento dos recursos tecnológicos, aliados ao tratamento humanizado, permite o desenvolvimento de terapias menos invasivas e mais confortáveis aos pacientes. Assim, práticas conhecidas e desenvolvidas para outras finalidades são agora empregadas para tratamento ou controle de doenças com características distintas, como é o caso da laserterapia.

Essa prática terapêutica em tecidos vivos só passou a ser possível devido à criação de um equipamento a laser com efeito fotobioestimulante adaptado para esta finalidade, por Sinclair e Knoll em 1965 (MESTER; MESTER e MESTER, 1985). Desta

forma, a implementação de diferentes tipos de lasers em procedimentos na área da saúde possibilitou mudanças importantes nas intervenções médicas e odontológicas. Tais mudanças abrangem redução no tempo de cirurgia e no tempo de recuperação dos pacientes, redução das complicações pós-operatórias, edemas, maior controle das dores crônicas e biomodulação na cicatrização de tecidos (COTLER et al., 2015).

Relativamente à aplicação clínica, o laser pode ser classificado em dois grupos: laser de alta intensidade ou potência (potência  $>500$  mW), indicado para procedimentos cirúrgicos como cortes, coagulação e cauterização e mais recentemente nos protocolos terapêuticos da fisioterapia; e o laser de baixa intensidade ou potência (potência  $\leq 500$  mW), indicado para fins terapêuticos e bioestimulantes, agindo principalmente como acelerador de processos cicatriciais e apresentando efeitos fotoquímicos não térmicos com propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e de bioestimulação (CAVALCANTI et al., 2011; CONFORTI e FACHINETTI, 2013). A principal diferença entre a terapia a laser de baixa potência (TLBP) e de alta potência (TLAP) ou cirúrgico é que os feixes mais potentes (potência  $>500$  mW) são irradiados para penetrar mais profundamente, trazendo uma quantidade elevada de energia multidirecional para os tecidos profundos em um curto espaço de tempo (CONFORTI e FACHINETTI, 2013).

Dentre os principais procedimentos cirúrgicos que usam o laser como terapia, podemos destacar: cirurgias refrativas para a correção da hipermetropia, miopia e astigmatismo; cirurgias oculares para o reparo de descolamentos de retina, cauterização de vasos sanguíneos do olho e remoção de opacidades e irregularidades da superfície corneana (catarata); cirurgia endovascular para recanalizar uma artéria, angioplastias assistidas e anastomoses vasculares; e cirurgia gastrointestinal, para o tratamento de fibrose submucosa oral, ulcerosa péptica e varizes de esôfago e alguns tipos de câncer gástrico em estágios iniciais.

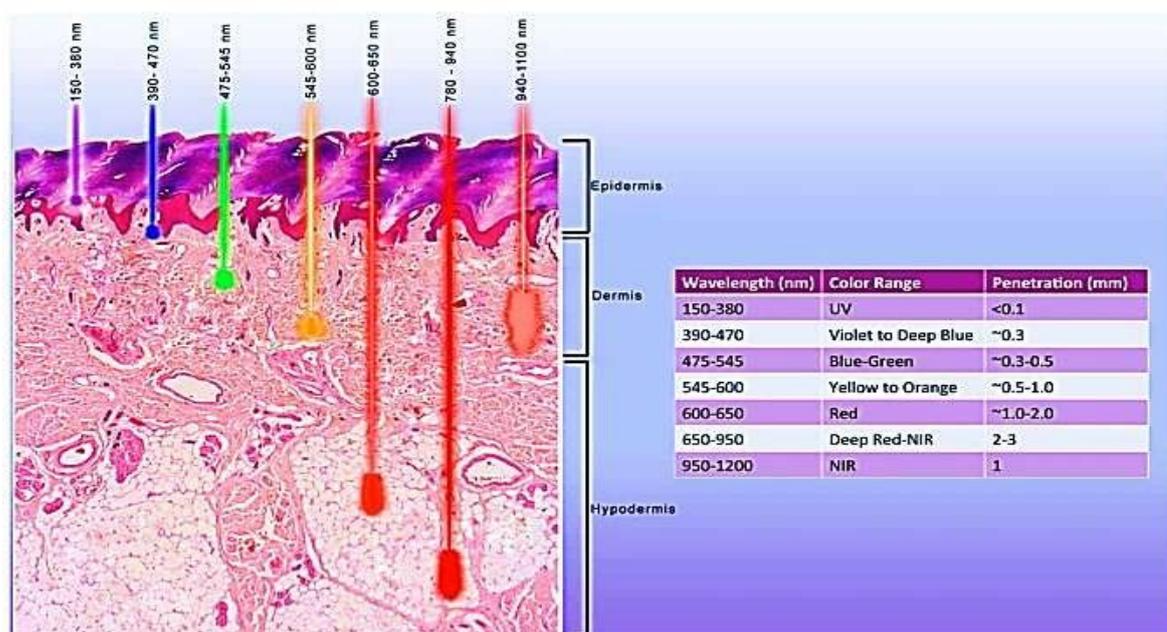
Devido à TLBP apresentar efeito biomodulador, a *North American Association for Light Therapy*, em 2014 alterou esta nomenclatura buscando embasar cientificamente a técnica e a chamou de Terapia de Fotobiomodulação (TFBM) por ser um termo mais adequado que TLBP, pois distingue uma terapia não térmica, como vários outros recursos de tratamento por meio da luz. Assim, a TFBM pode ser definida como uma terapia que utiliza formas não ionizantes de fontes de luz incluindo lasers, Diodo Emissor de Luz (LED) e luz de amplo espectro, sendo visível ou infravermelho no espectro de 600 a 1000nm, promovendo efeito anti-inflamatório, alívio da dor e

aceleramento do processo de reparação tecidual (FIÓRIO et al., 2014; ANDERS et al., 2015). Comprimentos de onda na faixa de 390nm a 600nm são usados para tratar tecidos superficiais apresentando espectro de luz vermelho, enquanto comprimentos de onda maiores, na faixa de 830 nm a 904nm, penetram mais profundamente nos tecidos até a camada subcutânea, apresentando espectro de luz infravermelho, conforme demonstrado na Figura 7. Estudos que envolvem processo de reparação tecidual cutâneo comumente utilizam comprimentos de onda de 658nm (Hélio-Neônio – HeNe), 830nm (Arseneto de Alumínio e Gálio – GaAlAs) e 904nm (Arseneto de Gálio – GaAs) (AVCI et al., 2013; TARAJAD et al., 2013).

Uma vez que a TFBM se fundamenta nos efeitos fotoquímicos, fotofísicos e fotobiológicos nas células e tecidos (PANDEY et al., 2016), o comprimento de onda, densidade de potência, frequência de tratamento e o tipo de lesão estão relacionados com o aumento da atividade celular, bem como a densidade de energia ou dose também influenciam estas reações (KARU, 1987).

Dos materiais mais comumente utilizados como meios ativos na laserterapia, pode-se citar a mistura gasosa de Hélio e Neônio (He-Ne), o semiconductor diodo Arseneto de Gálio e Alumínio (Ga-Al-As), ou Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (Al-Ga-In-P). Essas misturas gasosas, quando expostas a elétrons excitados, produzem radiação na faixa entre 630 nm e 950 nm (PANDEY et al., 2016).

Figura 7. Profundidade de penetração nos tecidos pela TFBM nos diferentes comprimentos de onda.



Fonte: AVCI et al., 2013.

Atualmente, a fotobiomodulação é considerada uma técnica segura, eficaz e com resultados promissores em diversas áreas, como, por exemplo, na odontologia para controle do nível de dor, edema e trismo (ATUÁ et al., 2021); na oncologia, na prevenção da dermatite aguda grave por radiação em pacientes com câncer de cabeça e pescoço (ROBIJNS et al., 2021); no campo das feridas, com aceleração do processo de reparo tecidual, com efeitos analgésicos, anti-inflamatórios e de regeneração tecidual (ARAGÃO-NETO et al., 2017); em queimaduras em diabéticos, na redução de infiltrado inflamatório e favorecendo a organização do colágeno (MOREIRA et al., 2021); e em feridas dérmicas em imunossuprimidos, regulando a sobrevivência celular e as cascatas de sinalização de proliferação, com redução do estresse oxidativo, atenuação da inflamação e da dor e inibição da morte celular por apoptose, contribuindo para o aumento da cicatrização (KESHRI et al., 2020).

Apesar de sua crescente popularidade, existe um incompleto entendimento em relação às configurações ideais de aplicação, tempo e mecanismo pelo qual os lasers modificam as cicatrizes. Por exemplo, supõe-se que o tratamento de uma cicatriz mais espessa requer uma penetração mais profunda do feixe de laser; assim, há algum consenso de que o aumento da fluência (densidade de energia) deve ser usado em cicatrizes mais espessas (ANDERSON et al., 2014). Em contrapartida, não há consenso sobre o momento ideal do tratamento pós-lesão. Nos últimos anos, há uma tendência de tratamento mais precoce, isto é, aquele realizado com menos de três meses pós lesão (WAIBEL e RUDNICK., 2015). Evidências do potencial de melhora na aparência da cicatriz cirúrgica têm sido relatadas em vários estudos de tratamento precoce (KARMISHOLT et al., 2018), incluindo aqueles que aplicaram lasers 2-3 semanas após a cirurgia (JUNG et al., 2011). No entanto, os lasers ablativos têm sido aplicados historicamente em cicatrizes de queimaduras maduras como tentativa de diminuir as cicatrizes e melhorar a aparência da lesão (BAUMANN et al., 2019).

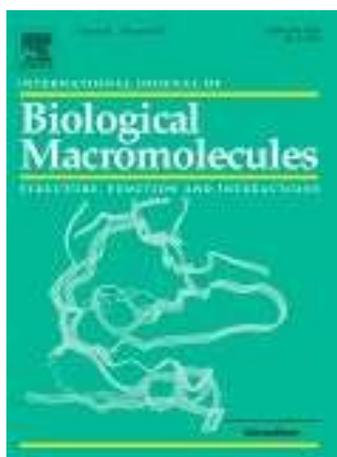
Segundo Keshri et al., (2020), a fotobiomodulação surgiu como potencial intervenção terapêutica de cura não térmica e baseada em luz para o tratamento de feridas danificadas. Estudos têm demonstrado que o tratamento de lesões dérmicas utilizando produtos naturais, tais como extratos *S. chilensis* ou hidrogel de polissacarídeos, associado a fotobiomodulação (laserterapia) melhorou o reparo tecidual. Portanto, podem ser usados como uma terapia alternativa eficiente (MOREIRA et al., 2021; ARAGÃO-NETO et al., 2017).

# CAPÍTULO II

4 ARTIGO 1- Efeito do gel de galactomanana obtida das sementes de *Cassia grandis* associada à fotobiomodulação no processo de cicatrização de queimaduras de segundo grau

---

Artigo a ser traduzido e submetido para publicação na revista *International Journal of Biological Macromolecules*



QUALIS (NOVO) CAPES: A1

**Fator de Impacto 8.025**

**Efeito do gel de galactomanana obtida das sementes de *Cassia grandis* associado à fotobiomodulação no processo de cicatrização de queimaduras de segundo grau**

Andrea A. Souza<sup>1,2</sup>, Katia A. Ribeiro<sup>2</sup>, José Roberto P.C. Seixas<sup>2</sup>, Jacinto C. Silva Neto<sup>3</sup>, Maxwellinne G.P.F. Santiago<sup>3</sup>, Adelmo C. Aragão-Neto<sup>4</sup>, Maria H.M. Lima-Ribeiro<sup>5</sup>, Elizabeth F.O. Borba<sup>6</sup>, Teresinha G. Silva<sup>6</sup>, Priscilla B.S. Albuquerque<sup>1,7\*</sup>, Maria G. Carneiro-da-Cunha<sup>1,2,5\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à Saúde (PPGBAS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP 50670-900, Recife, Pernambuco, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica/UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Histologia e Embriologia/UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil.

<sup>4</sup>Centro Universitário Tiradentes de Pernambuco (UNIT), Av. Caxangá, 4453, Várzea, CEP 50740-000, Recife - Pernambuco, Brasil.

<sup>5</sup>Instituto Keizo Asami (iLIKA)/UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP 50670-900, Recife, Pernambuco, Brasil.

<sup>6</sup>Departamento de Antibióticos/UFPE, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, CEP 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil.

<sup>7</sup>Departamento de Medicina, Universidade de Pernambuco/UPE, Campus Garanhuns, Rua Cap. Pedro Rodrigues, CEP 55294-902, Garanhuns, Pernambuco, Brasil.

(\*) Autores correspondentes: Telefone: +55.81.21268547; Fax: +55.81.21268576  
E-mail: mgcc1954@gmail.com, mgcc@ufpe.br (M.G. Carneiro-da-Cunha);  
priscilla.albuquerque@upe.br (P.B.S. de Albuquerque)

## RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar a atividade cicatrizante do gel de galactomanana de sementes da *Cassia grandis*, associado ou não à terapia de fotobiomodulação (TFBM), em queimaduras de 2º grau. Foram utilizados 60 ratos machos Wistar distribuídos aleatoriamente em quatro grupos com 15 animais cada: Grupo Controle-GC (NaCl 0,9%), Grupo Gel-GG, Grupo Laser-GL (TFBM) e Grupo Laser e Gel-GLG. A queimadura foi confeccionada com barra de alumínio (90 °C) e submetidas a observações clínicas diárias e medidas de área em dias específicos. A análise microscópica também foi realizada por critérios histológicos. Os resultados demonstraram que GG, GL e GLG apresentaram taxa de contração (TC) maior ( $p < 0,05$ ) do que GC com 14 dias de análise, não diferindo entre si (TC ~ 95%). Com 21 dias, todos os grupos apresentaram contração completa ( $p > 0,05$ ). Na análise histológica foi constatado que os grupos GL e GLG demonstraram excelentes propriedades de cicatrização pró-ferida com 14 dias de análise; aos 21 dias, no geral, todos os grupos apresentaram recuperação da ferida em comparação aos dias anteriores. Diante das observações macroscópicas e microscópicas, é possível concluir que os tratamentos isolados (gel ou TFBM) efetivamente aceleraram a cicatrização, contudo, quando em associação (TFBM+gel), promoveu reepitelização e remodelação estromal com melhor evolução de recuperação do epitélio devido ao efeito sinérgico positivo, despontando como uma alternativa terapêutica promissora na reparação de queimaduras.

**Palavras-chave:** polissacarídeo, laserterapia; reparação tecidual; agentes cicatrizantes.

## 1. INTRODUÇÃO

As queimaduras são lesões causadas por agentes externos, provocadas pelo contato direto com alguma fonte de calor ou frio, produtos químicos, corrente elétrica, radiação, entre outros, que podem destruir desde a camada mais externa da pele até tecidos mais profundos. Essas lesões por queimadura são normalmente acompanhadas por uma resposta imune e inflamatória, alterações metabólicas e má distribuição do fluxo sanguíneo relacionado a uma inadequação entre a demanda tecidual e a oferta de oxigênio; em conjunto, tais fatores podem desencadear a falência de múltiplos órgãos.

Fisiologicamente, o processo de cicatrização de queimaduras começa de maneira semelhante a qualquer outro trauma na pele, ou seja, com sinais bioquímicos e celulares; na fase inicial, ocorre a hemostasia, seguida pela fase celular, que inclui inflamação, proliferação e maturação (remodelação). Embora a cicatrização da ferida seja uma reação fisiológica natural à lesão tecidual, não é um fenômeno simples e envolve uma interação complexa entre vários tipos de células, citocinas, mediadores e o sistema vascular (Wallace, Basehore e Zito, 2022). Em muitos casos, o processo de cicatrização pode ser dificultado (ou impedido) em decorrência da superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS), menor geração de energia e diminuição de potencial redutor celular gerados pela disponibilidade comprometida de oxigênio e outros nutrientes vitais no leito da queimadura (Yadav et al., 2021).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, as queimaduras são um problema de saúde pública mundial, sendo responsáveis por cerca de 180.000 mortes anualmente, cuja maioria ocorre em países de baixa e média renda (WHO, 2018). As principais modalidades de tratamento incluem reposição de fluidos, prevenção/controle de infecção e cirurgia. Na prevenção/controle da infecção, os pacientes costumam receber elevadas doses de antimicrobianos/antibióticos, que geralmente são alternativas caras e com efeitos colaterais crônicos à medida que se estendem por longos períodos de tratamento; alergias e resistência a medicamentos são os principais exemplos de reações adversas relacionadas às drogas sintéticas direcionadas ao tratamento de queimaduras (Sai e Babu, 1998). Assim, a crescente demanda por procedimentos e tratamentos minimamente invasivos e eficazes nesse tipo de lesão é um fator de suma importância, além de contribuir para melhorar o aspecto estético dos pacientes.

No que diz respeito ao desenvolvimento de curativos para tecidos danificados, produtos naturais obtidos de maneira sustentável e com características de biodegradabilidade e biocompatibilidade, tais como polissacarídeos, vêm sendo cada vez mais testados no tratamento de queimaduras por representarem alternativas eficientes na restauração da pele queimada e, ao mesmo tempo, uma forma de reduzir gastos. Os polissacarídicos estão no foco de muitos pesquisadores hoje em dia; há uma incessante busca pelo aprimoramento das técnicas de extração, purificação e formulação de matrizes polissacarídicas com o intuito de melhorar o *know how* sobre as propriedades e as aplicações destes biopolímeros. Devido à sua versatilidade, polissacarídeos estão sendo utilizados, por exemplo, na purificação de água e na

produção de biossensores (GHOMI et al., 2019), como matrizes de afinidade para purificação de lectinas ligantes de galactose (Moreira et al., 1998; Seshagirirao et al., 2005, Garros-Rosa et al., 2006; Braga et al., 2011), como embalagens alimentícias (HAN et al., 2021) e como dispositivos farmacêuticos com atividade antimicrobiana (SHAO et al., 2018), antioxidante (WANG et al., 2020), anti-inflamatória (WANG et al., 2018a), antitumoral (KHAN et al., 2019), antiviral (WANG et al., 2018b) e cicatrizante (Albuquerque et al., 2022).

Nosso grupo de pesquisa tem investigado o polissacarídeo do tipo galactomanana extraído das sementes da planta *Cassia grandis*, espécie conhecida por diversos nomes populares, tais como Cássia-rosa, Acácia, Marimari, Cássia-grande, Fedegoso, Marizeiro, Mata-pasto, Cássia, dentre outros. Considerado uma fonte ecológica, não-tóxica e GRAS (Geralmente Reconhecida como Segura), este polissacarídeo é constituído por uma cadeia linear com unidades  $\beta$ -1,4-D-manopiranosose substituídas por unidades ligantes  $\alpha$ -1,6-D-galactopiranosose, com 71% de manose e 29% de galactose, com uma razão M/G = 2,44 e grau de cristalinidade por difração de raios X de 0,334. Fisicamente, estudos reológicos revelaram que, na concentração de 1,6% (p/v), foi possível obter a transição solução-gel (Albuquerque et al., 2014); géis (1,7%, p/v) (Albuquerque et al., 2016) e filmes (0,8%, p/v) se mostraram altamente brilhantes/transparentes (Albuquerque et al., 2017) e com promissoras aplicações biotecnológicas. Por exemplo, filmes produzidos com galactomanana 0,8 % (p/v), glicerol 0,2 % (v/v) e a lectina extraída das sementes do feijão *Cratylia mollis* (0,5 %, p/v) foram eficientemente testados como curativo tópico de feridas cutâneas produzidas em ratos Wistar e demonstraram capacidade de acelerar as etapas da cicatrização com aperfeiçoamento da granulação, da formação do epitélio e da regeneração do colágeno nas feridas (Albuquerque et al., 2017).

Outro exemplo de terapia que promove o desbridamento autolítico e o preparo do leito da ferida para uma melhor cicatrização é a fisioterapia a laser de baixa intensidade, atualmente conhecida como terapia fotobiomoduladora (TFBM) associada (Aragão-Neto et al., 2017, Shen et al., 2021) ou não (Albuquerque et al., 2017) a curativos à base de hidrogéis. Neste caso, a TFBM apresenta a eficácia clínica de uma terapia não cirúrgica e que pode ser limitada à aplicação única em decorrência de contemplar as 4 fases do processo complexo da cicatrização de feridas, uma vez que as terapias de aplicação única geralmente só conseguem promover com eficácia uma das fases da cicatrização (Farokhi et al., 2018).

A terapia com laser de baixa intensidade (TLBI), um tipo de TFBM que usa irradiância de laser não térmico, tem crescido nas últimas décadas por conferir uma série de benefícios clínicos, por exemplo, ao processo de cicatrização de feridas crônicas e o aprimoramento do desempenho atlético; diante dos benefícios acima mencionados, a TLBI tem sido considerada a fisioterapia de reparação mais eficiente e econômica (Yadav et al., 2021, Dompe et al., 2020, Atúa et al., 2021). Atualmente, a TFBM é considerada uma técnica segura, eficaz e com resultados promissores em diversas áreas como, por exemplo, na odontologia, para o controle do nível de dor, edema e trismo (Atúa et al., 2021); na oncologia, é eficaz na prevenção da dermatite aguda grave por radiação em pacientes com câncer de cabeça e pescoço (Robijns et al., 2021); no campo das feridas, acelera o processo de reparo tecidual, com efeitos analgésicos, anti-inflamatórios e de regeneração tecidual (Aragão-Neto et al., 2017); em queimaduras em diabéticos, atua na redução de infiltrado inflamatório e favorece a organização do colágeno (Moreira et al., 2021); e em feridas dérmicas em imunossuprimidos, regula a sobrevivência celular e as cascatas de sinalização de proliferação, com redução do estresse oxidativo, atenuação da inflamação e da dor e inibição da morte celular por apoptose, contribuindo para o aumento da cicatrização (Keshri et al., 2020).

Assim, considerando que a transparência dos curativos é um pré-requisito para a TFBM (Shen et al., 2021) e que as características físico-químicas e as propriedades inerentes da galactomanana da *C. grandis* foram eficientemente reportadas pela literatura, curativos à base deste polissacarídeo possuem potencial a serem explorados no tratamento combinado à TFBM em queimaduras de segundo grau em ratos Wistar, sendo, portanto, o objetivo primordial deste trabalho.

## **2. Materiais e métodos**

As vagens de *C. grandis* foram coletadas em julho de 2019 no Campus da UFPE, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brasil. A identificação botânica foi feita através do depósito de espécimes testemunhos no Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA Dárdano de Andrade Lima (IPA 89340). Etanol 99,8%, acetona PA, cloreto de sódio e fenol foram obtidos da Vetec Fine Chemicals Ltda. (Brasil). Todos os outros produtos químicos foram de grau analítico.

## 2.1 Extração da galactomanana e obtenção do gel

A galactomanana contida nas sementes de *C. grandis* foi extraída por precipitação etanólica de acordo com Albuquerque et al. (2014). Resumidamente, as vagens de *C. grandis* foram imersas em água destilada à temperatura ambiente (25 °C) por 18 h e, em seguida, as sementes foram retiradas e secas até atingirem peso constante. As sementes foram fervidas em água destilada [1: 5 (p/v)] por 1 h, para a inativação enzimática, e conservadas em água a 25 °C, por 18 h, para facilitar a remoção da casca. Então, o endosperma e o germe foram triturados em liquidificador com 0,1 NaCl [5% (p/v)] a 25 °C, e a solução resultante foi filtrada, primeiro em tecido tipo vual e depois em tela de serigrafia (tipo 90). Posteriormente, a solução foi precipitada com etanol 46% [1:3 (v/v)] por 18h e o precipitado branco obtido foi lavado duas vezes com etanol 100% [1:3 (p/v)] por 30 min e uma vez com acetona [1:3 (p/v)] por 30 min. Entre cada lavagem, o precipitado foi filtrado em tela de serigrafia (tipo 110) e finalmente seco até peso constante. O precipitado seco foi moído, denominado galactomanana e armazenado em um lugar seco para uso posterior.

O gel foi preparado em ambiente estéril por dissolução da galactomanana (1,7% p/v) em água destilada autoclavada, sob agitação magnética (500 rpm), por 18 h, à 25 °C. Esta concentração de galactomanana teve como base o estudo reológico prévio reportado por Albuquerque et al. (2016).

## 2.2 Avaliação citotóxica

A atividade citotóxica foi realizada pelo método do MTT [brometo de (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio)], que se baseia na capacidade da enzima succinato desidrogenase, presente no ciclo de Krebs e ativa nas mitocôndrias viáveis, em converter o sal tetrazólio, de cor amarela, em cristais de formazan, de cor purpura, de acordo com Mosmann (1983). A linhagem celular utilizada foi a L-929 (fibroblastos murinos) cultivada em meio de cultura DMEM - Dulbecco's Modified Eagle's Medium, suplementado com Soro Fetal Bovino (SFB) a 10% e adicionados 100 µg/mL de penicilina e estreptomicina. A cultura foi mantida em estufa (Panasonic, Brasil) atmosférica a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>. Uma suspensão de células L-929 (100 µL) foi plaqueada em placa de poliestireno de 96 poços (655111T, Cralpast, Brasil) na concentração 2 x 10<sup>5</sup> células/mL e incubada a 37 °C, por 24 h. Em seguida, 100 µL do gel de galactomanana, preparado em condições estéreis, foram adicionados em diferentes concentrações (1,56 - 50 µg/mL). Seguidas 72 h de tratamento, foram

adicionados a cada poço 25  $\mu$ L de MTT (5 mg/mL) e, depois de 3 h de incubação, o meio de cultura com o MTT foi aspirado e 100  $\mu$ L de dimetilsufóxido (DMSO) foi adicionado a cada poço, para dissolução dos cristais de formazan. A absorbância foi medida em um leitor automático de microplacas no comprimento de onda de 560 nm. O controle negativo (CN), considerado como 100% de viabilidade celular, não recebeu o tratamento com o gel de galactomanana e sim 100  $\mu$ L do meio (DMEM), e o controle positivo (CP) foi preparado usando o fármaco doxorrubicina (5  $\mu$ g/mL), que inibe a síntese de DNA e RNA.

Os experimentos foram realizados em quadruplicata e a porcentagem de viabilidade celular foi calculada no programa *GraphPad Prism* 8.1 Demo. Os resultados foram expressos em relação ao controle negativo após aplicar ANOVA one-way seguido do pós teste de Dunnett. A concentração capaz de reduzir em 50% ( $CI_{50}$ ) a viabilidade das células em relação ao controle negativo foi calculada para definição do grau de citotoxicidade através de regressão não linear utilizando o software *GraphPad Prisma* versão 8.1 Demo.

### 2.3 Avaliação hemolítica

Para este ensaio foram utilizados eritrócitos murinos que foram obtidos através de punção cardíaca conforme os procedimentos éticos estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Brasil, em 24/09/2019 (processo nº 0094/2019). O ensaio foi realizado em placas de 96 poços seguindo o método descrito por Costa-Lotufo et al. (2005) utilizando eritrócitos murinos (ratos Wistar machos). Os eritrócitos foram lavados três vezes com solução salina (NaCl 0,85% + CaCl<sub>2</sub> 10 mM) e centrifugados (3500 rpm, 10 min) entre cada lavagem; após a última centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células ressuspendidas em solução salina para se obter uma suspensão de eritrócitos a 2% (v/v). Resumidamente, o primeiro poço recebeu 100  $\mu$ L de solução salina (controle negativo); o segundo poço recebeu 100  $\mu$ L de solução salina + 100  $\mu$ L do gel da galactomanana e, após homogeneização, procedeu-se com uma diluição seriada, sendo descartados 100  $\mu$ L ao final da diluição. O gel de galactomanana foi testado com concentração inicial de 2500 mg/mL e o último poço recebeu 80  $\mu$ L de solução salina + 20  $\mu$ L de Triton X-100 a 1% (controle positivo). Em seguida, 100  $\mu$ L da suspensão de eritrócitos foi plaqueada em todos os

poços e a placa foi incubada por 1 h, sob agitação constante, a 28 °C. Após 10 min de repouso, a placa foi centrifugada (CN-5400, HT, Taiwan) a 1500 g, por 10 min. O sobrenadante foi transferido para outra placa de 96 poços e a hemoglobina liberada foi medida pela absorbância a 560 nm em leitor automático de microplacas. O resultado foi expresso em % de hemólise calculada usando a seguinte equação: % de hemólise = [(absorbância da amostra) - (absorbância do controle negativo)] / [(absorbância do controle positivo) - (absorbância do controle negativo)] X 100.

#### **2.4 Atividade cicatrizante *in vitro***

A linhagem murina normal L-929 foi utilizada para a realização desse ensaio de acordo com Buachan et al. (2014). Os fibroblastos foram cultivados em placas de 24 poços na concentração de  $1 \times 10^6$  células/mL e mantidos em meio de cultivo DMEM com suplementação de SFB a 10%. Ao atingirem 100% de confluência, o meio foi retirado dos poços e foram adicionados 3 mL de Phosphate Buffered Saline (PBS). Em seguida, com o auxílio de uma ponteira de 200 µL, foi feito um risco no fundo da placa em um local previamente delimitado. A solução de PBS foi retirada e adicionou-se meio DMEM sem SFB nos poços dos controles negativos e nos poços que iriam receber o gel da galactomanana (50 µg/mL), cuja concentração foi baseada na avaliação citotóxica mencionada no tópico 2.2. Apenas os poços do controle positivo receberam o meio suplementado com SFB 10%. A área de cada poço onde foi feita a lesão foi fotografada no período de 0, 3, 6, 24, 48 e 72 h. Os resultados foram expressos em percentual de confluência e calculados pela fórmula: % de confluência = [(A-B) / A] X 100, onde A é a área inicial no tempo 0 e B a área no intervalo de tempo observado. A análise estatística foi realizada pelo teste T (*multiple T tests-one per row*) através do software *Graphpad prisma* versão 8.1.

#### **2.5 Atividade cicatrizante *in vivo***

Foram utilizados 60 ratos machos Wistar albinos (*Rattus norvegicus*) obtidos do Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE, pesando  $250 \pm 50$  g, com 8 a 10 semanas de vida, mantidos sob condições ambientais padrão de umidade relativa (60–70%), temperatura ( $22 \pm 2$  °C), luminosidade com ciclo de 12 h claro/escuro e com água e ração *ad libitum*. O procedimento experimental foi realizado no Biotério do Instituto Keizo Asami (iLIKA)/UFPE, onde os animais foram mantidos nos mesmos padrões ambientais, anteriormente descritos, por um período de uma semana de

adaptação antes de serem submetidos ao protocolo experimental. Todos os procedimentos em animais obedeceram ao CONCEA e foram aprovados pela CEUA (processo nº 0094/2019).

### **2.5.1 Indução e tratamento de feridas por queimadura em ratos**

O modelo experimental de escolha para realização das queimaduras de segundo grau foi estabelecido por Pereira et al. (2012), obtendo lesões com o mesmo tamanho e grau de profundidade. Inicialmente, os animais foram anestesiados por via intramuscular com 2% cloridrato de xilazina ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e cloridrato de cetamina a 10% ( $115 \text{ mg kg}^{-1}$ ), com subsequente tricotomia do dorso pela tensão de cabelo direta (área medindo cerca de  $3 \text{ cm}^2$ ) e antissepsia com 1% de polivinilpirrolidona-iodo. A queimadura de 2º grau foi confeccionada através do contato com uma barra de alumínio (diâmetro = 10 mm), pré-aquecida a  $90 \text{ }^\circ\text{C}$ , durante 15 s. A pressão exercida sobre a pele do animal corresponde à massa de 51 g da barra de alumínio usada na indução da queimadura. Após o término da anestesia, foi aplicada analgesia com dipirona intramuscular ( $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ ), para evitar a dor. Os animais foram divididos, ao acaso, em quatro grupos experimentais, cada um constituído por 15 animais: Grupo (GG) - tratado com o gel de galactomanana; Grupo (GL) - tratado com laser (TFBM); Grupo (GLG) – tratado com laser (TFBM) associado ao gel de galactomanana; e Grupo (GC) – controle, tratado com soro fisiológico (NaCl 0,9%). Cada grupo foi subdividido em subgrupos, contendo 5 animais cada, que correspondem aos tempos da eutanásia e biopsia excisional (realizadas no 3º, 14º e 21º dias após a indução da ferida).

Os animais foram mantidos em gaiolas individuais e foram tratados topicamente a cada 24 h de acordo com o grupo experimental: 100  $\mu\text{L}$  de gel (GG); irradiação com laser-TFBM (GL); irradiação com laser-TFBM e posterior aplicação de 100  $\mu\text{L}$  do gel (GLG); e 100  $\mu\text{L}$  de NaCl 0,9% (GC). Todos os animais dos Grupos GL e GLG foram submetidos à TFBM com irradiação de forma pontual a uma distância de 2 mm da pele do animal, durante 40 s, no centro do ferimento, imediatamente após o término da cirurgia (indução da ferida) e a cada 24 h durante todo o período experimental. Para tal, foi utilizado o aparelho de laser vermelho de diodo (Therapy XT, DMC médica, EUA) com os seguintes parâmetros de irradiação:  $\lambda = 660 \text{ nm}$ ;  $A = 1 \text{ cm}^2$ ;  $DE = 4 \text{ J / cm}^2$ ;  $P = 100 \text{ mW}$ ;  $F = 50 \text{ hz}$ . Os animais receberam as irradiações em local

isolado, e a equipe envolvida estava paramentada com o equipamento de proteção individual adequado e óculos de proteção específico para o comprimento de onda utilizado (660 nm).

### **2.5.2 Biopsias e análise histológica**

As biópsias cutâneas foram realizadas com os animais previamente anestesiados, conforme descrito anteriormente, removendo o fragmento de pele dentro da área da ferida, cobrindo  $\pm 1$  cm além de cada margem dorsal e ventral e armazenados em 10 % de formalina durante 24 h. Após a fixação, as amostras foram lavadas com água, imersas em álcool etílico a 70% por um período de 3 a 4 dias, com posterior desidratação do material e substituição da água presente no tecido por um agente desidratante (etanol), em solução crescente (70%, 80%, 90%, 100%), diafanizados em Xilol, e feita a inclusão em parafina. Após a biópsia, os animais foram sacrificados por eutanásia com uma injeção letal de tiopental sódico ( $200 \text{ mg kg}^{-1}$ ), por via intraperitoneal, e as carcaças foram armazenadas em sacos brancos e enviados para incineração.

As peças histológicas emblocadas na parafina foram cortadas com micrótomo manual (Leica, Suíça) em uma espessura de  $5 \mu\text{m}$ , coradas com Hematoxilina e Eosina (HE) e Tricrômico de Masson (TM) e montadas com lamínulas utilizando resina sintética (Entellan/Merck). A análise histopatológica das secções da pele foi realizada utilizando um sistema de microscopia com software de captura de imagens ZEN blue edition Axio zeiss, USA. Amostras de 5 animais de cada grupo/tempo foram usadas para ambas as análises.

### **2.5.3 Avaliação clínica das lesões experimentais**

As características clínicas das feridas experimentais foram observadas diariamente, considerando os aspectos edema, hiperemia, exsudato, crostas primária e secundária, destacamento e reepitelização, segundo Albuquerque et al. (2017). O peso corporal foi determinado utilizando balança eletrônica (Ramuzá/Brazil) no dia da indução da ferida por queimadura, bem como no 3º, 14º e 21º dias da eutanásia. A avaliação microbiológica foi realizada com *swab* na área de lesão no momento da indução da queimadura e nos respectivos dias de biópsias, para avaliar o grau de contaminação das injúrias.

Para determinar a retração das lesões, as áreas foram fotografadas por uma câmera fotográfica (Alpha 3000K/B- SONY), a uma distância de 20 cm, e calculadas pelo software Image J 2.0. O índice de cicatrização das lesões (ICL), para análise da reepitelização, foi calculado de acordo com a equação  $[ICL = (A_i - A_f)/A_i]$ , que representa o quociente entre a diferença da área inicial ( $A_i$ ) e final ( $A_f$ ), pela área inicial, multiplicado por 100, para expressar o valor em porcentagem da contração da ferida (Albuquerque et al., 2017). Neste caso, a área inicial corresponde ao dia da indução da ferida por queimadura ( $T_0$ ), e a área final corresponde ao dia da eutanásia ( $T_3$ ,  $T_{14}$  e  $T_{21}$ ).

## **2.6. Processamento dos dados e análise estatística**

Os dados foram analisados por meio de testes não paramétricos. Teste t, ANOVA *one-way* e *two-way* foram os testes utilizados e estão descritos com seus pós testes, quando necessário, em cada metodologia utilizada neste trabalho. Todos os resultados foram expressos como valores médios dos grupos  $\pm$  desvio padrão e foram analisados considerando o valor de  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1 Extração da Galactomanana**

A extração é uma operação unitária integrada no conjunto das operações baseadas na transferência de massa envolvida na etapa de purificação, sendo considerada um dos fatores importantes no cálculo do rendimento de extração, principalmente em nível industrial. Assim, diferentes métodos de extração e purificação podem afetar a estrutura dos polissacarídeos e, devido à estreita relação entre estrutura e função, modificar suas atividades biológicas (Albuquerque et al., 2022). As estruturas dos polissacarídeos são muito mais complexas que as de outras biomoléculas (peptídeos, proteínas e ácidos nucléicos) devido às diferenças de massa molecular relativa, composição e ordem dos monossacarídeos, ligação glicosídica, grau de polimerização e ponto de ramificação. Ainda, diferentes fontes, variedades e lotes de produtos naturais, e até mesmo diferentes purezas, métodos de extração e procedimentos de separação, têm impactos importantes nas propriedades físico-químicas e na caracterização estrutural dos polissacarídeos (Hou et al., 2022).

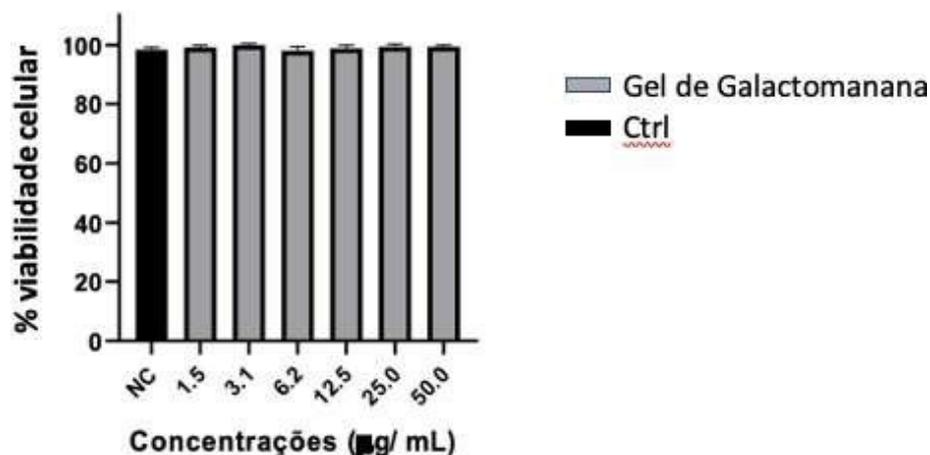
O rendimento de extração obtido foi de  $34 \pm 6\%$ , semelhante aos  $36 \pm 8\%$  encontrados por Albuquerque et al. (2017) e por Andrade et al. (2018) para as

sementes da mesma região (Pernambuco, Brasil), assim como os 32 - 34 % (p/p) reportados por Joshi e Kapoor (2003) para sementes de *C. grandis* da Índia. Ainda, foi bem superior aos 8,8%, 13,4% e 23,4% relatados por Carvalho et al. (2021) ao extrair a galactomanana de sementes comerciais (Arbocenter, São Paulo, Brasil) de *C. grandis* por 3 metodologias distintas. Diante do exposto, é possível inferir que a metodologia aqui utilizada foi eficiente para a obtenção da galactomanana em estudo.

### 3.2 Avaliação citotóxica

A avaliação da toxicidade de um produto é um dos principais parâmetros utilizados para se medir a biocompatibilidade que, conceitualmente, é a resposta biológica a um material. Considerando que a avaliação da toxicidade é refletida pela reação tecidual de um organismo a um determinado produto, a análise das células envolvidas nesta reação é essencial e necessária em estudos de biocompatibilidade. Durante o processo de cicatrização de feridas, a resposta biológica, isto é, a resposta imune, desempenha um papel importante. Os macrófagos residentes na pele são as primeiras células imunes que respondem a uma injúria, atraindo células adicionais relacionadas ao processo de cicatrização, como a migração e proliferação dos fibroblastos. Assim, o uso de linhagens celulares de fibroblastos para avaliar a toxicidade de produtos naturais adequados para aplicações biotecnológicas tem sido um fator importante na caracterização biológica de potenciais curativos para feridas (Albuquerque et al., 2017).

Os resultados obtidos pelo ensaio do MTT indicam que a viabilidade das células L-929 (fibroblastos murinos), expostas por 72 h a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> a diferentes concentrações do gel de galactomanana (1,5 – 50,00 µg/mL), não apresentaram diferenças significativas quando comparadas com a viabilidade do controle negativo (CN) sem tratamento (Fig.1). Isso porque a menor concentração (1,5 µg/mL) apresentou 100 ± 0,67 % de viabilidade celular, e a maior concentração (50,0 µg/mL) apresentou valor de 99,42 ± 0,42% ( $p > 0,05$ ).



**Fig. 1.** Efeito da concentração (1,5 – 50,0 µg/mL) do gel de galactomanana na viabilidade em células L-292 (fibroblastos murinos) pelo método do MTT, após 72h a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>; Controle negativo (CN): não recebeu o tratamento com o gel de galactomanana. Resultados expressos em relação ao controle negativo após aplicar ANOVA seguido do pós teste de Dunnett.

Esses resultados corroboram com outros resultados de MTT reportados pela literatura. Por exemplo, filmes da galactomanana (0,8 % p/v) de sementes de *C. grandis* (Cássia-rosa ou Acássia), quando testados frente a células Vero, apresentaram viabilidade de 89,80 ± 26,27% e 101,2 ± 16,07%, respectivamente após 24 e 48 h de incubação (Albuquerque et al., 2017). A galactomanana de sementes de *C. fistula* (Cássia-imperial ou Chuva de ouro), também testada em células Vero após 72h de incubação a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>, não reduziu a viabilidade celular até 500 µg/mL de concentração do polissacarídeo; porém, quando testada na concentração máxima de 1000 µg/mL, reduziu a viabilidade em 16% (Silva et al., 2020). Filmes à base da galactomanana de sementes de *Delonix regia* (Flamboyant ou Acácia-rubra), em diferentes concentrações, reticulados com EDC [1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride] associado ou não com gelatina de pele bovina tipo B, também não mostraram citotoxicidade independentemente da concentração da galactomanana em células L929; por isso, foram sugeridos para aplicações na engenharia de tecidos e em curativos para cicatrização de feridas (Siqueira et al., 2015).

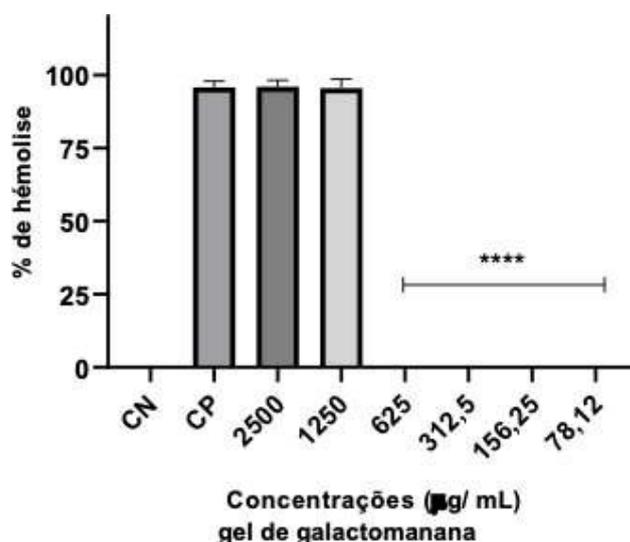
Quando testado em fibroblastos murinos (linhagem L-929) pelo MTT, após 72 h de tratamento, o gel de galactomanana deste trabalho apresentou valores de IC<sub>50</sub> e

intervalo de confiança de 95% (IC 95%) de 183,80 µg/mL e 113,80-414,20 µg/mL, respectivamente; por sua vez, a doxorubicina (controle positivo) apresentou valores de 0,26 µg/mL e 0,19-0,36 µg/mL. Com base nos critérios do Instituto Nacional do Câncer dos EUA (NCI), que atribui para um composto puro com atividade citotóxica significativa um valor de  $IC_{50} \leq 4$  mg/mL, podemos concluir que nenhum efeito citotóxico foi observado para o gel de galactomanana. De acordo com Alexandre et al. (2019), a ausência de citotoxicidade em linhagens de células normais pode ser interpretada como positiva por abrir novas perspectivas para estudos toxicológicos, tanto em outras células normais quanto em células cancerosas, avaliando seu potencial como agente antitumoral.

### **3.3 Avaliação hemolítica**

A liberação de hemoglobina no plasma ocasionada pela hemólise, que consiste na lise eritrocitária, pode gerar situações de risco ao organismo e, por isso, a hemólise representa a avaliação de toxicidade inicial mais comumente empregada. Assim, a atividade hemolítica do gel de galactomanana na faixa de 2500 a 78,12 µg/mL de concentração, usando eritrócitos murinos, foi investigada (Fig. 2).

Os resultados mostraram que, para as concentrações de 625 a 78,12 µg/mL, não houve hemólise em comparação ao controle negativo, indicando que o gel de galactomanana, nesta faixa de concentração, é desprovido de atividade hemolítica e, portanto, apresenta potencial para diversas aplicações biotecnológicas sem toxicidade aparente. A atividade hemolítica do hidrogel fabricado com carboximetil quitosana e funcionalizado com alginato de sódio via reação de base de Schiff também foi avaliado quanto à atividade hemolítica, neste caso frente a eritrócitos humanos. A taxa de hemólise medida foi inferior a 5 % confirmou que o hidrogel é um material não hemolítico e, por isso, pode ser usado para a construção de enxertos de cicatrização de feridas (Xuan et al., 2021).



**Fig. 2.** Efeito da concentração do gel de galactomanana (2500-78,12 µg/mL) no percentual de hemólise em eritrócitos de ratos Wistar machos (2%); controle negativo (CN, solução salina) e controle positivo (CP, Triton X-100 a 1%). \* $p < 0.0001$ , em relação ao controle positivo, obtido pelo teste de variação do ANOVA seguido pelo teste de Dunnett.

Concentrações da galactomanana acima de 1250 µg/mL, no entanto, apresentaram hemólise semelhante ao controle positivo. Porém, é importante mencionar que, dependendo da aplicação esperada para o gel da galactomanana da *C. grandis*, este resultado pode não ser relevante (Albuquerque et al., 2016); por exemplo, a aplicação tópica testada no modelo animal para feridas por queimadura do presente trabalho não foi influenciada negativamente por qualquer nível de hemólise (vide subtópico 3.5 Atividade cicatrizante para melhor explanação destes resultados).

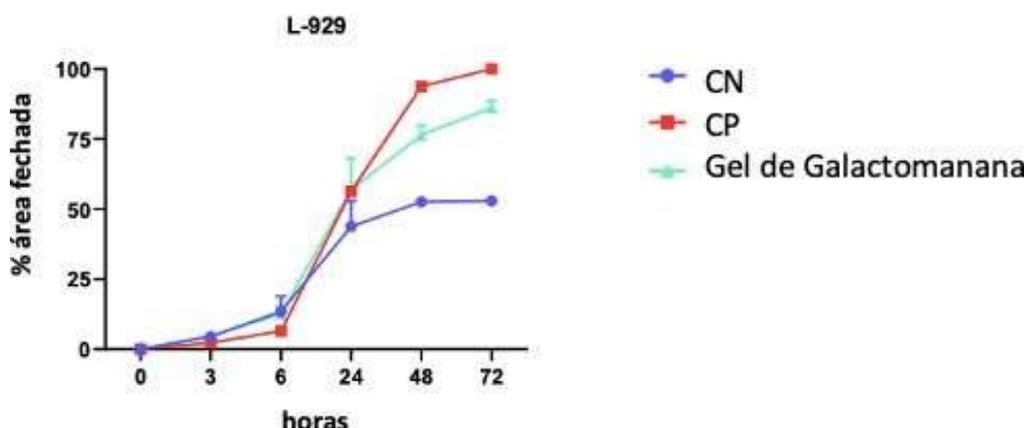
### 3.4 Atividade cicatrizante *in vitro*

O ensaio de cicatrização de feridas *in vitro*, também conhecido como “ensaio de ranhura”, é um método simples, versátil e econômico para estudar a migração celular. Nesta técnica, uma fenda é gerada, com o auxílio de uma ponteira de 200 µL, na monocamada de células confluentes e a taxa de fechamento da ranhura e a

migração celular podem ser quantificadas fotografando com um microscópio invertido em vários intervalos de tempo (Liang et al., 2007).

Os resultados da taxa de fechamento das ranhuras em células L-929 (Fig. 3) revelaram que o gel de galactomanana (50 µg/mL) promoveu a migração celular ao longo do período de 3 (5 %) a 72 h (86 %) do tratamento após a lesão e diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do controle positivo (CP, com SFB) quando o mesmo apresentou taxa de migração de 100 % com 72 h. O grupo controle negativo (CN, sem SFB), por sua vez, apresentou taxa de fechamento após 72 h menor ( $p < 0,05$ ) que ambos os grupos, com valor de 50%. Os resultados sugerem que o gel de galactomanana proporcionou um ambiente propício e estimulante para o crescimento celular e corroboram com os resultados de *Scratch wound healing* reportados na literatura para diferentes fontes de polissacarídeos avaliados de maneira isolada ou em combinação com outras moléculas, em estrutura nano ou microscópica.

O sistema MOS-PS-AgNPs, por exemplo, formado pelo polissacarídeo isolado das sementes de *Moringa oleífera* (MOS-PS) em associação com nanopartículas de prata (AgNPs) foi avaliado quanto ao seu potencial de cura pela taxa de migração da linhagem de fibroblastos L929. As células foram enriquecidas com MOS-PS-AgNPs na faixa de concentração de 3,5 a 12,5 µg/mL e o tratamento com 6,5 µg/mL exibiu aumento perceptível na taxa de migração (91%) em comparação com outras concentrações do sistema e o controle (~27%) (Mehwish et al., 2021). Dois biomateriais marinhos, carboximetil quitosana (CMC) e peptídeos de colágeno (COP) surgiram como promissores curativos para queimaduras no trabalho de Cheng et al. (2019). Eles revelaram que o tratamento com esponjas CMC-COP a 100 µg/mL, preparadas por acoplamento covalente e liofilização e avaliadas pelo *Scratch wound healing* teste, teve efeitos significativos na taxa de fechamento das ranhuras. O ácido hialurônico, um polissacarídeo de origem animal e natural, popularmente conhecido por influenciar o processo de cicatrização, foi conjugado com a curcumina, um outro agente cicatrizante promissor, e avaliado em testes *in vitro* e *in vivo*. Em relação ao *Scratch wound healing* teste, o conjugado melhorou a migração de células em feridas por arranhão em comparação com o tratamento da curcumina nativa (Sharma et al., 2018).



**Fig. 3.** Porcentagem de confluência da ferida indicando a taxa de fechamento da ferida em linhagem L-929, tratada com o gel de galactomanana na concentração de 50 µg/mL no intervalo de tempo (0 – 72 h) (▲); CP: (■) Controle positivo (meio DMEM suplementado com SFB 10%); CN: (●) Controle negativo (meio DMEM sem SFB).

### 3.5 Atividade cicatrizante *in vivo*

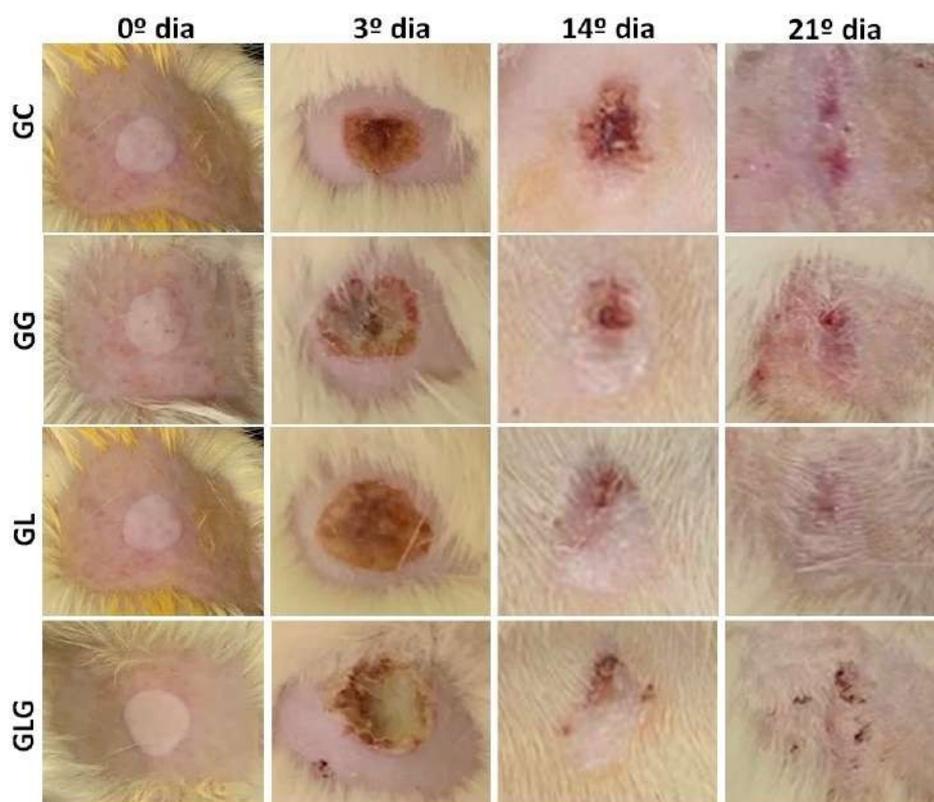
#### 3.5.1 Avaliação macroscópica

Ao longo dos 21 dias de experimento, todos os animais permaneceram clinicamente bem, alimentando-se normalmente e com comportamento rotineiro. Levando em consideração que um dos principais sinais de dor em animais de laboratório submetidos a procedimentos experimentais está diretamente relacionado a mudanças de comportamento, não foram observados sinais significativos, como anorexia ou autofagia, confirmando os bons sinais clínicos dos animais.

Para a indução das feridas por queimadura, o método de tração manual foi utilizado para a retirada do pelo dos animais, reduzindo a possibilidade de lesões ocasionadas, por exemplo, por lâminas ou outros dispositivos perfurocortantes. Durante todo o processo cirúrgico, não houve sangramentos nem lesões associadas à pele dos animais. Ademais, tanto os grupos tratados quanto o grupo controle não apresentaram alterações estatisticamente significativas no peso corporal ao longo do período experimental, assim como nenhuma diferença na ingestão de alimentos, corroborando como reportados por Steintraesseet al. (2005) para os grupos de falsa queimadura e o grupo apenas de queimadura. Também não foi detectada contaminação microbiana durante o período

experimental, o que sugere a presença de mecanismos inatos de defesa antimicrobiana.

As observações macroscópicas (Fig. 4) revelaram que as feridas induzidas por queimadura térmica apresentaram coloração branca no dia do procedimento.



**Fig. 4.** Aspectos macroscópicos das feridas induzidas por queimadura de segundo grau, no momento do procedimento (dia 0) e nos demais dias de avaliação (3, 14 e 21), para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG).

No 3º dia de experimento, é possível descrever edema leve e margem indistinta de eritema para todos os grupos, com ausência de bolhas associadas à queimadura. Definição semelhante é relatada por Cai et al. (2014), que reportaram queimaduras profundas de segundo grau e lesões apresentando cor pálida com margens indistintas de eritema ao utilizar haste cilíndrica de 100 g (1 cm de diâmetro) aquecida a 100 °C, por 5 s, com o próprio peso da haste. Ainda em relação ao 3º dia de análise, todos os grupos apresentaram crosta primária, espessa e seca recobrendo a ferida, sendo as queimaduras dos grupos GG e GLG com tendência ao amarelo, enquanto o grupo GC

apresentou feridas de tonalidade castanha e o grupo GL de aspecto avermelhado. Com o passar dos dias, a crosta ampliou-se e, por volta do 7º dia, atingiu toda a superfície da queimadura, protegendo a ferida de contaminação microbiana e da perda de fluidos.

Ao longo dos 21 dias de experimento, todos os animais permaneceram clinicamente bem, alimentando-se normalmente e com comportamento rotineiro. Levando em consideração que um dos principais sinais de dor em animais de laboratório submetidos a procedimentos experimentais está diretamente relacionado a mudanças de comportamento, não foram observados sinais significativos, como anorexia ou autofagia, confirmando os bons sinais clínicos dos animais.

Para a indução das feridas por queimadura, o método de tração manual foi utilizado para a retirada do pelo dos animais, reduzindo a possibilidade de lesões ocasionadas, por exemplo, por lâminas ou outros dispositivos perfurocortantes. Durante todo o processo cirúrgico, não houve sangramentos nem lesões associadas à pele dos animais. Ademais, tanto os grupos tratados quanto o grupo controle não apresentaram alterações estatisticamente significativas no peso corporal ao longo do período experimental, assim como nenhuma diferença na ingestão de alimentos, corroborando como reportados por Steintraesse et al. (2005) para os grupos de falsa queimadura e o grupo apenas de queimadura. Também não foi detectada contaminação microbiana durante o período experimental, o que sugere a presença de mecanismos inatos de defesa antimicrobiana.

As observações macroscópicas (Fig. 4) revelaram que as feridas induzidas por queimadura térmica apresentaram coloração branca no dia do procedimento. No 3º dia de experimento, é possível descrever edema leve e margem indistinta de eritema para todos os grupos, com ausência de bolhas associadas à queimadura. Definição semelhante é relatada por Cai et al. (2014), que reportaram queimaduras profundas de segundo grau e lesões apresentando cor pálida com margens indistintas de eritema ao utilizar haste cilíndrica de 100 g (1 cm de diâmetro) aquecida a 100 °C, por 5 s, com o próprio peso da haste. Ainda em relação ao 3º dia de análise, todos os grupos apresentaram crosta primária, espessa e seca recobrando a ferida, sendo as queimaduras dos grupos GG e GLG com tendência ao amarelo, enquanto o grupo GC apresentou feridas de tonalidade castanha e o grupo GL de aspecto avermelhado. Com o passar dos dias, a crosta ampliou-se e, por volta do 7º dia, atingiu toda a

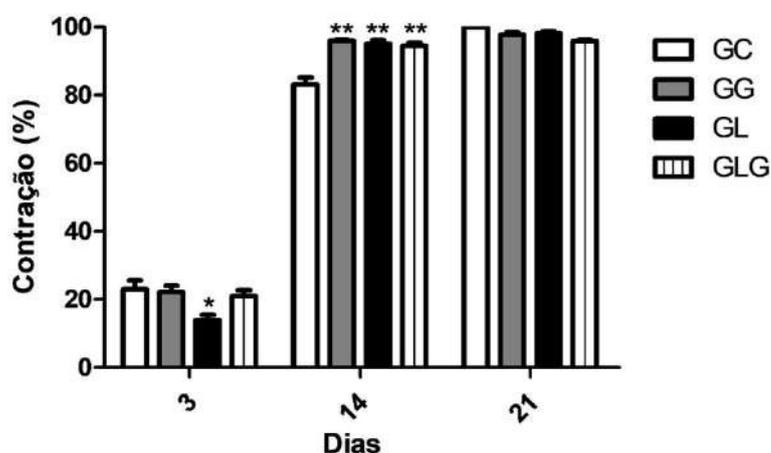
superfície da queimadura, protegendo a ferida de contaminação microbiana e da perda de fluidos.

A hidratação de uma área queimada mostra-se benéfica para a cicatrização, pois o resfriamento de feridas causadas por queimadura é uma medida de urgência nas práticas clínicas e experimentais. Nos últimos anos, o uso de polissacarídeos de plantas para aplicações cutâneas vem ganhando atenção porque alcança eficácia potente contra desidratação, envelhecimento, infecções microbianas e câncer de pele. Uma das possíveis aplicações desses polissacarídeos é atuar na pele, que é o maior órgão do corpo humano e pode ser envelhecido/danificado por processos intrínsecos e extrínsecos (Albuquerque et al., 2022). Assim, os polissacarídeos são conhecidos como os hidratantes mais comuns em cosméticos, uma vez que os grupos hidroxila, carboxila e outros grupos polares comumente encontrados nessas moléculas podem formar ligações de hidrogênio com moléculas de água. Seu efeito hidratante tem sido atribuído principalmente à estrutura da rede tridimensional formada a partir do entrelaçamento de cadeias moleculares de polissacarídeos, as quais apresentam propriedades adequadas à formação de filmes e podem, portanto, despontar como promissoras formulações hidratantes para a pele. Apesar de alguns estudos já terem se voltado para a avaliação da atividade hidratante de polissacarídeos, o modo de ação pelo qual a molécula apresenta esta atividade ainda precisa ser melhor discutido, principalmente com o intuito de esclarecer a relação entre a atividade hidratante e sua composição monossacarídica (Zhang et al., 2022).

No caso em estudo, o gel de galactomanana funcionou como um tampão hemostático para os grupos GG e GLG, incrementando a hidratação do ambiente queimado visto que o gel consegue transferir umidade para a ferida através da sua rede tridimensional com alta porcentagem de água, o que promove a hidratação e ainda facilita a contração das bordas da ferida (parâmetro essencial para avaliar a cicatrização). Com 14 dias de experimento, é possível observar uma redução significativa no tamanho das feridas. Os grupos GC, GG e GLG apresentaram descolamento total da crosta, enquanto o grupo GL perdeu completamente a crosta no dia 21.

Conforme observado na Fig. 4, a contração das lesões cutâneas ocorre de forma centrípeta a partir das bordas da lesão; de acordo com Zhou et al. (2020), esse processo está intimamente relacionado à ação dos miofibroblastos presentes no local

da lesão. A percentagem de contração das feridas, relatada na Fig. 5, corrobora, assim, os aspectos macroscópicos acima mencionados.



**Fig. 5.** Índice de contração das feridas induzidas por queimadura para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG) ao longo de 21 dias de experimento. (\*) representa diferença estatística ( $p < 0,05$ ) do GL em relação a todos os demais grupos experimentais. (\*\*) representa diferença estatística ( $p < 0,05$ ) quando comparado ao grupo controle (GC).

No 3º dia de análise, o grupo GL ( $13,89 \pm 3,41$  %) apresentou contração estatisticamente menor ( $p < 0,05$ ) quando comparada a todos os demais grupos, os quais não diferiram entre si (taxa de contração média de aproximadamente 26 %). Com 14 dias de experimento, todos os grupos reduziram significativamente o tamanho das feridas, tendo os grupos tratados apresentado taxa de contração maior ( $p < 0,05$ ) do que GC; neste caso, GG, GL e GLG não diferiram entre si (taxa de contração média de aproximadamente 95 %) e GC contraiu  $83,14 \pm 4,43$  %, confirmando os resultados reportados na Fig. 4. Com 21 dias de experimento, todos os grupos apresentaram elevada taxa de contração (aproximadamente 100 %) e não diferiram estatisticamente entre si.

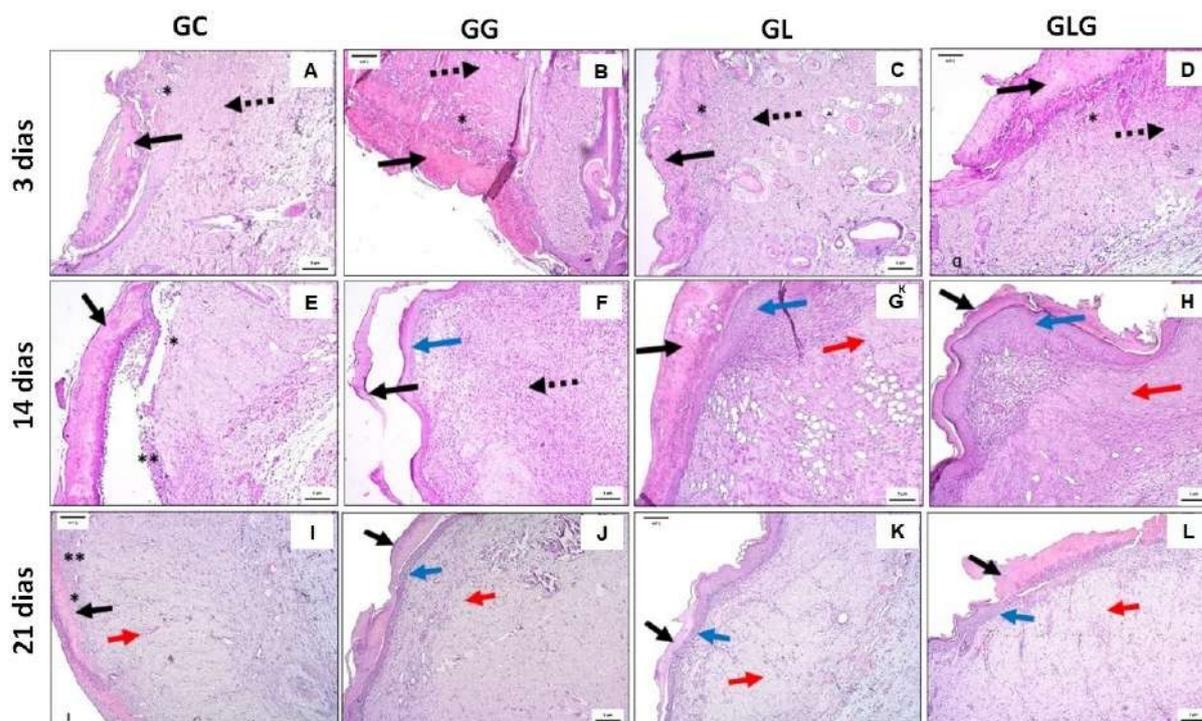
Como já mencionado anteriormente, a cicatrização de feridas é uma reação fisiológica natural à lesão tecidual, que envolve quatro fases sucessivas, mas sobrepostas, incluindo hemostasia, fase inflamatória, fase proliferativa e fase de

remodelação (Wallace, Basehore e Zito, 2022). Assim, os resultados obtidos demonstram a eficiência dos diferentes tratamentos (gel, TFBM e TFBM+gel), principalmente durante a fase inflamatória/proliferativa envolvendo os primeiros 14 dias, quando comparado ao controle (NaCl), corroborando com os reportados para a galactomanana das sementes de *C. grandis* (Albuquerque et al., 2017) e TFBM (Aragão-Neto et al., 2017) por auxiliarem na retração de feridas.

Outros polissacarídeos reportados pela literatura apresentaram o mesmo padrão de diminuição gradual do tamanho da ferida e promoveram cicatrização em ratos, assim como observado neste trabalho. Por exemplo, o hidrogel fabricado com carboximetil quitosana e funcionalizado com alginato de sódio via reação de base de Schiff também observou que a área da ferida dos animais tratados foi estatisticamente menor que a dos animais controles. Após o 14º dia de experimento, as feridas tratadas foram quase completamente cobertas por pele e cabelos regenerados (Xuan et al., 2021). O sistema MOS-PS-AgNPs (mencionado no tópico 3.4 Atividade cicatrizante *in vitro*) não apresentou alterações significativas na área de fechamento da ferida em relação ao controle negativo com 3 dias de análise. No dia 9, o processo de cicatrização progrediu em todos os grupos, como o esperado, com o processo de cicatrização máximo observado nos animais tratados com a dose mais alta do conjunto; para este grupo, houve uma redução significativa na área da ferida e já no dia seguinte observou-se completo fechamento sem formação de cicatriz (Mehwish et al., 2021).

### **3.5.2. Avaliação histológica**

A análise histopatológica dos espécimes obtidos no presente trabalho está apresentada na Fig. 6 (coloração com HE) e Fig. 7 (coloração com MT).



**Fig. 6.** Observações celulares coradas em HE das feridas induzidas por queimadura para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG), respectivamente, com 3 (A, B, C e D), 14 (E, F, G e H) e 21 (I, J, K e L) dias de experimento. Legenda: destruição do estrato epitelial (\*), infiltrado inflamatório (\*\*), material proteico amorfo (seta preta), colágeno modificado (seta pontilhada), área de reepitelização (seta azul), área de remodelação estromal (seta vermelha). Barras de escala: 5  $\mu$ m.

No 3º dia experimental, todos os grupos apresentaram o mesmo padrão de injúria tissular, com destruição do estrato epitelial (representado por \*), presença de material proteico amorfo (representado pela seta preta e perceptível em maior quantidade para os grupos GG (Fig. 6B) e GLG (Fig. 6D) e fibras colágenas modificadas (representadas pela seta pontilhada). No 14º dia de análise, GC manteve o padrão de destruição do estrato epitelial e demonstrou infiltrado inflamatório em área edemaciada (representado por \*\* e perceptível para o grupo Fig. 6E). A presença de material proteico amorfo ainda foi observada em todos os grupos experimentais, porém os grupos GG (Fig. 6F), GL (Fig. 6G) e GLG (Fig. 6H) demonstraram maior eficiência na recuperação da base do estrato epitelial, com áreas de reepitelização

definidas e, inclusive, remodelação estromal especificamente para os grupos GL (Fig. 6G) e GLG (Fig. 6H). A epiderme regenerada muito mais longa (representada pela seta azul) e a derme com cicatrizes mais estreitas, com um maior número de células estromais, com destaque para os fibroblastos (representada pela seta vermelha), observadas nos grupos GL e GLG já aos 14 dias de análise, demonstram excelentes propriedades de cicatrização pró-ferida respectivamente para o tratamento com TFBM e este associado ao gel de galactomanana.

Aos 21 dias, no geral, todos os grupos demonstraram maiores achados de recuperação quando comparados a 3 e 14 dias. GC (Fig. 6I) e GG (Fig. 6J) apresentaram reepitelização (representada pela seta azul) apesar da presença de áreas lesionadas com discreta alteração reativa; em GC, inclusive, o estrato epitelial ainda era fino com discreto remodelamento estromal (representado pela seta vermelha). Nos grupos GL (Fig. 6K) e GLG (Fig. 6L), entretanto, é possível observar reepitelização e remodelação estromal bem definidas, destacando-se GLG com a melhor evolução de recuperação do epitélio. Nesse sentido, é possível afirmar que o tratamento com o gel de galactomanana associado à TFBM se destaca pelo potencial cicatrizante apresentado nas observações macroscópicas (tópico 5.1.1) e confirmado na análise histológica. A utilização do gel de galactomanana e da TFBM de maneira isolada, no entanto, também apresentaram eficiência, porém em menor grau.

Os resultados apresentados acima sugerem que a TFBM modula o número de células inflamatórias nos estágios iniciais da cicatrização de queimaduras cutâneas (Simões et al., 2022). Ainda, o processo de reparo da queimadura de segundo grau, como um maestro orquestrando os diferentes eventos celulares que envolvem desde a angiogênese até as interações com componentes extracelulares (Martínez-Higuera et al., 2021), relaciona uma reorganização e maior produção de fibras colágenas com aumento da força de tração e, conseqüentemente, uma acelerada contração da ferida (Oryan et al., 2018; Ying et al., 2019), assim como observado na Figura 5 (vide subtópico 3.5.1).

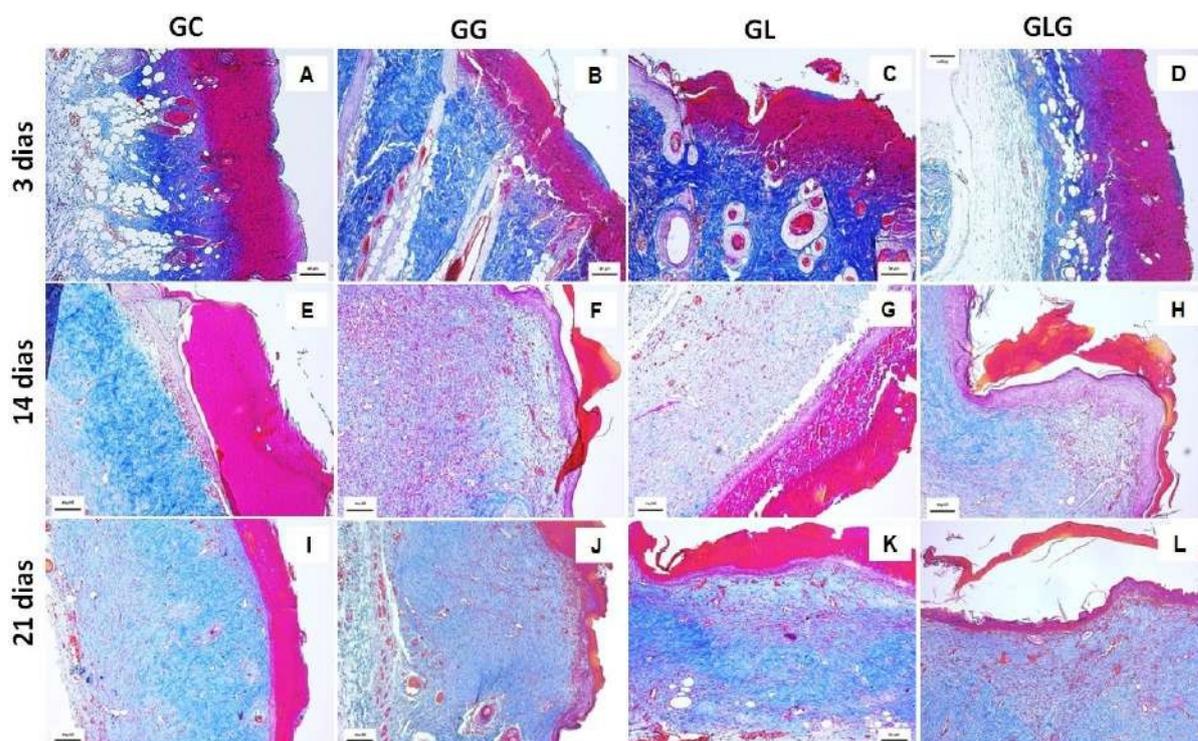
Levando em consideração a avaliação do colágeno visualizada a partir da coloração com Tricrômico de Masson (TM) na Fig. 7, é possível observar que GC (Fig. 7A), GG (Fig. 7B) e GL (Fig. 7C) apresentaram colágeno levemente modificado nas amostras com 3 dias de análise, enquanto GLG (Fig. 8D) apresentou colágeno moderadamente modificado, com uma diferenciação no sentido de fibras colágenas mais finas e mais densas. Com 14 dias de análise, todos os grupos apresentaram pelo

menos colágeno levemente modificado; o colágeno modificado e infiltrado do GG (Fig. 7F) pode ser considerado abundante em relação às demais amostras com mesmo período de análise, enquanto GL (Fig. 7G) e GLG (Fig. 7H) apresentaram colágeno mais denso e fino. Vale a pena destacar que epiderme edemaciada foi observada apenas na amostra GLG (Fig. 7H). Os achados encontrados nos grupos GL e GLG podem estar associados à interação luz-tecido, a qual produz efeitos fotobiológicos que induzem respostas anti-inflamatórias e analgésicas, além de um potencial bioestimulante sobre as células, proporcionando uma cicatrização mais acelerada (Gomes et al., 2020).

Com 21 dias de experimento, todos os grupos apresentaram colágeno bem distribuído com algumas particularidades de diferenciação; por exemplo, GC (Fig. 7I) e GG (Fig. 7J) continham colágeno denso enquanto GL (Fig. 7K) e GLG (Fig. 7L) apresentaram fibras colágenas mais densas e finas. O padrão de fibras colágenas reportado no presente trabalho é semelhante ao que já havia sido previamente encontrado por Aragão-Neto et al. (2017) estudando a terapia combinada de um hidrogel com laser de baixa potência na cicatrização de feridas em ratos. Eles observaram que o colágeno estava em moderada quantidade a partir do 7º dia de experimento em todos os grupos tratados com o laser e o hidrogel; ainda, observaram um espessamento no rearranjo de colágeno nos grupos tratados em relação ao controle (tratado com NaCl). Os resultados de Aragão-Neto et al. (2017) sugerem que a utilização de agentes cicatrizantes, como o hidrogel e o laser de baixa potência, ajuda na maturação das fibras colágenas e pode beneficiar o processo de cicatrização, tal qual o que foi encontrado no presente trabalho para a TFBM e ogel de galactomanana, em associação ou não.

O padrão de inflamação nos primeiros dias de experimento, com reepitelização parcial e regeneração da camada da epiderme entre 10 e 14 dias é um padrão histológico geralmente encontrado em avaliações da atividade cicatrizante de animais tratados com biopolímeros, a exemplo de polissacarídeos. Por exemplo, um hidrogel injetável à base de condroitina sulfato e alginato de sódio, com curcumina imobilizada e produzido pelo método de fundição de solvente, foi capaz de potencializar a reepitelização e aumentar a angiogênese e a deposição de colágeno no microambiente da ferida de ratos (Shah et al., 2021). Observações celulares em HE demonstraram um alto número de células inflamatórias e fibroblásticas na camada superior da derme dos animais tratados com o hidrogel até o 5º dia de experimento.

Com 15 dias, um tecido de granulação extenso, maduro e espesso confirmou o direcionamento para uma reepitelização completa. A coloração com TM também mostrou deposição de colágeno próximo ao 21º dia pós-operatório; comparativamente à pele normal, o colágeno foi distribuído similarmente e confirma o aumento da reepitelização e regeneração dérmica dos animais tratados com o hidrogel. Neste trabalho, a formulação natural, sustentável e biodegradável do gel à base da galactomanana da *C. grandis*, em associação ou não a TFBM com comprovada atividade anti-inflamatória, confirma o potencial biotecnológico do polissacarídeo e sugere que o efeito sinérgico positivo ocasionado pelo sistema GLG representa uma alternativa eficaz e promissora no tratamento de queimaduras de segundo grau.



**Fig. 7.** Observações celulares coradas com TM das feridas induzidas por queimadura para os grupos controle (GC), gel de galactomanana (GG), tratado com TFBM (GL) e tratado com TFBM associado ao gel de galactomanana (GLG), respectivamente, com 3 (A, B, C e D), 14 (E, F, G e H) e 21 (I, J, K e L) dias de experimento. Barras de escala: 5  $\mu$ m.

## Conclusão

Considerando as observações macroscópicas e microscópicas apresentadas no presente trabalho, é possível concluir que os tratamentos isolados (gel ou laser/TFBM) efetivamente aceleraram a cicatrização de queimaduras em ratos Wistar; contudo, quando em associação (TFBM+gel), o sistema promoveu reepitelização e remodelação estromal com melhor evolução de recuperação do epitélio devido ao efeito sinérgico positivo, garantindo, assim, a formação de um tecido cutâneo de qualidade, despontando como uma ferramenta inovadora na reparação de queimaduras. Além disso, as análises de viabilidade celular, atividade hemolítica e cicatrização *in vitro* demonstraram que a galactomanana extraída das sementes de *C. grandis* é biocompatível, atóxica e eficiente no reparo de lesões celulares, confirmando o potencial promissor da galactomanana como alternativa terapêutica, natural e sustentável para a indústria da saúde, em especial como um gel tópico cicatrizante, isolado ou em associação com outros agentes cicatrizantes.

## Agradecimentos

Maria G. Carneiro-da-Cunha e Teresinha G Silva expressam sua gratidão ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de pesquisa e Katia A. Ribeiro pela bolsa de pós-doutorado.

## Referências

- Albuquerque, P.B.S.; Coelho, L.C.; Teixeira, J.A.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*, Carbohydr. Polym. 104 (2014) 127–134. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.010>.
- Albuquerque, P.B.S.; Oliveira, W.F.; Silva, P.M.S.; Correia, M.T.S.; Kennedy, J.F.; Coelho, L.C.B.B. 2022. Skincare application of medicinal plant polysaccharides — A review, Carbohydr. Polym. 277, 118824. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118824>.
- Albuquerque, P.B.S.; Silva, C.S.; Soares, P.A.G.; Barros JR, W.; Correia, M.T.S.; Coelho, L.C.B.B.; Teixeira, J.A.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Investigating a galactomannan gel obtained from *Cassia grandis* seeds as immobilizing matrix for Cramoll lectin, Int. J. Biol. Macromol. 86 (2016) 454–461. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.107>.

Albuquerque, P.B.S.; Soares, P.A.G.; Aragão-Neto, A.C.; Albuquerque, G.S.; Silva, L.C.N.; Lima-Ribeiro, M.H.M.; Silva Neto, J.C.; Coelho, L.C.B.B.; Correia, M.T.S.; Teixeira, J.A.C.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin, *Int. J. Biol. Macromol.* 102 (2017) 749-757. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.064>.

Alexandre, S.M.A.; Silva, M.L.C.; Vasconcelos, A.F.D.; Cavalcante, D.G.S.M.; Job, A.E.; Ferreira, L.G.; Nosedá, M.D.; Duarte, M.E.R. Caracterização química e avaliação da citotoxicidade de um heteropolissacarídeo isolado da biomassa do *Colletotrichum gloeosporioides*, *Quim. Nova* 42 (2019) 405-411. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170347>.

Andrade, F.J.E.T.; Albuquerque, P.B.S.; Seixas, J.R.P.C.; Feitoza, G.S.; Barros-Júnior, W.; Vicente, A.A.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Influence of *Cassia grandis* galactomannan on the properties of sponge cakes: a substitute for fat, *Food Funct.* 9 (2018) 2456. <http://dx.doi.org/10.1039/c7fo01864a>.

Aragão-Neto, A.C.; Soares, P.A.G.; Lima-Ribeiro, M.H.M.; Carvalho, E.J.A.; Correia, M.T.S.; Carneiro-da-Cunha, M.G. Combined therapy using low level laser and chitosan-policaju hydrogel for wound healing, *Int. J. Biol. Macromol.* 95 (2017) 268-272, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.019>.

Atuá, R.H.; Pereira, K.F.S.; Gaetti Jardim, E.C.; Zafalon, E.J.; Boscaine, E.F.; Silva, J.C.L. Emprego do Laser de baixa intensidade no pós-operatório de exodontia de terceiros molares/Use of low level laser therapy in the postoperative of exodontia of third molars, *Arch. Health Invest.* 10 (2021) 489-496. <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v10i3.5002>.

Braga, R.C.; Teixeira-Sá, D.M.A.; Ribeiro, A.F.; Miranda, R.L.; Almeida, L.M.; Horta, A.C.G.; Moreira, R.A. Evaluation of *Caesalpinia pulcherrima* endospermic gum as affinity matrices for galactose-binding lectins interaction, *Braz. Arch. Biol. Technol.* 54 (2011) 283-292. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000200009>.

Buachan, P.; Chularojmontri, L.; Wattanapitayakul, S.K. Selected Activities of *Citrus Maxima* Merr. Fruits on Human Endothelial Cells: Enhancing Cell Migration and Delaying Cellular Aging, *Nutrients* 6 (2014) 1618-1634. <https://doi.org/10.3390/nu6041618>.

Cai, E.Z.; Ang, C.H.; Raju, A.; Tan, K.B.; Hing, E.C.H.; Loo, Y.; Wong, Y.C.; Lee, H.; Lim, J.; Mochhala, S.M.M.; Hauser, C.A.E.; Lim, T.C. Creation of Consistent Burn

- Wounds: A Rat Model, *Arch. Plast. Surg.* 41 (2014) 317-324.  
<http://dx.doi.org/10.5999/aps>.
- Carvalho, R.; Pedrosa, C.; Leal, A.; Palermo, L.; Mansur, C. Extraction, characterization and rheological behavior of galactomannans in high salinity and temperature conditions, *Int. J. Polym. Anal. Charact.* 26 (2021) 573-592.  
<https://doi.org/10.1080/1023666X.2021.1930748>.
- Cheng, Y.; Hu, Z.; Zhao, Y.; Zou, Z.; Lu, S.; Zhang, B.; Li, S. Sponges of Carboxymethyl Chitosan Grafted with Collagen Peptides for Wound Healing, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019) 3890. <https://doi/10.3390/ijms20163890>.
- Costa-Lotufo, L.V.; Khan, M.T.H.; Ather, A.; Wilke, D.V.; Jimenez, P.C.; Pessoa, P.; Moraes, M.E.A.; Moraes, M.O. Studies of the anticancer potencial of plants used in Bangladeshi folk medicine, *J. Ethnopharmacol.* 99 (2005) 21-30.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.041>.
- Dompe, C.; Moncrieff, L.; Matys, J.; Grzech-Leśniak, K.; Kocherova, I.; Bryja, A.; Bruska, M.; Dominiak, M.; Mozdziak, P.; Skiba, T.H.I.; Shibli, J.A.; Volponi, A.A.; Kempisty, B.; Dyszkiewicz-Konwińska, M. Photobiomodulation-Underlying Mechanism and Clinical Applications, *J. Clin. Med.* 9 (2020) 1724.  
<http://dx.doi.org/10.3390/jcm9061724>.
- Farokhi, M.; Mottaghitlab, F.; Fatahi, Y.; Khademhosseini, A.; Kaplan, D.L. Overview of silk fibroin use in wound dressings, *Trends Biotechnol.* 36 (2018) 907–922.  
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.04.004>.
- Garros-Rosa, I.; Reicher, F.; Petkowicz, C.L.O.; Sierakowski, M.R.; Moreira, R.A. Characterization of the Galactomannans from *Parkinsonia Aculeata* Seeds and their Application on Affinity Chromatography, *Polímeros*, 6 (2006) 99-103.  
<https://doi.org/10.1590/S0104-14282006000200008>.
- Ghomi, E.R.; Khalili, S.; Khorasani, S.N.; Neisiany, R.E.; Ramakrishna, S. Wound dressings: Current advances and future directions. *J. Appl. Pol. Sci.* 136 (2019) 47738.  
<https://doi.org/10.1002/app.47738>.
- Gomes, B.S.; Bomfim, F.R.C.; Lopes Filho, G.J. A fotobiomodulação no processo cicatricial da pele - revisão da literatura /Photobiomodulation in wound healing process -literature review, *Braz. J. Dev.* 6 (2020) 66814–66826.  
<https://doi.org/10.34117/bjdv6n9-207>.

- Han, H-S.; Song, K.B. Noni (*Morinda citrifolia*) fruit polysaccharide films containing blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaf extract as an antioxidant packaging material. *Food Hydrocol.* 112 (2021) 106372. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106372>.
- Huo, J.; Wu, Z.; Zhao, H.; Sun, W.; Wu, J.; Huang, M.; Zhang, J.; Wang, Z.; Sun, B. Structure-activity relationship of antioxidant polysaccharides from Huangshui based on the HPLC fingerprint combined with chemometrics methods, *LWT - Food Sci. Technol.* 159 (2022) 113201. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113201>.
- Joshi, H.; Kapoor, V.P. Cassia grandis Linn. f. seed galactomannan: structural and crystallographical studies, *Carbohydr. Res.* 338 (2003) 1907-1912. [https://doi.org/10.1016/s0008-6215\(03\)00258-1](https://doi.org/10.1016/s0008-6215(03)00258-1).
- Keshri, G.K.; Yadav, A.; Verma, S.; Kumar, B.; Gupta, A. Effects of pulsed 810 nm AlGa-As diode laser on wound healing under immunosuppression: a molecular insight, *Lasers Surg. Med.* 5 (2020) 424-436. <https://doi.org/10.1002/lsm.23156>.
- Khan, T.; Date, A.; Chawda, H.; Patel, K. Polysaccharides as potential anticancer agents - a review of their progress. *Carbohydr. Polym.* 210 (2019) 412-428. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.064>.
- Liang, C.C.; Park, A.Y.; Guan J.L. *In vitro* scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration *in vitro*, *Nat. Protoc.* 2 (2007) 329-333. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.30>.
- Martínez-Higuera, A.; Rodríguez-Beas, C.; Villalobos-Noriega, J.M.A.; Arizmendi-Grijalva, A.; Ochoa-Sánchez, C.; Larios-Rodríguez, E.; Martínez-Soto, J.M.; Rodríguez-León, E.; Ibarra-Zazueta, C.; Mora-Monroy, R.; Borbón-Nuñez, H.A.; García-Galaz, A.; Candia-Plata, M.C.; López-Soto, L.F. ; Iñiguez-Palomares, R. Hydrogel with silver nanoparticles synthesized by *Mimosa tenuiflora* for second-degree burns treatment, *Sci. Rep.* 11 (2021) 11312. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90763-w>.
- Mehwish, H.M.; Liu, G.; Rajoka, M.S.R.; Cai, H.; Zhong, J.; Song, X.; Xia, L.; Wang, M.; Aadil, R.M.; Inam-Ur-Raheem, M.; Xiong, Y.; Wu, H.; Amirzada, M.I.; Zhu, Q.; He, Z. Therapeutic potential of Moringa oleifera seed polysaccharide embedded silver nanoparticles in wound healing. *Int. J. Biol. Macromol.* 184 (2021) 144-158. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.202>.
- Moreira, J.A.R.; Vasconcelos, I.C.; Fachi, J.L.; Theodoro, V.; Dalia, R.A.; Aro, A.A.; Pimentel, E.R.; Gaspi, F.O.G.; Andrade, T.A.M.; Amaral, M.E.C.; Esquisatto, M.A.M.; Mendonça, F.A.S.; Santos, G.M.T. Application of Solidago chilensis and laser

improved the repair of burns in diabetic rats, *Biomed. J.* 44 (2021) 709-716. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.05.014>.

Moreira, R.A.; Castelo-Branco, C.C.; Monteiro, A.C.O.; Tavares, R.O.; Beltramini, L.M. Isolation and Partial Characterization of A Lectin From *Artocarpus Incisa* L. Seeds, *Phytochemistry*, 47 (1998) 1183–1188. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00753-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00753-X).

Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods* 65 (1983) 55- 63. [http://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](http://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).

Oryan, A.; Alemzadeh, E.; Tashkhourian, J.; ANA, S.F.N. Topical delivery of chitosan-capped silver nanoparticles speeds up healing in burn wounds: A preclinical study, *Carbohydr. Polym.* 200 (2018) 82-92. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.077>.

Pereira, D.S.T.; Lima-Ribeiro, M.H.M.; Santos-Oliveira, R.; Cavalcanti, C.L.B.; Pontes-Filho, N.T.; L.C.B.B. Coelho, Carneiro-Leão, A.M.A.; Correia, M.T.S. Topical Application Effect of the Isolectin Hydrogel (Cramoll 1,4) on Second-Degree Burns: Experimental Model, *J. Biomed. Biotechnol.* 2012 (2012) 184538. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/184538>

Robijns, J.; Lodewijckx, J.; Claes, S.; Van Bever, L.; Pannekoeke, L.; Censabella, S.. Bussé, L.; Colson, D.; Kaminski, I.; Broux, V.; Puts, S.; Vanmechelen, S.; Timmermans, A.; Noé, L.; Bulens, P.; Govers, M.; Maes, A.; Mebis, J. Photobiomodulation therapy for the prevention of acute radiation dermatitis in head and neck cancer patients (DERMISHEAD trial), *Radiother. Oncol.* 158 (2021) 268–275. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2021.03.002>.

Sai, K.P.; Babu, M. Traditional medicine and practices in burn care: need for newer scientific perspectives, *Burns*. 24 (1998) 387-388. [https://doi.org/10.1016/S0305-4179\(98\)00087-4](https://doi.org/10.1016/S0305-4179(98)00087-4)

Seshagiri, K.; Leelavathi, C.; Sasidhar, V. Cross-linked *Leucaena* Seed Gum Matrix: An Affinity Chromatography Tool for Galactose-specific Lectins, *J. Biochem. Mol. Biol.* 38 (2005) 370-372. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2005.38.3.370>.

Shah, S.A.; Sohail, M.; Khan, S.A.; Kousar, M. Improved drug delivery and accelerated diabetic wound healing by chondroitin sulfate grafted alginate-based thermoreversible hydrogels, *Mater. Sci. Eng. C.* 126 (2021) 112169. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112169>.

- Shao, L-L.; Xu, J.; Shi, M-J.; Wang, X-L.; Li, Y-T ; Kong, L-M.; Hider, R.C.; Zhou, T. Preparation, antioxidant and antimicrobial evaluation of hydroxamated degraded polysaccharides from *Enteromorpha prolifera*, *Food Chem.* 237 (2017) 481-487. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.119>.
- Sharma, M.; Sahu, K.; Singh, S.P.; Jain, B. Wound healing activity of curcumin conjugated to hyaluronic acid: *in vitro* and *in vivo* evaluation, *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 46 (2018) 1009-1017. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1358731>.
- Shen, S.; Fan, D.; Yuan, Y.; Ma, X.; Zhao, J.; Yang, J. An ultrasmall infinite coordination polymer nanomedicine-composited biomimetic hydrogel for programmed dressing-chemo-low level laser combination therapy of burn wounds, *Chem. Eng. J.* 426 (2021) 130610. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130610>.
- Silva, L.M.; Araújo, L.F.S.; Alvez, R.C.; Ono, L.; Sá, D.A.T.; Cunha, P.L.R.; Paula, R.C. M.; Maciel, J.S. Promising alternative gum: Extraction, characterization, and oxidation of the galactomannan of *Cassia fistula*, *Int. J. Biol. Macromol.* 165 (2020) 436–444. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.164>.
- Simões, T.M.S.; Fernandes Neto, J.A.; Nonaka, C.F.W.; Catão, M.H.C.V. Effects of photobiomodulation therapy with red LED on inflammatory cells during the healing of skin burns, *Lasers Med. Sci.* 37 (2022) 2817-2822. <https://doi.org/10.1007/s10103-022-03537-9>.
- Siqueira, N.M.; Paiva, B.; Camassola, M.; Rosenthal-Kim, E.Q.; Garcia, K.C.; Santos, F.P.; Soares, R.M.D. Gelatin and galactomannan based scaffolds: Characterization and potential for tissue engineering applications, *Carbohydr. Polym.* 133 (2015) 8-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.039>.
- Steinstraesser, L.; Burkhard, O.; Fan, M.H.; Jacobsen, F.; Lehnhardt, M.; Su, G.; Daigeler, A.; Steinau, H.U.; Remick, D.; Wang, S.C. Burn wounds infected with *Pseudomonas aeruginosa* triggers weight loss in rats, *BMC Surg.* 5:19 (2005) 1-7. <https://doi.org/10.1186/1471-2482-5-19>.
- Wallace, H.A.; Basehore, B.M.; Zito, P.M. Wound Healing Phases, [Updated 2022 Aug 25]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 29262065. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470443/>.
- Wang, M.; Zhao, S.; Zhu, P.; Nie, C.; Ma, S.; Wang, N.; Du, X.; Zhou, Y. Purification, characterization and immunomodulatory activity of water extractable polysaccharides from the swollen culms of *Zizania latifolia*, *Int. J. Biol. Macromol.* 107 (2018a) 882–89. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.062>.

- Wang, N.; Zang, X.; Wang, S.; Guo, Q.; Li, Z.; Liu, H.; Wang, C. Structural characterisation and immunomodulatory activity of polysaccharides from white asparagus skin, *Carbohydr. Polym.* 227 (2020) 115314. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115314>.
- Wang, X.; Xue, Y.; Li, Y.; Liu, F.; Yan, Y.; Zhang, H.; Jin, Q. Effects of *Isatis* root polysaccharide in mice infected with H3N2 swine influenza virus, *Res. Vete. Sci.* 119 (2018b) 91-98. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.04.012>.
- World Health Organization-WHO. Burns. WHO; 2018. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>, Accessed in 2022 (March 08).
- Xuan, H.; Wu, S.; Fei, S.; Li, B.; Yang, Y.; Yuan, H. Injectable nanofiber-polysaccharide self-healing hydrogels for wound healing, *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 128 (2021) 112264. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112264>.
- Yadav, A.; Priyadarshi, A.; Keshri, G.K.; Verma, S.; Gupta, A. Superpulsed 904 nm laser photobiomodulation combined with coenzyme Q10 synergistically augment burn wound healing, *J. Photochem. Photobiol.* 7 (2021) 100053, <https://doi.org/10.1016/j.jpap.2021.100053>.
- Ying, W.; Tan, J.; Chen, C.; Sun, T.; Wang, S.; Zhang, M. Biofabrication of silver nanoparticles and its application for development of wound dressing system in nursing care for burn injuries in children, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 54 (2019) 101236. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101236>.
- Zhang, T.; Guo, Q.; Xin, Y.; Liu, Y. Comprehensive review in moisture retention mechanism of polysaccharides from algae, plants, bacteria and fungus, *Arab. J. Chem.* 15 (2022) 104163. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104163>.
- Zhou, J.; Zhao, Y.; Yang, W.; Du, Q.; Yin, J.; Gu, Y.; Hao, C. Use of Mechanical Stretching to Treat Skin Graft Contracture, *J. Burn Care Res.* 41 (2020) 892-899. <https://doi.org/10.1093/jbcr/iraa033>.

# CAPÍTULO III

**5 ARTIGO 2- *Biodegradable Synthetic Polymers in Biomedical Application: A Review***

Artigo publicado na *Brazilian Journal of Health Review*



QUALIS (NOVO) CAPES: B3



## **Biodegradable synthetic polymers in biomedical application: A review**

### **Polímeros sintéticos biodegradáveis em aplicação biomédica: Uma revisão**

DOI:10.34119/bjhrv5n6-217

Recebimento dos originais: 04/11/2022

Aceitação para publicação: 09/12/2022

#### **Andrea Alves de Souza**

PhD student in the Graduate Program in Applied Biology for Health (PPGBAS)  
Institution: Instituto Keizo Asami (iLIKA) - Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
Address: Av. Moraes Rego S/N, Recife – PE, CEP:50670-901  
E-mail: andrea.alvessouza@ufpe.br

#### **Rita de Cássia Braga Granja**

PhD student in the Graduate Program in Applied Biology for Health (PPGBAS)  
Institution: Instituto Keizo Asami (iLIKA) - Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
Address: Av. Moraes Rego S/N, Recife – PE, CEP:50670-901  
E-mail: rita.granja@ufpe.br

#### **Elisandra Cibely Cabral de Melo**

PhD student in the Graduate Program in Biological Sciences (PPGCB)  
Institution: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
Address: Av. Moraes Rego S/N, Recife – PE, CEP:50670-420  
E-mail: elisandra.cabral@ufpe.br

#### **Wesley Felix de Oliveira**

PhD in Biological Sciences  
Institution: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
Address: Av. Moraes Rego S/N, Recife – PE, CEP:50670-420  
E-mail: wesley.felix@ufpe.br

#### **Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque**

PhD in Applied Health Biology  
Institution: Universidade de Pernambuco (UPE)  
Address: Rua Cap. Pedro Rodrigues, 105, Garanhuns – PE, CEP:55294-310  
E-mail: priscilla.albuquerque@upe.br

#### **Maria Tereza dos Santos Correia**

PhD in Biological Sciences  
Institution: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
Address: Av. Moraes Rego S/N, Recife – PE, CEP:50670-420  
E-mail: maria.tscorreia@ufpe.br

#### **Maria das Graças Carneiro-da-Cunha**

PhD in Biotechnology  
Institution: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)  
Address: Av. Moraes Rego S/N, Recife – PE, CEP:50670-420  
E-mail: mgcc@ufpe.br

**ABSTRACT**

Biotechnology associated with medical technology has allowed biodegradable synthetic polymers to have versatile and diversified biomedical applications due to interesting properties such as good cell adhesion, in vivo proliferation, and degradation without harmful effects to the human body. Thus, they are suitable for a variety of applications, especially those related to therapeutics or pharmaceuticals, for example, tissue engineering and drug delivery. This work aimed to revise the broad applications of the term biodegradation in different areas of science. We focused on the most recent biomedical applications of biodegradable synthetic polymers, revising the characteristics which have contributed to solving health-related problems. Actual, efficient, and consistent results have been introduced in the market as a result of the growing search for new technologies. They have been applied both at macro and nanometer scales, in isolated and conjugated forms, or even as encapsulating matrices. Biodegradable synthetic polymers present longer degradation periods when compared to natural polymers, they stand out in tissue engineering since they can be adjusted according to their composition, reaching various degrees of selectivity for specific clinical applications.

**Keywords:** antimicrobial, drug delivery, healing.

**RESUMO**

A biotecnologia associada à tecnologia médica tem permitido que os polímeros sintéticos biodegradáveis tenham aplicações biomédicas versáteis e diversificadas devido à propriedades interessantes como boa adesão celular, proliferação in vivo, e degradação sem efeitos nocivos ao corpo humano. Assim, eles são adequados para uma variedade de aplicações, especialmente aquelas relacionadas a terapêutica ou farmacêutica, por exemplo, engenharia de tecidos e entrega de drogas. Este trabalho teve como objetivo revisar as amplas aplicações do termo biodegradação em diferentes áreas da ciência. Focamos nas mais recentes aplicações biomédicas de polímeros sintéticos biodegradáveis, revisando as características que têm contribuído para a resolução de problemas relacionados com a saúde. Resultados reais, eficientes e consistentes foram introduzidos no mercado em decorrência da crescente busca por novas tecnologias. Eles têm sido aplicados tanto em escalas macro quanto nanométricas, de forma isolada e conjugada, ou mesmo como matrizes encapsulantes. Polímeros sintéticos biodegradáveis têm apresentado períodos de degradação mais longos quando comparados aos polímeros naturais, eles se destacam na engenharia de tecidos, pois podem ser ajustados de acordo com sua composição, atingindo vários graus de seletividade para aplicações clínicas específicas.

**Palavras-chave:** antimicrobiano, entrega de drogas, cicatrização.

**1 INTRODUCTION**

Synthetic polymers, popularly known as plastics, are materials produced by man in a laboratory or industrial scale, which emerged with reference to the composition of natural polymers. They are obtained by the addition of monomers to one another, the condensation of functional groups to form a second small molecule, or rearrangements between monomers; when formed by mixtures of two or more types of monomers, they are named copolymers. The emergence of these man-made polymers, whose monomers, in general, are extracted from



petroleum or its residues, had its importance recognized in several technological applications, such as health, textiles, electronic, and utensils; however, due to its large-scale production, the generation of high amounts of plastic waste increased environmental pollution. In the last decades, the global awareness of the society by minimizing this pollution encouraged the development of bio-based polymers, i.e., polymers with the extremely important characteristic of biodegradation.

As it is popularly known, the term biodegradable refers to naturally degradable materials, where degradation results mainly from the action of microorganisms, such as fungi, bacteria (with or without oxygen) and algae, generating CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, cellular components, and other products; however, the term biodegradation has not been applied consistently in different areas of science. For example, for environmentally degradable plastics, the term biodegradation can be associated to fragmentation, loss of mechanical properties, or sometimes associated with the degradation by living organisms. For medical tools, such as sutures, implants, and drug carriers in drug delivery systems, the term biodegradation is used to indicate degradation into macromolecules that stay into the body, but migrate or hydrolysis into low molecular weight (MW) molecules. Polyethylene prostheses used in joints are those example of low MW molecules that are excreted from the body (bioresorption) or dissolved without molecular weight modification (bioabsorption) [1].

In summary, biodegradable polymers can be degraded into the human body and their products remain in living tissues for a long time. When called bioabsorbable polymers, the products of degradation are non-toxic and can be metabolized or eliminated from the body. At this point, it is possible to observe that the term biodegradable has been used interchangeably with other terms, including absorbable, resorbable, and bioabsorbable [2]. Also, biodegradation has been replaced by the terms bioresorption or bioabsorption [3].

Considering the above, there is no single ideal method to determine the biodegradation of polymeric materials, since the degradation process of a material is not determined only by its chemical composition and the corresponding physical properties; also, the degradation environment in which the material is exposed affects the rate and degree of biodegradation [1].

Focusing on the already mentioned bio-based polymers, these biodegradable materials obtained from renewable sources have a minimal impact on the environment when compared to those obtained by chemical synthesis methods. As a result of this new class of bio-based synthetic polymers, the most widely used in the biomedical field is the polylactic acid (PLA), a polyester obtained by the polymerization of lactic acid (LA) monomers whose isolation occurs from renewable natural sources through bacterial fermentation. Due to its chirality, LA exists



as two stereoisomers, L- and D-lactic acid, resulting in the formation of poly-D-lactic acid (PDLA) and poly L-lactic acid (PLLA).

Biodegradable synthetic polymers have been constantly evaluated due to their high biocompatibility, as well as bioactive properties such as antimicrobial activity, immunomodulatory activity, high cell proliferation capacity, and angiogenesis. Considering the harsh environment of the human body, these polymers must achieve basic criteria (biocompatibility, non-toxicity or mutagenicity) and exhibit chemical resistance [4]. Another important property is the ability to be spun into fibers, through electrospinning, mimicking the extracellular matrix, thus allowing their use in different biomedical applications [5]. The example of implants explains the main reason for using biodegradable synthetic polymers in this field: their excellent elasticity, chemical stability, and, in most cases, low or non-toxicity.

Various medical devices, mainly polyester-based ones, are commercially available, and new models are introduced into the market each year. Their mechanical performance and the wide range of degradation properties allow several degrees of selectivity for specific clinical applications of these polymers. In tissue engineering, for example, biodegradable synthetic polymers are the most used for the construction of scaffolds as they degrade slowly and the process could be adjusted according to the material composition [6]. Some examples of biodegradable synthetic polymers applied in biomedical field are shown in Table 1.

Table 1. Some biodegradable synthetic polymers used in biomedical applications.

Polymer	Applications	References
<b>Polyglycolic acid (PGA)</b>	Tissue engineering	[7]
<b>Polylactic acid (PLA)</b>	Tissue engineering; Healing; Antimicrobial	[8-10]
<b>Poly (L-lactic acid) (PLLA)</b>	Tissue engineering	[11]
<b>Poly (D, L-lactic acid) (PDLA)</b>	Drug delivery	[12]
<b>Poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA)</b>	Tissue engineering; Antimicrobial	[13,14]
<b>Polyesteramide (PEA)</b>	Tissue engineering; Drug delivery	[15,16]
<b>Polycaprolactone (PCL)</b>	Tissue engineering; Healing; Antimicrobial; Drug delivery	[17-20]
<b>Poly (glycerol sebacate) (PGS)</b>	Tissue engineering; Healing; Antimicrobial; Drug delivery	[21-23]
<b>Polyurethane (PU)</b>	Tissue engineering; Drug delivery; Antimicrobial	[24-26]



One of the first biodegradable synthetic polymers studied in biomedical applications was polyglycolic acid (PGA); however, its intrinsic characteristics, such as high hydrophilicity, fast degradation, insolubility in most organic solvents, and fragility have hampered its practical use. Thus, PGA has been used mainly in the form of copolymers [28, 29]. Some studies have reported that the rapid degradation of PGA decreases its mechanical strength and increases glycolic acid levels; this acidic environment has also been associated with an exacerbation of the inflammatory response [30, 31].

In turn, PLA is a very promising biodegradable synthetic polymer. Regarding its synthesis, a multi-step fermentation process starts with the biosynthesis of lactic acid, which is then converted to cyclic lactide and then polymerized by a metal catalyst. As it is produced from renewable and non-toxic raw materials, PLA has emerged as an important polymeric material for biomedical applications due to its biocompatibility, biodegradability, mechanical strength, and easy processing. However, characteristics including low degradation rate, hydrophobicity, and low mechanical strength can impact and limit its use [32, 33]. PLA is presented in the following forms: poly (L-lactic acid) (PLLA), poly (D-lactic acid) (PDLA), poly (D, L-lactic acid) (PDLLA), and meso-poly (lactic acid) (PMLA); however, only PLLA and PDLLA have shown promising potential in biomedical applications [28].

PLLA is obtained from the methylation of PLA, which increases its hydrophobicity and also its stability against hydrolysis (even more than PGA). In view of this higher degradation rate, some studies are developed with the aim to modify this property, mixing or copolymerizing PLLA with other biodegradable polymers [28]. PDLLA is a racemic mixture of PLLA and PDLA, with a shorter degradation rate than PLLA and also associated with other biodegradable polymers to create copolymers; these mixtures form new materials with enhanced, more suitable properties for use in the biomedical field [28, 34].

Poly(lactide-co-glycolide) (PLGA), derived from the copolymerization of PLA and PGA, has controllable properties, well-defined formulation techniques (also easily replicated) and excellent biocompatibility and biodegradability; thus, it is considered the biodegradable synthetic polymer most researched for therapeutic applications. PLGA is being widely used in tissue engineering since it has demonstrated excellent cell adhesion and proliferation properties. Due to its rapid degradation when compared to other polyesters, PLGA has been applied in the



controlled distribution of drugs; depending on the composition of this copolymer, the release rate of the drug in the body may be then altered [32, 35].

Polyesteramides (PEAs) are polymers with ester-type and amide-type bonds in their main chain and thus combine the degradability of polyesters and the mechanical properties of polyamides. In view of this conformation, PEAs present susceptibility to enzymatic degradation by lipases; however, the increase in the number of amide groups decreases this characteristic. The extent of biodegradation appears to be dependent on the density and distribution of the polymer's hydrogen bonds, i.e., the length of the amide blocks present in copolyesteramides [36]. Thus, many studies have been focusing on polyesteramides, the obtainment of biodegradable plastics with improved properties (favorable to biodegradability), and potential biomedical applications.

Polycaprolactone (PCL) is a biodegradable, biocompatible polymer that has high elasticity and tensile strength. The slow rate of biodegradation of PCL produces fibers with excellent applicability in the area of tissue and artificial skin regeneration, in addition to application in other fields, for example in delivery systems [37].

Poly(glycerol sebacate) (PGS) is an elastomer polymer obtained from a simple polycondensation of glycerol and sebacic acid with important characteristics such as biocompatibility, biodegradability, and low inflammatory response when compared to other synthetic polymers; also, PGS has properties similar to collagen and elastin, which allowed its use for biomedical applications by the Food and Drug Administration (FDA) [38]. PGS properties can be modulated according to the parameters used during polymerization; for example, a fraction of glycerol can be lost with the process, thus causing significant changes in its properties [39]. For the processing of PGS, the presence of a carrier polymer is necessary, such as PCL, which is easily electrospun and able to produce uniform fibrous structures. The combination of PCL and PGS increases the viscosity of the mixture, the efficiency of the electrospinning process [40], and the adjustment of the degradation rate (by combining the concentration of each polymer in the proportion of the mixture) [39].

Polyurethanes (PUs) have been used in biomedical applications for decades due to its broad spectrum of physicochemical, mechanical, and structural properties. The development of new biologically based macromolecular architectures has allowed the development of PU structures for several suitable biomedical devices, such as for adhesion, proliferation, and differentiation of many cell types [41].

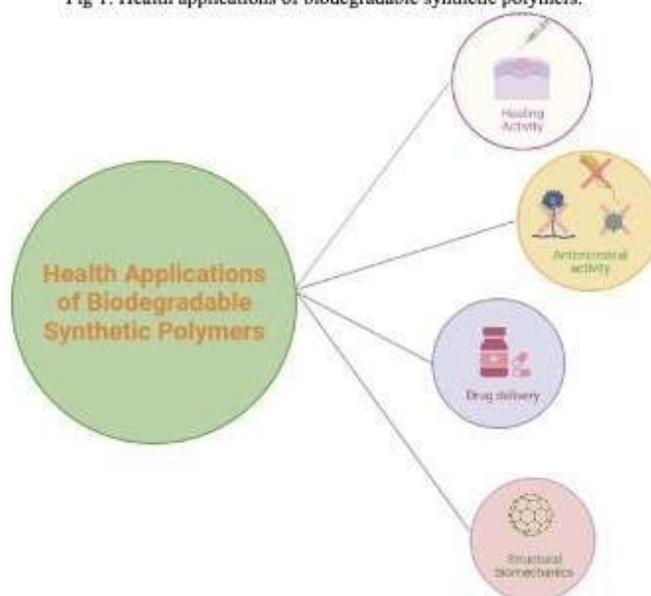
Polybutylene succinate (PBS) has been widely explored as a biodegradable packaging material since the 1990s; however, it has gained special attention recently, when the

regenerative medicine area discovered its many favorable properties. PBS has excellent mechanical and thermal properties, good processability, and low cost, which has highlighted PBS as an attractive material for various purposes, especially as a promising scaffolding material in bone tissue engineering applications [27].

### 1.1 APPLICATIONS OF BIODEGRADABLE SYNTHETIC POLYMERS IN THE HEALTH AREA

In this section, recent successful works with different objectives in the health area as healing, biomechanics, antimicrobial and drug delivery (Figure 1) are being presented.

Fig 1: Health applications of biodegradable synthetic polymers.



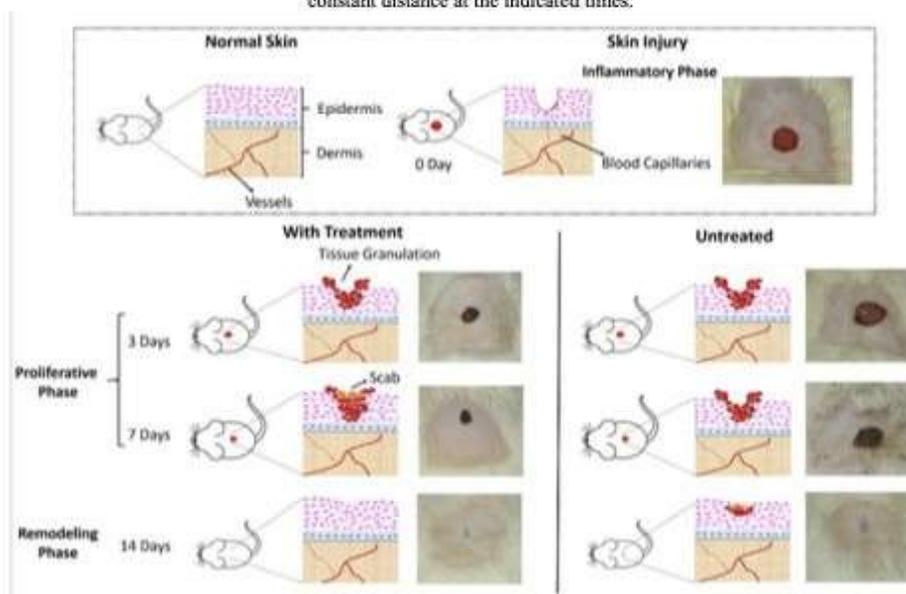
#### 1.1.1 Healing activity

A wound results in any tissue injury with disruption of anatomical integrity and functional loss, i.e., an interruption in the continuity of a body tissue. The wound healing process is a physiological reaction that begins after the injury and extends weeks or years to be completed, depending on the severity of the injury and various biological factors. This process involves an interaction between diverse molecular, humoral, and cellular mechanisms, occurring in three overlapping stages known as inflammatory, proliferative, and remodeling phases [42,43]. The use of biodegradable polymers has been described as a promising

alternative for wound treatments. In Figure 2, it is possible to compare the effects of using biodegradable polymers on the healing process of topical wounds produced in male rats.

The growing dependence of the society for modern and efficient biomaterials, in this case those able to accelerate the healing process, encouraged the development of a large number of recent, successful studies, for example: PLA membrane by electrospinning, isolated or associated with the *S. dendroideum* extract, favored the healing process of second-degree burns in Wistar rats, with an increase in fibroblasts, collagen fibers, and blood vessels [44]. Nanoporous membrane of electrospun PLA incorporated with nanoparticles of niobium pentoxide (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) showed biocompatible properties with adequate porosity, in addition to facilitated properties of cell fixation and proliferation by allowing the diffusion of oxygen and nutrients. The system was considered a potential candidate for drug application and dressings [45]. L-arginine-modified PGS films showed a low water vapor transmission rate and antimicrobial effect, being reported as a new dressing for the treatment of dermal wounds [46].

Fig 2: Comparative diagram between the wound healing phases (3, 7 and 14 days) with the respective images of skin lesions in rats without and with treatment with polymeric formulation, which were photographed to a constant distance at the indicated times.



### 1.1.2 Structural biomechanics

One of the most critical challenges for regenerative medicine is the *in vitro* recreation of a similar structure to cartilaginous tissue; the absence of fast and economical techniques for



the construction of 3D fibrous scaffolds, with precise anisotropic properties, encouraged the development of composite materials suitable for these applications. Thus, the use of new biomaterials in tissue engineering aims to regenerate and restore damaged human organs and tissues by using biocompatible supports that can mimic native tissues.

Currently, the use of biodegradable and biocompatible synthetic polymers has been widely explored for applications in the area of prostheses. Its clinical application is widely used as polymeric membranes, as they present different levels of flexibility, which is an essential characteristic for cutaneous implantation.

According to the characteristics of different tissues, PCL can be modified by changing its functional groups or combining its monomers with other materials in order to improve the physicochemical, mechanical, and biological properties of the polymer, allowing the scaffolds to achieve the requirements of different engineering and regenerative medicine tools [47]. For example, PCL microspheres suspended in a carboxymethylcellulose gel, after injection at the site of action, acted as a collagen stimulator with an immediate volumizing effect, contributing to the creation of a unique 3D structure, demonstrating potential for aesthetic applications [48]. Also, multifunctional PCL/silver nanoparticles (NP) scaffolds also showed cytocompatibility and interconnected porous structure with well-defined mechanical and antibacterial properties, with potential use in bone tissue engineering [49].

Wounds and implanted tissues are commonly harmed by circulatory problems and insufficient angiogenesis. Oxygen release scaffolds composed of PGS/PCL/NP of calcium peroxide were developed and characterized with the aim to solve this oxygen supply deficiency in patient-derived bone-marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs). The results revealed a significant improvement of cellular metabolic activity due to alleviation of hypoxic environment around primary BM-MSCs in addition to inhibiting the growth of bacterial pathogens associated with surgical infections. The results pointed out these scaffolds as potential tools for diverse applications in tissue engineering, especially in ischemic conditions and wound-healing [38]. Scaffolds obtained by the electrospinning of polyglycolic acid (PGA) seeded with human dermal fibroblasts showed versatile properties when exposed to mechanical circumferential stretching; when combined with a biomimetic culture system, the scaffolds were also suggested as efficient tools for vascular graft applications [50].

According to Zeng et al. [51], hybrid silk-based scaffolds reinforced with porous PLLA microspheres with a multi-hierarchical porous structure showed good performance in promoting chondrogenesis for auricular cartilage regeneration, being considered promising in areas related to plastic surgery. In turn, PLLA membranes obtained by the modified diffusion-



induced phase separation method, which controls the surface morphology and membrane permeability, responded to the pro-inflammatory stimulus, showing a promising potential for application in lung tissue engineering [52]. Regarding the results obtained by Babilotte et al. [53], porous 3D scaffolds obtained by mixing medical grade PLGA copolymer with hydroxyapatite NP showed biocompatibility, limited inflammatory reaction, and relevant response for bone tissue engineering applications.

### 1.1.3 Antimicrobial activity

PLA-based antimicrobial materials have received considerable attention as promising systems to control microbial growth [54]. For example, PLA-based functional films containing curcumin exhibited excellent UV barrier properties, antioxidant activity, and discrete antibacterial activity, being suggested as active food packaging [55]. It is possible to consider that the development of materials based on PLA, with antimicrobial agents incorporated, depicts new perspectives to the food industry with the emergence of the next generation of ecological packaging materials that prolong the shelf life of food, thus ensuring consumer health. Additionally, PLA-based antimicrobial systems can also be used in drug delivery systems or other biomedical applications due to properties associated with dose-dependent side effects and reduction of antimicrobial resistance phenomena [54].

PLGA/TiO<sub>2</sub> scaffolds showed a high antibacterial effect (100%) against *E. coli* strains [56]. Linezolid-loaded PLGA fiber mats also demonstrated antibacterial activity, in this case against methicillin-resistant *S. aureus*, when a 37-fold lower dose of the antibiotic was evaluated in infected rats with prosthetic implant after bone fracture [57].

PCL fibers containing copper oxide NP, which are simple and inexpensive to prepare, were shown to be suitable as an antifungal dressing [58]. PCL nanofibers with adsorbed resveratrol nanocrystals also showed effective antimicrobial activity against *Propionibacterium acnes*, thus suggesting its advantage in the preparation of dermal patches [59].

### 1.1.4 Drug delivery

Smart drug delivery systems have promising potential for clinical applications and provide well-controlled designs for combination tissue engineering and pharmaceuticals. For example, MPEG/PCL microspheres loaded with bone morphogenetic protein-2 showed high biocompatibility, strongly induced osteogenesis, and sustained drug release (with statistical activity) *in vivo*, demonstrating beneficial therapeutic effects for treated patients [60]. PDLLA-PEG-PDLLA-based hydrogel containing different drugs (bevacizumab – antiangiogenic - and



doxorubicin -anticancer) proved to be efficient in tumor suppression for up to 36 days without damage to vital organs, demonstrating to be a promising efficient strategy for a local and sustained chemotherapy [61].

Another successful drug delivery system for cancer treatment was developed with thermosensitive PLGA – PEG – PLGA hydrogels containing corilagin and chitosan [62]; furthermore, photothermally driven biodegradable nanomotors based on PEG-PDLLA coated with gold were able to penetrate tumor tissues, allowing the active transport of molecules or macromolecules, either by encapsulation or co-delivery, that is, offering opportunities for their application in tissue penetration and drug delivery [34].

## **2 CONCLUSION**

Biodegradable synthetic polymers have contributed immensely to solving health-related problems in recent years. Actual, efficient, and consistent results have been introduced in the market as a result of the growing search for new technologies. They have been applied both at macro and nanometer scales, in isolated and conjugated forms, or even as encapsulating matrices. Also, as they present longer degradation periods when compared to natural polymers, they stand out in tissue engineering since they can be adjusted according to their composition, reaching various degrees of selectivity for specific clinical applications.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PDEE-Brazil) and the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE, Brazil) by granting of scholarships.



## REFERENCES

- [1] Van der Zee, M. Analytical Methods for Monitoring Biodegradation Processes of Environmentally Degradable Polymers, first ed., in: Handbook of Biodegradable Polymers: Synthesis, Characterization and Applications, 2011, 263-281. <https://doi.org/10.1002/9783527635818.ch11>.
- [2] Hayashi, T. Biodegradable Polymers for Biomedical uses. Prog. Polym. Sci, 1994, 19, 663-702. [https://doi.org/10.1016/0079-6700\(94\)90030-2](https://doi.org/10.1016/0079-6700(94)90030-2).
- [3] Borhani, S.; Hassanajili, S.; Tafti S.; Rabbani, S. H. A. Cardiovascular stents: overview, evolution, and next generation. Prog. Biomater, 2018, 7(3), 175-205. <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0097-y>.
- [4] Cvrček, L.; Horáková, M. Plasma Modified Polymeric Materials for Implant Applications, in: Non-Thermal Plasma Technology for Polymeric Materials. 2019, 367-407. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813152-7.00016-0>.
- [5] Azimi, B.; Maleki, H.; Zavagna, L.; De la Ossa, J. G.; Linari, S.; Lazzeri, A.; Danti, S. Bio-based electrospun fibers for wound healing. J. Funct. Biomater, 2020, 11(3), 67. <https://doi.org/10.3390/jfb11030067>.
- [6] Toong, D. W. Y.; Toh, H. W.; Ng, J. C. K.; Wong, P. E. H.; Leo, H. L.; Venkatraman, S.; Huang, Y. Bioresorbable Polymeric Scaffold in Cardiovascular Applications. Int. J. Mol. Sci, 2020, 21(10), 3444. <https://doi.org/10.3390/ijms21103444>.
- [7] Yi, S.; Xu, L.; Gu, X. Scaffolds for peripheral nerve repair and reconstruction. Exp. Neurol, 2019, 319, 112761. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2018.05.016>.
- [8] İlhan, E.; Ulag, S.; Sahin, A.; Yilmaz, B. K.; Ekren, N.; Kilic, O.; Gunduz, O. Fabrication of tissue-engineered tympanic membrane patches using 3D-Printing technology. J. Mech. Behav. Biomed. Mater, 2021, 114, 104-219. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.104219>.
- [9] Singhvi, M. S.; Singhvi, S. S.; Zinjarde, D. V.; Gokhale. Poly-Lactic acid: synthesis and biomedical applications. J. Appl. Microbiol, 2019, 127(6), 1612-1626. <https://doi.org/10.1111/jam.14290>.
- [10] Aynali, F.; Balci, H.; Doganci, E.; Bulus, E. Production and characterization of non-leaching antimicrobial and hydrophilic polycaprolactone based nanofiber mats. Eur. Polym. J, 2021, 149, 110-368. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110368>.
- [11] Huang, Q.; Liu, Y.; Ouyang, Z.; Feng, Q. Comparing the regeneration potential between PLLA/Aragonite and PLLA/Vaterite pearl composite scaffolds in rabbit radius segmental bone defects, Bioact. Mater, 2020, 5(4), 980-989. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.06.018>.
- [12] Shi, K.; Wang, Y. L.; Qu, Y.; Liao, J. F.; Chu, B. Y.; Zhang, H. P.; Qian, Z. Y. Synthesis, characterization, and application of reversible PDLLA-PEG-PDLLA copolymer thermogels in vitro and in vivo. Sci. Rep, 2016, 6, 19077. <https://doi.org/10.1038/srep19077>.



- [13] Diaz-Gomez, L.; Elizondo, M. E.; Koons, G. L.; Diba, M.; Chim, L. K.; Cosgriff-Hernandez, E.; Mikos, A. G. Fiber engraving for bioink bioprinting within 3D printed tissue engineering scaffolds. *Bioprinting*, 2020, 18, e00076. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00076>.
- [14] Zhang, H.; Jiao, J.; Jin, H. Degradable poly-L-lysine-modified PLGA cell microcarriers with excellent antibacterial and osteogenic activity. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol*, 2019, 47(1), 2391-2404. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1623230>.
- [15] Fu, T. S.; Wei, Y. H.; Cheng, P. Y.; Chu, I.; Chen, W. C. A novel biodegradable and thermosensitive poly (ester-amide) hydrogel for cartilage tissue engineering. *Biomed Res. Int*, 2018, 2710892, <https://doi.org/10.1155/2018/2710892>.
- [16] Rudnik-Jansen, I.; Tellegen, A.; Beukers, M.; Öner, F.; Woike, N.; Mihov, G.; Creemers L. Safety of intradiscal delivery of triamcinolone acetonide by a poly (esteramide) microsphere platform in a large animal model of intervertebral disc degeneration. *Spine J.*, 2019, 19(5)905-919 <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2018.10.014>.
- [17] Dou, J.; Wang, Y.; Jin, X.; Li, P.; Wang, L.; Yuan, J.; Shen, J. PCL/sulfonated keratin mats for vascular tissue engineering scaffold with potential of catalytic nitric oxide generation, *Mater.Sci.Eng.C*, 2020, 107110246. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110246>.
- [18] Bhattacharya, S.; Hailstone, R.; Lewis, C. L. Thermoplastic Blend Exhibiting Shape Memory-Assisted Self-Healing Functionality. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2020, 12(41), 46733-46742. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c13645>.
- [19] Le Low, J.; Kao, P. H. N.; Tambyah, P. A.; Koh, G. L. E.; Kline, H.; Ling, K. A.; Leong S. S. J. Development of a polymer-based antimicrobial coating for efficacious urinary catheter protection. *Biotechnology Notes*, 2021, 2, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2020.12.001>.
- [20] Zamani, M.; Rostamizadeh, K.; Manjili, H. K.; Danafar, H. In vitro and in vivo biocompatibility study of folate-lysine-PEG-PCL as nanocarrier for targeted breast cancer drug delivery. *Eur. Polym. J.*, 2018, 103, 260-279. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.04.020>.
- [21] Risley, B. B.; Ding, X.; Chen, Y.; Miller, P. G.; Wang, Y. Citrate crosslinked poly (glycerol sebacate) with tunable elastomeric properties. *Macromol. Biosci*, 2021, 21(2), 2000301. <https://doi.org/10.1002/mabi.202000301>.
- [22] Zhao, X.; Wu, H.; Guo, B.; Dong, R.; Qiu, Y.; Ma, P. X. Antibacterial anti-oxidant electroactive injectable hydrogel as self-healing wound dressing with hemostasis and adhesiveness for cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 2017, 122, 34-47. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.01.011>.
- [23] Chegini S. P.; Varshosaz, J.; Sadeghi, H. M.; Dehgani, A.; Minayian, M. Poly (glycerol sebacate) nanoparticles for ocular delivery of sunitinib: physicochemical, cytotoxic and allergic studies. *IET nanobiotechnology*, 2019, 13(9), 974-982. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2019.0002>.



- [24] Yeoh, F. H.; Lee, C. S.; Kang, Y. B.; Wong, S. F.; Cheng, S. F.; Ng, W.S. Production of Biodegradable Palm Oil-Based Polyurethane as Potential Biomaterial for Biomedical Applications. *Polymers*, 2020, 12(8), 1842. <https://doi.org/10.3390/polym12081842>.
- [25] Iyer, R.; Nguyen, T.; Padanilam, D.; Xu, C.; Saha, D.; Nguyen, K. T.; Hong, Y. Glutathione-responsive biodegradable polyurethane nanoparticles for lung cancer treatment. *J. Control. Release*, 2020, 321, 363-371. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.02.021>.
- [26] Wang, C.; Yi, Z.; Sheng, Y.; Tian, L.; Qin, L.; Ngai, T.; Lin, W. Development of a novel biodegradable and anti-bacterial polyurethane coating for biomedical magnesium rods. *Mater. Sci. Eng. C*, 2019, 99, 344-356. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.119>.
- [27] Ojansivu, M.; Johansson, L.; Vanhatupa, S.; Tamminen, I.; Hannula, M.; Hyttinen, J.; Miettinen, S. Knitted 3D scaffolds of polybutylene succinate support human mesenchymal stem cell growth and osteogenesis. *Stem Cells Int.*, 2018, 5928935. <https://doi.org/10.1155/2018/5928935>.
- [28] Ulery, B. D.; Nair, L. S.; Laurencin, C. T. Biomedical applications of biodegradable polymers. *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.*, 2011, 49(12), 832-864. <https://doi.org/10.1002/polb.22259>.
- [29] Samantaray, P. K.; Little, A.; Haddleton, D.M.; McNally, T.; Tan, B.; Sun, Z.; Wan, C. Poly(glycolic acid)(PGA): a versatile building block expanding high performance and sustainable bioplastic applications. *Green Chem.*, 2020, 22(13), 4055-4081. <https://doi.org/10.1039/D0GC01394C>.
- [30] Farah, S.; Anderson, D.G.; Langer, R. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications—A comprehensive review. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2016, 107(15), 367-392. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.06.012>.
- [31] Armentano, I.; Gigli, M.; Morena, F.; Argentati, C.; Torre, L.; Martino, S. Recent advances in nanocomposites based on aliphatic polyesters: design, synthesis, and applications in regenerative medicine. *Appl. Sci.*, 2018, 8(9) (2018) 1452. <https://doi.org/10.3390/app8091452>.
- [32] Laubach, J.; Joseph, M.; Brenza, T.; Gadhamshetty, V.; Sani, R.K. Exopolysaccharide and biopolymer-derived films as tools for transdermal drug delivery, *J. Control. Release*, 2021, 329, 971-987. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.10.027>.
- [33] Singha, S. & Hedenqvist, M. S. A Review on Barrier Properties of Poly (Lactic Acid)/Clay Nanocomposites, *Polymers*, 2020, 12(5) 1095. <https://doi.org/10.3390/polym12051095>.
- [34] Shao, J.; Cao, S.; Williams, D.S.; Abdelmohsen, L.K.; Van Hest, J.C. Photoactivated polymersome nanomotors: traversing biological barriers, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 59(39), 16918-16925. <https://doi.org/10.1002/anie.202003748>.
- [35] Zare, E.N.; Jamaledin, R.; Naserzadeh, P.; Afjeh-Dana, E.; Ashtari, B.; Hosseinzadeh, M.; Makvandi, P. Metal-Based nanostructures/PLGA nanocomposites: antimicrobial activity, cytotoxicity, and their biomedical applications, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2020, 12(3), 3279-3300. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b19435>.



- [36] Nilawar, S.; Dasgupta, Q.; Madras, G.; Chatterjee, K. Degradable poly(ester amide)s from olive oil for biomedical applications, *Emerg. Mater.*, 2019, 2, 153-168. <https://doi.org/10.1007/s42247-019-00032-w>.
- [37] Pinho, A.C.; Fonseca, A.C.; Caseiro, A.R.; Pedrosa, S.S.; Amorim, I.; Branquinho, M.V.; Coelho, J.F.J. Innovative tailor made dextran based membranes with excellent non-inflammatory response: In vivo assessment, *Mater. Sci. Eng.*, 2020, 107, 110243. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110243>.
- [38] Abudula, T.; Gauthaman, K.; Hammad, A.H.; Joshi Navare, K.; Alshahrie, A.A.; Bencherif, S.A.; Memic, A. Oxygen-releasing antibacterial nanofibrous scaffolds for tissue engineering applications, *Polymers*, 2020, 12(6), 1233. <https://doi.org/10.3390/polym12061233>.
- [39] Perin, G.B. & Felisberti, M.I. Enzymatic synthesis of poly(glycerol sebacate): kinetics, chain growth, and branching behavior, *Macromolecules*, 2020, 53(18), 7925-7935. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.0c01709>.
- [40] Abudula, T.; Gzara, L.; Simonetti, G.; Alshahrie, A.; Salah, N.; Morganti, P.; Memic, A. The effect of poly (glycerol sebacate) incorporation within hybrid chitin–lignin sol–gel nanofibrous scaffolds, *Materials*, 2018, 11(3), 451. <https://doi.org/10.3390/ma11030451>.
- [41] Wendels, S. & Avérous, L. Biobased polyurethanes for biomedical applications, *Bioact. Mater.*, 2021, 6(4), 1083–1106. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.10.002>.
- [42] Ozgok, K.M.K. & Regan, J.P. Wound Healing. [Updated 2022 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535406>.
- [43] Wallace, H.A.; Basehore, B.M.; Zito, P.M. Wound Healing Phases. [Updated 2021 nov 15]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470443>.
- [44] Binotto, J.P.; Mendes, L.G.; Gaspi, F.O.D.G.; Esquisatto, M.A.M.; Andrade, T.A.M.D.; Mendonça, F.A.S.; Santos, G.M.T. Poly (Lactic Acid) membrane and *Sedum dendroideum* extract favors the repair of burns in rats, *Acta Cir. Bras.*, 2020, 35(3), e202000302. <https://doi.org/10.1590/s0102-865020200030000002>.
- [45] Marins, N.H.; Silva, R.M.; Ferrua, C.P.; Lukowicz, D.; Barbosa, A.M.; Ribeiro, J.S.; Carreño, N.L. Fabrication of electrospun poly (lactic acid) nanoporous membrane loaded with niobium pentoxide nanoparticles as a potential scaffold for biomaterial applications, *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.*, 2020, 108(4), 1559-1567. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34503>.
- [46] Wang, C.C.; Shih, T.Y.; Hsieh, Y.T.; Huang, J.L.; Wang, J. l-Arginine grafted poly (glycerol sebacate) materials: an antimicrobial material for wound dressing, *Polymers*, 2020, 12(7), 1457. <https://doi.org/10.3390/polym12071457>.
- [47] Zhang, W.; Weng, T.; Li, Q.; Jin, R.; You, C.; Wu, P.; Wang, X. Applications of poly (caprolactone)-based nanofibre electrospun scaffolds in tissue engineering and regenerative



medicine, *Curr Stem Cell Res Ther.*, 2021, 16(4), 414-442. <https://doi.org/10.2174/1574888X15666201014145703>.

[48] Christen, M.O. & Vercesi, F. Polycaprolactone: How a well-known and futuristic polymer has become an innovative collagen-stimulator in esthetics, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, 2020, 13, 31-48. <https://doi.org/10.2147/CCID.S229054>.

[49] Radhakrishnan, S.; Nagarajan, S.; Belaid, H.; Farha, C.; Iatsunskyi, I.; Coy, E.; Bechelany, M. Fabrication of 3D printed antimicrobial polycaprolactone scaffolds for tissue engineering applications, *Mater. Sci. Eng. C.*, 2021, 118, 111525. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111525>.

[50] Hodge, J. & Quint, C. Tissue engineered vessel from a biodegradable electrospun scaffold stimulated with mechanical stretch *Biomed. Mater.*, 2020, 15(5), 055006. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ab8e98>.

[51] Zeng, Y.; Li, X.; Liu, X.; Yang, Y.; Zhou, Z.; Fan, J.; Jiang, H. PLLA Porous microsphere-reinforced silk-based scaffolds for auricular cartilage regeneration, *ACS Omega.*, 2021, 6(4) 3372-3383. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05890>.

[52] Montesanto, S.; Smithers, N.P.; Bucchieri, F.; Brucato, V.; La Carrubba, V.; Davies, D.E.; Conforti, F. Establishment of a pulmonary epithelial barrier on biodegradable poly-L-lactic-acid membranes, *PloS one.*, 2019, 14(1) e0210830. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210830>.

[53] Babilotte, J.; Martin, B.; Guduric, V.; Bareille, R.; Agniel, R.; Roques, S.; Catros, S. Development and characterization of a PLGA-HA composite material to fabricate 3D-printed scaffolds for bone tissue engineering, *Mater. Sci. Eng. C.*, 2021, 118, 111334. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111334>.

[54] Scaffaro, R.; Lopresti, F.; Marino, A.; Nostro, A. Antimicrobial additives for poly (lactic acid) materials and their applications: current state and perspectives, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2018, 102(18), 7739-7756. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9220-1>.

[55] Roy, S. & Rhim, J.W. Preparation of bioactive functional poly (lactic acid)/curcumin composite film for food packaging application, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, 162, 1780-1789. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.094>.

[56] Pelaseyed, S.S.; Hosseini, H.R.M.; Nokhbedehghan, Z.; Samadikuchaksaraei, A. PLGA/TiO<sub>2</sub> nanocomposite scaffolds for biomedical applications: fabrication, photocatalytic, and antibacterial properties, *BioImpacts: BI*, 2021, 11(1), 45-52. <https://doi.org/10.34172/bi.2021.06>.

[57] Boncu, T.E.; Guclu, A.U.; Catma, M.F.; Savaser, A.; Gokce, A.; Ozdemir, N. In vitro and in vivo evaluation of linezolid loaded electrospun PLGA and PLGA/PCL fiber mats for prophylaxis and treatment of MRSA induced prosthetic infections,

*Int. J. Pharm.*, 2020, 573, 118758. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118758>.

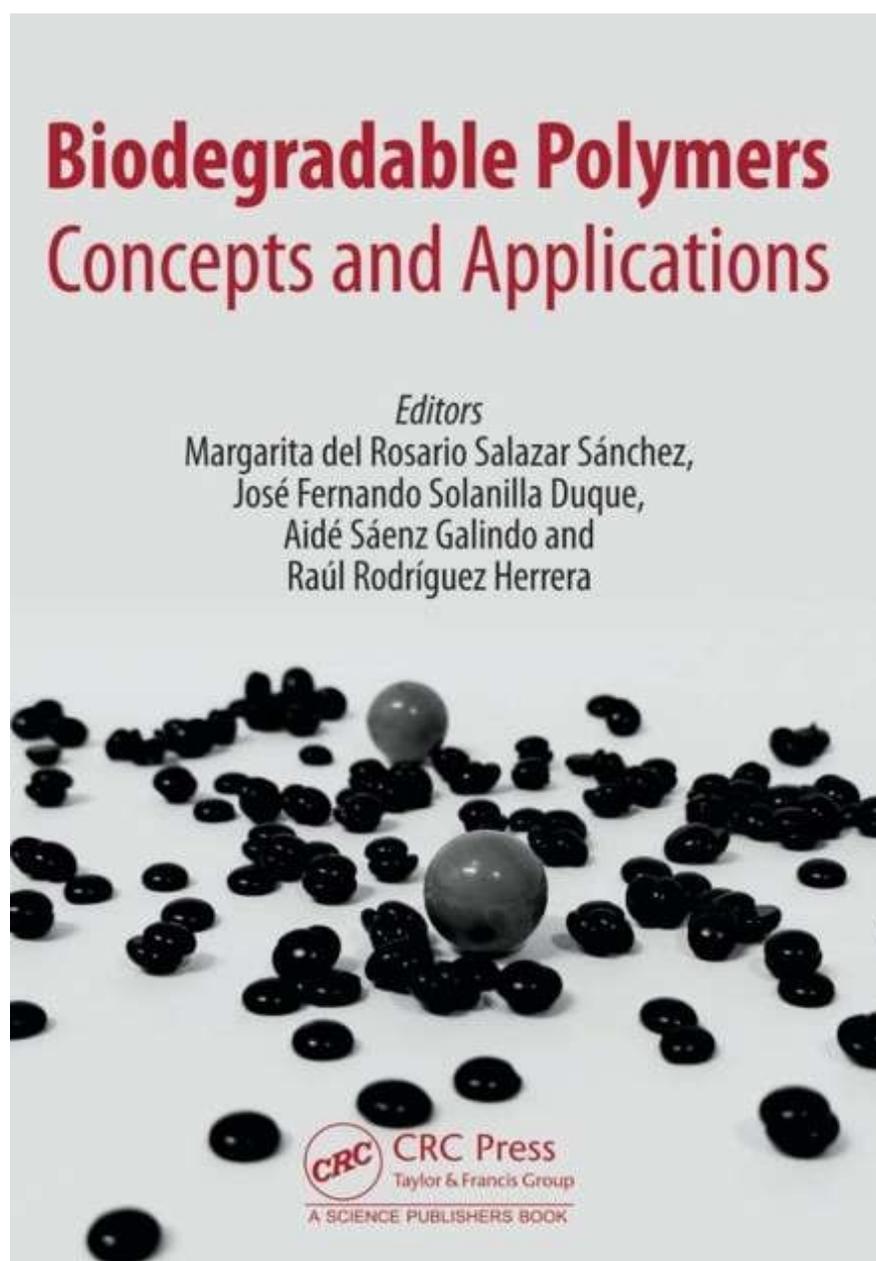


- [58] Muñoz-Escobar, A. & Reyes-López, S.Y. Antifungal susceptibility of *Candida* species to copper oxide nanoparticles on polycaprolactone fibers (PCL-CuONPs), *PloS one.*, 2020, 15(2), e0228864. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228864>.
- [59] Karakucuk, A. & Tort, S. Preparation, characterization and antimicrobial activity evaluation of electrospun PCL nanofiber composites of resveratrol nanocrystals, *Pharm. Dev. Technol.*, 2020, 25(10), 1216-1225. <https://doi.org/10.1080/10837450.2020.1805761>.
- [60] Kong, D.; Shi, Y.; Gao, Y.; Fu, M.; Kong, S.; Lin, G. Preparation of BMP-2 loaded MPEG-PCL microspheres and evaluation of their bone repair properties, *Biomed. Pharmacother.*, 2020, 130, 110516. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110516>.
- [61] Darge, H.F.; Andrgie, A.T.; Hanurry, E.Y.; Birhan, Y.S.; Mekonnen, T.W.; Chou, H.Y.; Tsai, H.C. Localized controlled release of bevacizumab and doxorubicin by thermo-sensitive hydrogel for normalization of tumor vasculature and to enhance the efficacy of chemotherapy, *Int. J. Pharm.*, 2019, 572, 118799. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118799>.
- [62] Jin, X.; Fu, Q.; Gu, Z.; Zhang, Z.; Lv, H. Injectable corilagin/low molecular weight chitosan/PLGA-PEG-PLGA thermosensitive hydrogels for localized cancer therapy and promoting drug infiltration by modulation of tumor microenvironment, *Int. J. Pharm.*, 2020, 589, 119772. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119772>.

# CAPÍTULO IV

6 CAPÍTULO DE LIVRO- *Health Applications of Biodegradable Polymers*

Capítulo aceito para publicação no livro "*Biodegradable Polymers: Concepts and Applications*" edited by Taylor & Francis Group, LLC / CRC Press.



## Chapter 15

# Health Applications of Biodegradable Polymers

*Carneiro-da-Cunha, M. G.,<sup>1,2,\*</sup> Granja, R. C. B.,<sup>1,2</sup> Souza, A. A.,<sup>1,2</sup>  
Melo, E. C. C.,<sup>1</sup> Oliveira, W. F.<sup>1</sup> and Correia, M. T. S.<sup>1,\*</sup>*

---

### 1. Introduction

Polymers are macromolecules formed by the combination of numerous small units (monomers) that are repeated. They are classified as homopolymers, derived from only one type of monomer or as copolymers, derived from two or more types of monomers; they can also be natural or synthetic.

Natural polymers are biodegradable and are made by sugar monomeric units (e.g., cellulose, starch and chitin), amino acids (proteins and peptides) or nucleotides (nucleic acids), through covalent bonds. They are called biopolymers according to the International Union of Pure and Applied Chemicals (IUPAC) since they are produced by living organisms (Nagel et al., 1992), while synthetic polymers, polymerized by man, many of them are not biodegradable. The most well-known synthetic polymers that are non-biodegradable comprises the plastics of fossil origin (derived from petroleum) present in different forms, widely consumed and discarded. However, according to data, recently presented at the World Economic Forum in 2020, the world produces more than 400 million tons of plastics/year, many of which are poorly managed after use, causing incalculable damage to the environment and societies.

Thus, natural and modified natural polymers, capable of undergoing hydrolytic or enzymatic degradation, have been used in the most diverse areas. In this chapter, recent scientific advances about the application of natural polymers (proteins and carbohydrates) at micro- and nanometric scale, will be discussed, which have been developed and demonstrated excellent biomedical applications, such as antipathogenic, healing, antitumoral, mitogenic agents among others, especially to develop drug delivery systems.

### 2. Natural polymers: applications in the health field

As a result of chemical composition of natural polymers, they can be degraded and thus converted into other natural compounds, which make them good candidates for medical applications, such as use in biomaterials, due to the absence or low toxicity and the ability to adsorb bioactive substances (Reddy et al., 2015; Park et al., 2017). These advantages are related to its

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, Recife, Pernambuco, Brasil.

<sup>2</sup> Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami/LIKA/UFPE, Recife, Brasil.

\* Corresponding author: mgcc@ufpe.br; mtscorreia@gmail.com

Table 15.1. Natural biopolymers applied in the health field.

Biological application	Biopolymer	Source	Reference
<b>Protein</b>			
<b>Anticoagulant</b>	Lectin	<i>Bauhinia forficata</i> seeds; <i>Moringa oleifera</i> seeds; <i>Crataeva tapia</i> bark;	Silva et al., 2012; Luz et al., 2013; Araújo et al., 2011; Salu et al., 2014
	Peptide	Mouse stomach and small intestine; <i>Crassostrea gigas</i>	Tu et al., 2019; Cheng et al., 2018
	Protease	<i>Agrocybe aegerita</i> fruiting bodies; <i>Diopatra sugokai</i> ; <i>Clerodendrum colebrookianum</i> leaves	Li et al., 2021; Kim et al., 2018; Gogoi et al., 2019
<b>Anti-inflammatory</b>	Lectin	<i>Amansia multifida</i> red algae; <i>Cicerarietinum black</i> seeds and <i>Prunus dulcis</i> nut raw	Mesquita et al., 2021; Krishnaveni et al., 2020
	Peptide	<i>Tenebrio molitor</i> , <i>Schistocerca gregaria</i> and <i>Gryllobates sigillatus</i> ; <i>Marphysa sanguinea</i> ; <i>Charybdis natator</i>	Zielińska et al., 2017; Park et al., 2020; Narayanasamy et al., 2020
	Trypsin inhibitor	<i>Cajanus cajan</i> and <i>Phaseolus limensis</i>	Shamsi et al., 2018
<b>Wound healing</b>	Lectin	<i>Eugenia malaccensis</i> seeds; <i>Bryothamnion seaforthii</i> ; <i>Cratylia mollis</i> seeds	Brustein et al., 2012; Nascimento-Neto et al., 2012; Albuquerque et al., 2017
	Peptide	<i>Rhopilema esculentum</i>	Felician et al., 2019
	Protease	<i>Ficus drupacea</i> latex	Manjuprasanna et al., 2020
<b>Antibacterial</b>	Lectin	<i>Eugenia uniflora</i> seeds; <i>Phthirusa pyrifolia</i> leaf; <i>Bothrops leucurus</i> venom	Oliveira et al., 2008; Costa et al., 2010; Nunes et al., 2012
	Thionin	<i>Nigella sativa</i> L. seeds	Vasilchenko et al., 2016
	Cyclotide	<i>Viola odorata</i> L. and <i>Viola tricolor</i> L. aerial parts	Slazak et al., 2018
	Protease	<i>Marsupenaeus japonicus</i> shrimp	Zhao et al., 2014
	Peptide	<i>Spirulina platensis</i>	Sun et al., 2016
	Trypsin inhibitor	<i>Albizia amara</i> seeds	Dabhade et al., 2016
<b>Antiprotozoal</b>	Lectin	<i>Bothrops leucurus</i> venom; <i>Cratylia mollis</i> seeds	Aranda-Souza et al., 2018; Fernandes et al., 2014
	Protease	Potato tuber	Paik et al., 2020
<b>Antiviral</b>	Protease	<i>Streptomyces chromofuscus</i> 34-1	Serkedjjeva et al., 2012
	Peptide	<i>Quercus infectoria</i> fruits	Seetaha et al., 2021
<b>Antitumoral</b>	Parasporin	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Moazamian et al., 2018
	Peptide	<i>Glycine max</i>	González-Montoya et al., 2018
	Lectin	<i>Arisaema tortuosum</i> ; <i>Aspergillus niger</i> ; <i>Praecitrullus fistulosus</i> fruit	Dhuna et al., 2005; Jagadeesh et al., 2021; Shivamadhur et al., 2017
	Protease	<i>Trichosanthes kirilowii</i> fruit; <i>Cajanus cajan</i> ; <i>Enterolobium contortisiliquum</i> seeds	Song et al., 2016; Shamsi et al., 2017; Lobo et al., 2020
<b>Polysaccharide</b>			
<b>Anticoagulant</b>	Sulfated	<i>Phallusia nigra</i> ; <i>Ulva conglobata</i> ; <i>Holothuria fuscopunctata</i>	Abreu et al., 2019; Mao et al., 2006; Gao et al., 2020
	Glycoconjugates/ Heteropolysaccharid	<i>Camellia sinensis</i>	Cai et al., 2013

Table 15.1 contd. ...

...Table 15.1 contd.

Biological application	Biopolymer	Source	Reference
	Purified	<i>Marsypianthes chamaedrys</i> aerial parts; <i>Auricularia auricula</i>	Coelho et al., 2019; Yoon et al., 2003
<b>Anti-inflammatory</b>	Alkali-soluble extract	Purple sweet potato; <i>Arctium lappa</i> L. roots	Chen et al., 2019; Zhang et al., 2020
	Purified	<i>Pholiota nameko</i>	Li et al., 2008
	Water-soluble	<i>Turbinaria ornata</i>	Ananthi et al., 2010
	Sulfated	<i>Ganoderma lucidum</i>	Zhang et al., 2018
	Fractions	<i>Opuntia ficus-indica</i> cladodes; <i>Bletilla striata</i> root; <i>Gracilaria lemaneiformis</i> thallus	Trombetta et al., 2006; Zhang et al., 2019; Veeraperumal et al., 2020
<b>Antibacterial</b>	Like lentinan	<i>Lentinus edodes</i>	Zhu et al., 2012
	Purified	<i>Streptomyces virginia</i> ; <i>Periploca laevigata</i> root barks; <i>Chaetomium globosum</i>	He et al., 2010; Hajji et al., 2018; Wang et al., 2018
	Water-soluble	<i>Cordyceps cicadae</i>	Zhang et al., 2017
	Sulfated	<i>Sargassum swartzii</i>	Vijayabaskar et al., 2012
	Chitosan	<i>Litopenaeus vanammei</i>	Santos et al., 2017
<b>Antitumoral</b>	Sulfated	<i>Monostroma nitidum</i>	Karnjanapratum and You, 2011
	Purified	<i>Trichoderma kanganensis</i> ; <i>Floccularia luteovirens</i> ; <i>Porphyra haitanensis</i> ;	Lu et al., 2018; Liu et al., 2019; Yao et al., 2020
	Water-soluble extract	<i>Ganoderma applanatum</i> Leaves	Hanyu et al., 2020
<b>Ophthalmological</b>	Purified	<i>Lycium barbarum</i>	Wang et al., 2020; Yang et al., 2020

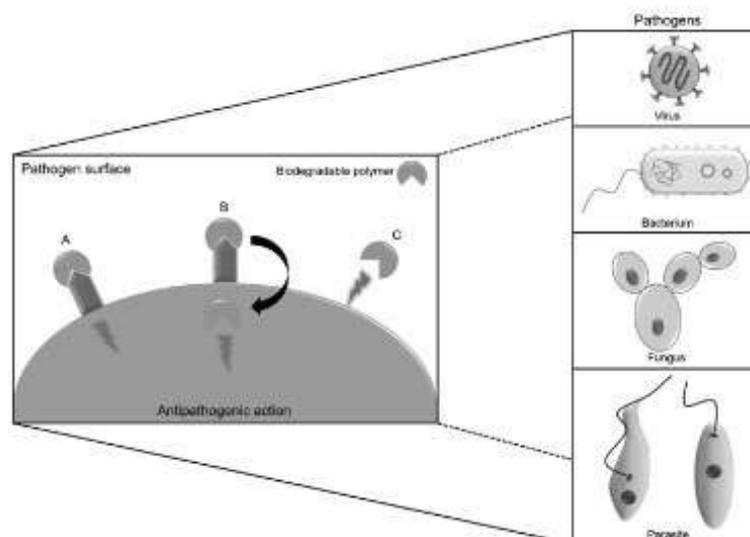
physical-chemical properties and characteristics of the backbone structure, for example, its chemical groups determine its solubility and surface charge, which influence its stability and interaction with neighboring molecules, and this association may be necessary to exert some biological effect (Wróblewska-Krepsztul et al., 2019). Over the years, there is vast literature on different applications many of proteins and polysaccharides in health (Table 15.1).

Different pathogens involved in human infections (bacteria, fungi, protozoa and viruses) can be targets for bioactive proteins (Fig. 15.1). However, many natural polymers have been shown to be effective in combating these pathologies (Table 15.1).

### 2.1 Antimicrobial activity

According to the World Health Organization (WHO), antimicrobial resistance occurs when pathogens mutate, and the drugs used in their treatment become ineffective (WHO, 2021). To provide the need of new antibiotics, the use of natural products containing different biomolecules has been studied (Table 15.1).

Lectins, proteins used in different biological applications, can have antimicrobial activity due to their characteristics of binding specifically and reversibly to carbohydrates. Since the cell surfaces of parasites have a diversity of glycid, the lectins could recognize them, and this interaction can lead to death. For example, the lectin from *Lablab purpureus* seeds (specific for glucose-mannose) exerted an action against SARS-CoV-2, which causes the *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19), when interacting with the Spike protein (a mannose-rich glycoprotein) of this virus (Liu et al., 2020). Some protozoa characterized as public health problems can also be combated through these biopolymers; even lectins without direct action against pathogen, can stimulate the infected organism to respond more effectively against an infection (Silva et al., 2015; Jandú et al., 2017). Although



**Figure 15.1.** Antipathogenic action that some biodegradable polymers can present and their possible mechanisms of action: (A) interacting with molecules on the pathogen surface and inducing intracellular signals, (B) being internalized and acting in the pathogenic internal environment or (C) directly destabilizing the membrane.

proteins can have antimicrobial effects, some proteases may be considered as virulence factors of various pathogens and, therefore, considered important therapeutic targets to fight infections. Thus, protease inhibitors can block the action of proteolytic enzymes, exerting an antipathogenic effect.

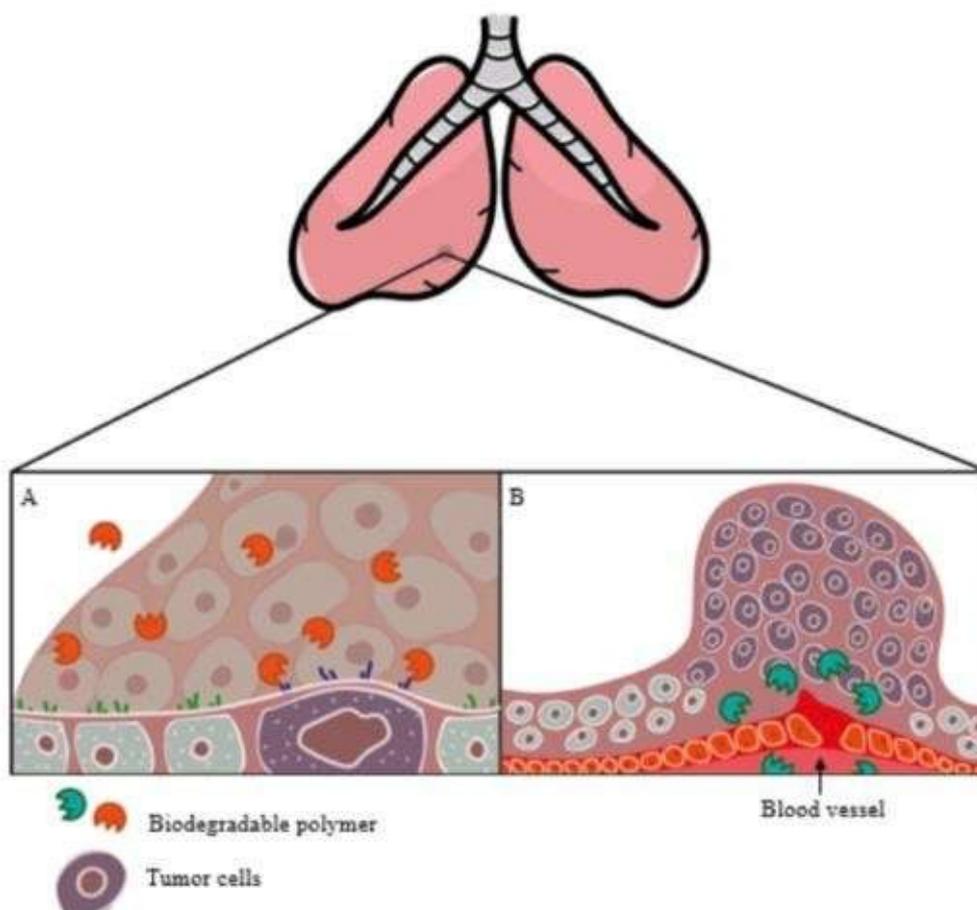
Protease inhibitors can also be expressed recombinantly and continue to perform their possible antipathogenic actions. For example, a recombinant trypsin inhibitor inhibited the growth of pathogenic bacterial species (Cisneros et al., 2020), as well as a recombinant protease inhibitor showed antifungal activity (Zhang et al., 2020). It should be noted that peptides obtained by protein hydrolysis may also have an antipathogenic capacity (Lima et al., 2015); thus, antimicrobial peptides also emerge as a viable alternative to antibiotics (Thapa et al., 2020).

Polysaccharides have also been shown to have an inhibitory effect against different pathogens. Sulfated polysaccharides can present themselves as bioactive agents for medical and industrial applications, such as those of red algae *Corallina officinalis* and *Pterocladia capillacea* due to its antibacterial, antifungal, antioxidant, anti-inflammatory, anticoagulant and anti-fouling activities (Ismail and Amer, 2021). Similarly, hydrogels consisting of sulfated polysaccharides of red microalgae from different sources of water associated to chitosan promoted antimicrobial activity and, when added with zinc, shared similar release profiles with potential to function as antimicrobial dressings (Lieberman et al., 2021).

## 2.2 Antitumoral activity

Cancer is a disease of global impact, whose number of patients increases every year, and the use of natural products extracted from plants in the treatment of this malignant neoplasm has shown to be promising.

Changes in the glycosylation pattern of normal cells may be associated with their malignant transformation and by capacity of these tumor cells to metastasize; these altered glycans in neoplastic cells can be recognized by lectins, which can induce them to cell death (Fig. 15.2A), such as the lectin extracted from *Aspergillus niger* (Jagadeesh et al., 2021) and from *Praecittrullus*



**Figure 15.2.** Mechanism of action of antitumoral natural polymers: (A) recognition of proteins and carbohydrates exhibited by tumor cells and (B) antiangiogenic action in tumor sites.

*fistulosus* fruit (Shivamadhhu et al., 2017). Furthermore, since different proteases are correlated with tumor development and progression, they may be the target of their inhibitors to prevent cancer proliferation (Eatemadi et al., 2017; Lobo et al., 2020), as well as a purified bifunctional protein from *Crataeva tapia* bark, which has lectinic activity and of protease inhibitor (Bonturi et al., 2019).

Antitumor action of many polysaccharides has also been widely reported (Table 15.1). The polysaccharide of *Diospyros kaki* leaves showed an antiangiogenic effect (Fig. 15.2B) by inhibiting vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinases, both associated with angiogenesis, in endothelial cells of human umbilical vein (Park and Shin, 2021). Polysaccharide-based systems, such as acacia gum (Devi et al., 2020) and alginate (Ren et al., 2020), used as carriers for chemotherapeutic agents in the form of nanoparticles have been seen as effective in the treatment of cancer.

However, one of the main obstacles to cancer treatment is the development of an efficient drug delivery agent that does not induce severe adverse effects on adjacent tissues.

### 2.3 Drug delivery

The development of efficient technologies for drug delivery generates benefits to health. Therefore, the study of drug delivery systems is important to ensure the expected therapeutic effect, that is, drug release should occur in a specific target site, at the right time.

Accordingly, colloidal systems prepared from different modified polysaccharides formulated in nanoscale scale (nanoparticles) and loaded with a range of active models, demonstrated to be promising nanocarriers to overcome the difficulty of drugs in crossing the blood-brain barrier in the treatment of brain disorders (Bostanudin et al., 2020). Moreover, nanogels systems prepared by carbodiimide coupling between glycylic prednisolone and anionic polysaccharides showed stronger and prolonged suppression of inflammation than prednisolone used alone as a routine anti-arthritis drug (Mizuno et al., 2020). Chitosan nanoparticles interact with the anionic surfaces of microbial cell membranes can promote cell death (Li et al., 2016; Souza et al., 2014), as well as on a micrometric scale, hydrogel films based on cellulose and chitosan loaded with Ibuprofen presented themselves as transdermal drug delivery vehicles (Wang et al., 2020).

Protein nanoparticles, mainly of fibroin and albumin, have also shown several advantages as different material delivery carriers (genetics, anticancer drugs, peptide hormones, growth factors), since they are more stable and easier to manufacture in comparison with other colloidal carriers. However, more research should be conducted to make them an ideal material or process to be applied (Hong et al., 2020).

### 3. Conclusions

Natural polymers have greatly contributed to assist and/or solve health-related problems, both in macrometric and nanometric scales, whether in their isolated, conjugated, trapped forms, as encapsulating material, etc. Furthermore, it is well known that there is a permanent and growing interest in the development of new technologies and products and/or improve existing ones, in order to provide a better and equal quality of life for all humanity.

### 4. Acknowledgements

The authors are grateful to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/PDEE-Brazil) and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE, Brazil) for granting scholarships.

### References

- Abreu, W. S., Soares, P. A. G., Motta, J. M., Kozłowski, E. O., Teixeira, F. C. O. B., Soares, M. A., Borsig, L. and Mourão, P. A. S. (2019). Tunicate heparan sulfate enriched in 2-sulfated-glucuronic acid: structure, anticoagulant activity, and inhibitory effect on the binding of human colon adenocarcinoma cells to immobilized p-selectin. *Marine Drugs*, 17: 351.
- Albuquerque, P. B. S., Soares, P. A. G., Aragão-Neto, A. C., Albuquerque, G. S., Silva, L. C. N., Lima-Ribeiro, M. H. M., Neto, J. C. S., Coelho, L. C. B. B., Correia, M. T. S., Teixeira, J. A. C. and Carneiro-da-Cunha, M. G. (2017). Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102: 749–757.
- Ananthi, S., Raghavendran, H. R. B., Sunil, A. G., Gayathri, V., Ramakrishnan, G. and Vasanthi, H. R. (2010). *In vitro* antioxidant and *in vivo* anti-inflammatory potential of crude polysaccharide from *Turbinaria ornata* (Marine Brown Alga). *Food and Chemical Toxicology*, 48: 187–192.
- Aranda-Souza, M. A., de Lorena, V. M. B., dos Santos Correia, M. T. and de Figueiredo, R. C. B. Q. (2018). *In vitro* effect of *Bothrops leucurus* lectin (BLL) against *Leishmania amazonensis* and *Leishmania braziliensis* infection. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120: 431–439.
- Araújo, R. M. S., Vaz, A. F. M., Santos, M. E., Zingali, R. B., Coelho, L. C. B. B., Paiva, P. M. G., Correia, M. T. S., Oliva, M. L. V. and Ferreira, R. S. (2011). A new exogen anticoagulant with high selectivity to intrinsic pathway of coagulation. *Thrombosis Research*, 128(4): 395–397.
- Bonturi, C. R., Silva, M. C. C., Motain, H., Salu, B. R., da Silva Ferreira, R., Batista, F. P., Correia, M. T. S., Paiva, P. M. G., Turnšek, T. L. and Oliva, M. L. V. (2019). A bifunctional molecule with lectin and protease inhibitor activities isolated from *Crataeva tapia* bark significantly affects cocultures of mesenchymal stem cells and glioblastoma cells. *Molecules*. 24(11): 2019.

224 *Biodegradable Polymers: Concepts and Applications*

- Bostanudin, M. F., Lalatsab, A., Góreckib, D. C. and Barbu, E. (2020). Engineering butylglyceryl-modified polysaccharides towards nanomedicines for brain drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 236: 116060.
- Brustein, V. P., Souza-Araújo, F. V., Vaz, A. F. M., Araújo, R. V. S., Paiva, P. M. G., Coelho, L. C. B. B. and Correia, M. T. S. (2012). A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model. *Inflammopharmacology*, 20: 315–322.
- Cai, W., Xie, L., Chen, Y. and Zhang, H. (2013). Purification, characterization and anticoagulant activity of the polysaccharides from green tea. *Carbohydrate Polymers*, 92: 1086–1090.
- Chen, H., Sun, J., Liu, J., Gou, Y., Zhang, X., Wu, X. and Jin, C. (2019). Structural characterization and anti-inflammatory activity of alkali-soluble polysaccharides from purple sweet potato. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131: 484–494.
- Cheng, S., Tu, M., Chen, H., Xu, Z., Wang, Z., Liu, H., Zhao, G., Zhu, B. and Du, M. (2018). Identification and inhibitory activity against  $\alpha$ -thrombin of a novel anticoagulant peptide derived from oyster (*Crassostrea gigas*) protein. *Food & Function*, 9: 6391–6400.
- Cisneros, J. S., Cotabarren, J., Parisi, M. G., Vasconcelos, M. W. and Obregón, W. D. (2020). Purification and characterization of a novel trypsin inhibitor from *Solanum tuberosum* subsp. *andigenum* var. *overa*: Study of the expression levels and preliminary evaluation of its antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158: 1279–1287.
- Coelho, M. N., Soares, P. A. G., Frattani, F. S., Camargo, L. M. M. and Tovar, A. M. F. (2019). Polysaccharide composition of an anticoagulant fraction from the aqueous extract of *Marsypianthes chamaedrys* (Lamiaceae). *International Journal of Biological Macromolecules*, 145: 668–681.
- Costa, R. M. P. B., Vaz, A. F. M., Oliva, M. L. V., Coelho, L. C. B. B., Correia, M. T. S. and Carneiro-da-Cunha, M. G. (2010). A new mistletoe *Phthirusa pyrifolia* leaf lectin with antimicrobial properties. *Process Biochemistry*, 45(4): 526–533.
- Dabhade, A. R., Mokashe, N. U. and Patil, U. K. (2016). Purification, characterization, and antimicrobial activity of nontoxic trypsin inhibitor from *Albizia amara* Boiv. *Process Biochemistry*, 51(5): 659–674.
- Devi, L., Gupta, R., Jain, S. K., Singh, S. and Kesharwani, P. (2020). Synthesis, characterization and *in vitro* assessment of colloidal gold nanoparticles of Gemcitabine with natural polysaccharides for treatment of breast cancer. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 56: 101565.
- Dhuna, V., Bains, J. S., Kamboj, S. S., Singh, J., Kamboj, S. and Saxena, A. K. (2005). Purification and characterization of a lectin from *Arisaema tortuosum* Schott having *in-vitro* anticancer activity against human cancer cell lines. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 38: 526–532.
- Eatemadi, A., Aiyelabegan, H. T., Negahdari, B., Mazlomi, M. A., Daraee, H., Daraee, N., Eatemadi, R. and Sadroddiny, E. (2017). Role of protease and protease inhibitors in cancer pathogenesis and treatment. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86: 221–231.
- Felician, F. F., Yu, R.-H., Li, M.-Z., Li, C.-J., Chen, H.-Q., Jiang, Y. and Xu, H.-M. (2019). The wound healing potential of collagen peptides derived from the jellyfish *Rhopilema esculentum*. *Chinese Journal of Traumatology*, 22: 12–20.
- Fernandes, M. P., Leite, A. C. R., Araújo, F. F. B., Saad, S. T. O., Baratti, M. O., Correia, M. T. S., Coelho, L. C. B. B., Gadelha, F. R. and Vercesi, A. E. (2014). The *Cratylia mollis* seed lectin induces membrane permeability transition in isolated rat liver mitochondria and a cyclosporine a-insensitive permeability transition in *Trypanosoma cruzi* mitochondria. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 61(4): 381–388.
- Gao, N., Chen, R., Mou, R., Xiang, J., Zhou, K., Li, Z. and Zhao, J. (2020). Purification, structural characterization and anticoagulant activities of four sulfated polysaccharides from sea cucumber *Holothuria fuscopunctata*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164: 3421–3428.
- Gogoi, D., Ramani, S., Bhartari, S., Chattopadhyay, P. and Mukherjee, A. K. (2019). Characterization of active anticoagulant fraction and a fibrin(ogen)olytic serine protease from leaves of *Clerodendrum colebrookianum*, a traditional ethno-medicinal plant used to reduce hypertension. *Journal of Ethnopharmacology*, 243: 112099.
- González-Montoya, M., Hernández-Ledesma, B., Silván, J. M., Mora-Escobedo, R. and Martínez-Villaluenga, C. (2018). Peptides derived from *in vitro* gastrointestinal digestion of germinated soybean proteins inhibit human colon cancer cells proliferation and inflammation. *Food Chemistry*, 242: 75–82.
- Hajji, M., Hamdi, M., Sellimi, S., Ksouda, G., Laouer, H., Li, S. and Nasri, M. (2018). Structural characterization, antioxidant and antibacterial activities of a novel polysaccharide from *Periploca laevigata* root barks. *Carbohydrate Polymers*, 206: 380–388.
- Hanyu, X., Lanyue, L., Miao, D., Wentao, F., Cangran, C. and Hui, S. (2020). Effect of *Ganoderma applanatum* polysaccharides on MAPK/ERK pathway affecting autophagy in breast cancer MCF-7 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 146: 353–362.
- He, F., Yang, Y., Yang, G. and Yu, L. (2010). Studies on antibacterial activity and antibacterial mechanism of a novel polysaccharide from *Streptomyces virginia* H03. *Food Control*, 21: 1257–1262.

- Hong, S., Choi, D. W., Kim, H. N., Park, C. G., Lee, W. and Park, H. H. (2020). Protein-based nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmaceutics*, 12: 604.
- Ismail, M. M. and Amer, M. S. (2021). Characterization and biological properties of sulfated polysaccharides of *Corallina officinalis* and *Pterocladia capillacea*. *Acta Botanica Brasiliica*, 34(4): 623–632.
- Jagadeesh, N., Belur, S., Campbell, B. J. and Inamdar, S. R. (2021). The fucose-specific lectin ANL from *Aspergillus niger* possesses anti-cancer activity by inducing the intrinsic apoptosis pathway in hepatocellular and colon cancer cells. *Cell Biochemistry and Function*, 2021: 1–12.
- Jandú, J. J., Costa, M. C., Santos, J. R. A., Andrade, F. M., Magalhães, T. F., Silva, M. V., Castro, M. C. A. B., Coelho, L. C. B. B., Gomes, A. G., Paixão, T. A., Santos, D. A. and Correia, M. T. S. (2017). Treatment with pCramoll alone and in combination with fluconazole provides therapeutic benefits in *C. gattii* infected mice. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7: 211.
- Karnjanapratum, S. and You, S. (2011). Molecular characteristics of sulfated polysaccharides from *Monostroma nitidum* and their *in vitro* anticancer and immunomodulatory activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48: 311–318.
- Kim, H. J., Shim, K. H., Yeon, S. J. and Shin, H. S. (2018). A novel thrombolytic and anticoagulant serine protease from polychaeta, *Diopatra sugokai*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28: 275–283.
- Krishnaveni, M., Kavipriya, M. and Jayasudha, J. B. (2020). Extraction and characterization of lectin from *Cicerarietinum* black and *Prunus dulcis* nut raw, its anti-inflammatory, antibacterial activity against oral pathogens. *Materials Today: Proceedings*.
- Li, G., Liu, X., Cong, S., Deng, Y. and Zheng, X. (2021). A novel serine protease with anticoagulant and fibrinolytic activities from the fruiting bodies of mushroom *Agrocybe aegerita*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 168: 631–639.
- Li, H., Lu, X., Zhang, S., Lu, M. and Liu, H. (2008). Anti-inflammatory activity of polysaccharide from *Pholiota nameko*. *Biochemistry (Moscow)*, 73: 669–675.
- Liberman, G. N., Ochbaum, G., Bitton, R. and Arad, S. (M.). (2021). Antimicrobial hydrogels composed of chitosan and sulfated polysaccharides of red microalgae. *Polymer*, 215: 123353.
- Lima, C. A., Campos, J. F., Filho, J. L. L., Converti, A., da Cunha, M. G. C. and Porto, A. L. F. (2015). Antimicrobial and radical scavenging properties of bovine collagen hydrolysates produced by *Penicillium aurantiogriseum* URM 4622 collagenase. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7): 4459–4466.
- Liu, Y., Liu, L., Zhou, C. and Xia, X. (2016). Self-assembled lecithin/chitosan nanoparticles for oral insulin delivery: preparation and functional evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 11: 761–769.
- Liu, Y. M., Shahed-Al-Mahmud, M., Chen, X., Chen, T. H., Liao, K. S., Lo, J. M., Wu, Y. M., Ho, M. C., Wu, C. Y., Wong, C. H., Jan, J. T. and Ma, C. (2020). A carbohydrate-binding protein from the edible lablab beans effectively blocks the infections of influenza viruses and SARS-CoV-2. *Cell Reports*, 32(6): 108016.
- Liu, Z., Jiao, Y., Lu, H., Shu, X. and Chen, Q. (2019). Chemical characterization, antioxidant properties and anticancer activity of exopolysaccharides from *Floccularia luteovirens*. *Carbohydrate Polymers*, 229: 115432.
- Lobo, Y. A., Bonazza, C., Batista, F. P., Castro, R. A., Bonturi, C. R., Salu, B. R., Sinigaglia, R. C., Toma, L., Vicente, C. M., Pidde, G., Tambourgi, D. V., Alvarez-Flores, M. P., Chudzinski-Tavassi, A. M. and Oliva, M. L. V. (2020). EcTI impairs survival and proliferation pathways in triple-negative breast cancer by modulating cell-glycosaminoglycans and inflammatory cytokines. *Cancer Letters*, 491: 108–120.
- Lu, Y., Xu, L., Cong, Y., Song, G., Han, J., Wang, G. and Chen, K. (2018). Structural characteristics and anticancer/antioxidant activities of a novel polysaccharide from *Trichoderma kanganensis*. *Carbohydrate Polymers*, 205: 63–71.
- Luz, L. A., Silva, M. C. C., Ferreira, R. S., Santana, L. A., Silva-Lucca, R. A., Mentele, R. and Coelho, L. C. B. B. (2013). Structural characterization of coagulant *Moringa oleifera* Lectin and its effect on hemostatic parameters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 58: 31–36.
- Manjuprasanna, V. N., Rudresha, G. V., Urs, A. P., Milan Gowda, M. D., Rajaiah, R. and Vishwanath, B. S. (2020). Drupin, a cysteine protease from *Ficus drupacea* latex accelerates excision wound healing in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165: 691–700.
- Mao, W., Zang, X., Li, Y. and Zhang, H. (2006). Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. *Journal of Applied Phycology*, 18: 9–14.
- Mesquita, J. X., Brito, T. V., Fontenelle, T. P. C., Damasceno, R. A. S., Souza, M. H. L. P., Lopes, J. L. S., Beltrami, L. M., Barbosa, A. L. R. and Freitas, A. L. P. (2021). Lectin from red algae *Amansia multifida* Lamouroux: Extraction, characterization and anti-inflammatory activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 170: 532–539.
- Mizuno, K., Ikeuchi-Takahashi, Y., Hattori, Y. and Onishi, H. (2020). Preparation and evaluation of conjugate nanogels of glycylic-prednisolone with natural anionic polysaccharides as anti-arthritis delivery systems, *Drug Delivery*, 28: 144–152.

226 *Biodegradable Polymers: Concepts and Applications*

- Moazamian, E., Bahador, N., Azarpira, N. and Rasouli, M. (2018). Anti-cancer parasporin toxins of new *Bacillus thuringiensis* against human colon (HCT-116) and blood (CCRF-CEM) cancer cell lines. *Current Microbiology*, 75: 1090–1098.
- Nagel, B., Dellweg, H. and Gierasch, L. M. (1992). International union of pure and applied chemistry; applied chemistry division commission on biotechnology; glossary for chemists of terms used in biotechnology. *Pure & Appl. Chem.*, 64(1): 143–168.
- Narayanasamy, A., Balde, A., Raghavender, P., Shashanth, D., Abraham, J., Joshi, I. and Nazeer, R. A. (2020). Isolation of marine crab (*Charybdis natator*) leg muscle peptide and its anti-inflammatory effects on macrophage cells. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25: 101577.
- Nascimento-Neto, L. G., Carneiro, R. F., da Silva, S. R., da Silva, B. R., Arruda, F. V. S., Carneiro, V. A. and Nagano, C. S. (2012). Characterization of isoforms of the lectin isolated from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and its pro-healing effect. *Marine Drugs*, 10: 1936–1954.
- Nunes, E. S., Souza, M. A. A., Vaz, A. F. M., Silva, T. G., Aguiar, J. S., Batista, A. M., Guerra, M. M. P., Guarnieri, M. C., Coelho, L. C. B. B. and Correia, M. T. S. (2012). Toxicity cytotoxic effect and apoptosis induction by *Bothrops leucurus* venom lectin on tumor cell lines. *Toxicon*, 59(7–8): 667–671.
- Oliveira, M. D. L., Andrade, C. A. S., Santos-Magalhães, N. S., Coelho, L. C. B. B., Teixeira, J. A., Carneiro-da-Cunha, M. G. and Correia, M. T. S. (2008). Purification of a lectin from *Eugenia uniflora* L. seeds and its potential antibacterial activity. *Letters in Applied Microbiology*, 46: 371–376.
- Paik, D., Pramanik, P. K. and Chakraborti, T. (2020). Curative efficacy of purified serine protease inhibitor PTF3 from potato tuber in experimental visceral leishmaniasis. *International Immunopharmacology*, 85: 106623.
- Park S., Lih, E., Park, K., Ki, Y. and Keun, D. (2017). Progress in polymer science biopolymer-based functional composites for medical applications. *Progress in Polymer Science*, 68: 77–105.
- Park, Y. R., Park, C-II. and Soh, Y. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory effects of NCW peptide from clam worm (*Marphysa sanguinea*). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30: 1387–1394.
- Park, J. Y. and Shin, M.-S. (2021). Inhibitory effects of pectic polysaccharide isolated from diospyros kaki leaves on tumor cell angiogenesis via VEGF and MMP-9 regulation. *Polymers*, 13(1): 64.
- Reddy, N., Reddy, R. and Jiang, Q. (2015). Crosslinking biopolymers for biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, 33(6): 362–369.
- Ren, X., Yi, Z., Sun, Z., Ma, X., Chen, G., Chen, Z. and Li, X. (2020). Natural polysaccharide-incorporated hydroxyapatite as size changeable, nuclear targeting nanocarriers for efficient cancer therapy. *Biomaterials Science*, 8(19): 5390–5401.
- Salu, B. R., Ferreira, R. S., Brito, M. V., Ottaiano, T. F., C, J. W. M., Silva, M. C. C., Correia, M. T. S., Painva, P. M. G., Maffei, H. A. and Oliva, V. (2014). CrataBL, a lectin and Factor Xa inhibitor, plays a role in blood coagulation and impairs thrombus formation. *Biological Chemistry*, 395(9): 1027–1035.
- Santos, F. M. S., Da Silva, A. I. M., Vieira, C. B., De Araújo, M. H., Da Silva, A. L. C., Carneiro-Da-Cunha, M. G., De Souza, B. W. S. and De Souza Bezerra, R. (2017). Use of chitosan coating in increasing the shelf life of liquid smoked Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillet. *Journal of Food Science and Technology*, 9: 1–8.
- Seetaha, S., Hannongbua, S., Rattanasrisomporn, J. and Choowongkomon, K. (2021). Novel peptides with HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activity derived from the fruits of *Quercus infectoria*. *Chemical Biology & Drug Design*, 97(1): 157–166.
- Serkedjjeva, J., Dalgalarrodo, M., Angelova-Duleva, L. and Ivanova, I. (2012). Antiviral potential of a proteolytic inhibitor from *Streptomyces Chromofuscus* 34-1. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 26: 2786–2793.
- Shamsi, T. N., Parveen, R., Afreen, S., Azam, M., Sen, P., Sharma, Y., Haque, Q. M. R., Fatma, T., Monzoor, N. and Fatima, S. (2018). Trypsin inhibitors from *Cajanus cajan* and *Phaseolus limensis* possess antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial activity. *Journal of Dietary Supplements*, 15(6): 939–950.
- Shamsi, T. N., Parveen, R., Ahamad, S. and Fatima, S. (2017). Structural and biophysical characterization of *Cajanus cajan* protease inhibitor. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 8(2): 186–192.
- Shivamadhu, M. C., Srinivas, B. K., Jayarama, S. and Sharada, A. C. (2017). Anti-cancer and anti-angiogenic effects of partially purified lectin from *Praecitrullus fistulosus* fruit on *in vitro* and *in vivo* model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96: 1299–1309.
- Silva, M. C. C., Santana, L. A., Mentele, R., Ferreira, R. S., de Miranda, A., Silva-Lucca, R. A. and Oliva, M. L. V. (2012). Purification, primary structure and potential functions of a novel lectin from *Bauhinia forficata* seeds. *Process Biochemistry*, 47: 1049–1059.
- Silva, L. C. N., Alves, N. M. P., Castro, M. C. A. B., Pereira, V. R. A., Paz, N. V. N., Coelho, L. C. B. B., Figueiredo, R. C. B. Q. and Correia, M. T. dos S. (2015). Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and non-infected with *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72: 848–854.

- Slazak, B., Kapusta, M., Strömstedt, A. A., Slomka, A., Krychowiak, M., Shariatgorji, M. and Göransson, U. (2018). How does the sweet violet (*Viola odorata* L.) fight pathogens and pests – cyclotides as a comprehensive plant host defense system. *Frontiers in Plant Science*, 9: 1296.
- Song, L., Chang, J. and Li, Z. (2016). A serine protease extracted from *Trichosanthes kirilowii* induces apoptosis via the PI3K/AKT-mediated mitochondrial pathway in human colorectal adenocarcinoma cells. *Food and Function*, 7(2): 843–854.
- Souza, M. P., Vaz, A. F. M., Costa, T. B., Cerqueira, M. A., Vicente, A.A. and Carneiro-da-Cunha, M. G. (2014). Quercetin-loaded lecithin/chitosan nanoparticles for functional food applications. *Food and Bioprocess Technology*, 7: 1149–1159.
- Sun, Y., Chang, R., Li, Q. and Li, B. (2016). Isolation and characterization of an antibacterial peptide from protein hydrolysates of *Spirulina platensis*. *European Food Research and Technology*, 242(5): 685–692.
- Thapa, R. K., Diep, D. B. and Tønnesen, H. H. (2020). Topical antimicrobial peptide formulations for wound healing: Current developments and future prospects. *Acta Biomaterialia*, 103: 52–67.
- Trombetta, D., Puglia, C., Perri, D., Licata, A., Pergolizzi, S., Lauriano, E. R. and Bonina, F. P. (2006). Effect of polysaccharides from *Opuntia ficus-indica* (L.) cladodes on the healing of dermal wounds in the rat. *Phytomedicine*, 13: 352–358.
- Tu, M., Liu, H., Cheng, S., Mao, F., Chen, H., Fan, F. and Du, M. (2019). Identification and characterization of a novel casein anticoagulant peptide derived from *in vivo* digestion. *Food & Function*, 5: 2552–2559.
- Vasilchenko, A. S., Smirnov, A. N., Zavriev, S. K., Grishin, E. V., Vasilchenko, A. V. and Rogozhin, E. A. (2016). Novel thionins from black seed (*Nigella sativa* L.) demonstrate antimicrobial activity. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 23: 171–180.
- Veeraperumal, S., Qiu, H.-M., Zeng, S.-S., Yao, W.-Z., Wang, B.-P., Liu, Y. and Cheong, K.-L. (2020). Polysaccharides from *Gracilaria lemaneiformis* promote the HaCaT keratinocytes wound healing by polarised and directional cell migration. *Carbohydrate Polymers*, 241.
- Vijayabaskar, P., Vaseela, N. and Thirumaran, G. (2012). Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10: 421–428.
- Wang, S., Xu, Z., Zhao, Y. and Liu, C. (2020c). On the protective effect of lycium barbarum polysaccharide (LBP) on optic nerve tissue and retinal ganglion cells. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, 10(4): 443–448.
- Wang, X.-H., Su, T., Zhao, J., Wu, Z., Wang, D., Zhang, W.-N. and Chen, Y. (2020). Fabrication of polysaccharides-based hydrogel films for transdermal sustained delivery of Ibuprofen. *Cellulose*, 27: 10277–10292.
- Wang, Z., Xue, R., Cui, J., Wang, J., Fan, W., Zhang, H. and Zhan, X. (2018). Antibacterial activity of a polysaccharide produced from *Chaetomium globosum* CGMCC 6882. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125: 376–382.
- World Health Organization. Antimicrobial resistance [online]. 2021 [2021, February, 22]. Available from: URL: <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>.
- Wróblewska-Krepsztul, J., Rydzkowski, T., Michalska-Pozoga, I. and Thakur, V. K. (2019). Biopolymers for biomedical and pharmaceutical applications: recent advances and overview of alginate electrospinning. *Nanomaterials*, 9: 404.
- Yang, M., Lo, A. C. Y. and Lam, W. C. (2020). Lycium barbarum polysaccharides protected against Amyloid beta1-40 oligomers-induced adult retinal pigment epithelium 19 cell damage. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 61: 4917.
- Yao, W.-Z., Veeraperumal, S., Qiu, H.-M., Chen, X.-Q. and Cheong, K.-L. (2020). Anti-cancer effects of *Porphyra haitanensis* polysaccharides on human colon cancer cells via cell cycle arrest and apoptosis without causing adverse effects *in vitro*. *3 Biotech*, 10(9): 386.
- Yoon, S.-J., Yu, M.-A., Pyun, Y.-R., Hwang, J.-K., Chu, D.-C., Juneja, L. R. and Mourão, P. A. S. (2003). The nontoxic mushroom *Auricularia auricula* contains a polysaccharide with anticoagulant activity mediated by antithrombin. *Thrombosis Research*, 112: 151–158.
- Zhang, C., He, Y., Chen, Z., Shi, J., Qu, Y. and Zhang, J. (2019). Effect of polysaccharides from *Bletilla striata* on the healing of dermal wounds in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019: 1–9.
- Zhang, K., Liu, Y., Zhao, X., Tang, Q., Dervedde, J., Zhang, J. and Fan, H. (2018). Anti-inflammatory properties of GLPss58, a sulfated polysaccharide from *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107: 486–493.
- Zhang, X., Guo, K., Dong, Z., Chen, Z. and Zhu, H. (2020). Kunitz-type protease inhibitor BmSPI51 plays an antifungal role in the silkworm cocoon. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 116: 103258.
- Zhang, X., Zhang, N., Kan, J., Sun, R., Tang, S., Wang, Z. and Jin, C. (2020). Anti-inflammatory activity of alkali-soluble polysaccharides from *Arctium lappa* L. and its effect on gut microbiota of mice with inflammation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154: 773–787.

228 *Biodegradable Polymers: Concepts and Applications*

- Zhang, Y., Wu, Y.-T., Zheng, W., Han, X.-X., Jiang, Y.-H., Hu, P.-L. and Shi, L.-E. (2017). The antibacterial activity and antibacterial mechanism of a polysaccharide from *Cordyceps cicadae*. *Journal of Functional Foods*, 38: 273–279.
- Zhao, Y. R., Xu, Y. H., Jiang, H. S., Xu, S., Zhao, X. F. and Wang, J. X. (2014). Antibacterial activity of serine protease inhibitor 1 from kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Developmental and Comparative Immunology*, 44(2): 261–269.
- Zhu, H., Sheng, K., Yan, E., Qiao, J. and Lv, F. (2012). Extraction, purification and antibacterial activities of a polysaccharide from spent mushroom substrate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50: 840–843.
- Zielińska, E., Baraniak, B. and Karas, M. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory activities of hydrolysates and peptide fractions obtained by enzymatic hydrolysis of selected heat-treated edible insects. *Nutrients*, 9(9): 970.

## 7 CONCLUSÃO

---

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- O gel de galactomanana não apresentou citotoxicidade;
  - O gel de galactomanana (50 µg/mL) apresentou poder cicatrizante *in vitro*, promovendo um ambiente propício e estimulante para o crescimento celular no período de 6 a 72 h de tratamento após a lesão;
  - O gel de galactomanana e a terapia de fotobiomodulação (TFBM), de maneira isolada, foi capaz de acelerar *in vivo* o processo de cicatrização de feridas por queimadura de 2º grau em ratos Wistar;
  - A TFBM associada ao gel de galactomanana promoveu reepitelização e remodelação estromal com melhor evolução de recuperação do epitélio devido ao efeito sinérgico positivo, garantindo a formação de um tecido cutâneo de melhor qualidade e, por isso, desponta como uma alternativa terapêutica promissora.
-

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, R., MIRANDA, M., LIMA, A., MOSCA, J., MOREIRA, R., ENÉAS-FILHO, J. Effect of a galactomannan coating on mango postharvest physicochemical quality parameters and physiology. **Fruits**, v. 66, n. 4, p. 269-278, 2011.
- AJITERU, O., LEE, OJ., KIM, JH., LEE, YJ., LEE, JS., LEE, H., SULTAN MT., PARK, CH. Fabrication and characterization of a myrrh hydrocolloid dressing for dermal wound healing. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 48, p. 100617, 2022.
- ALBUQUERQUE, PBS., CERQUEIRA, MA., VICENTE, AA., TEIXEIRA, JÁ., CARNEIRO-DA-CUNHA, MG. Healing activity evaluation of the galactomannan film obtained from *Cassia grandis* seeds with immobilized *Cratylia mollis* seed lectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 96, p. 727-735, 2017.
- ALBUQUERQUE, PBS., COELHO, LC., TEIXEIRA, JA., CARNEIRO-DA-CUNHA, MG. Characterization and rheological study of the galactomannan extracted from seeds of *Cassia grandis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 104, p. 127-134, 2014.
- ALBUQUERQUE, PBS., SILVA, CS., SOARES, PAG., BARROS JR, W., CORREIA, MTS., COELHO, LCBB., TEIXEIRA, JÁ., CARNEIRO-DA-CUNHA, MG. Investigating a galactomannan gel obtained from *Cassia grandis* seeds as immobilizing matrix for Cramoll lectin. **IAIMS Molecular Science**, v. 3, p. 386-425, 2016.
- ALVES, AC, PINTO, FM. Mais de 40% das queimaduras graves registradas neste ano foram causadas por álcool (07/06/2021). Disponível em: <https://www.fheming.mg.gov.br/noticias/2082-mais-de-40-das-queimaduras-graves-registradas-neste-ano-foram-causadas-por-alcool#>. Acessado em 05/04/2022.
- ANDERS, JJ., LANZAFAME, RJ., ARANY, PR. Low-Level Light/Laser Therapy versus photobiomodulation therapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 33, n. 4, p. 183–184, 2015.
- ANDERSON, RR., DONELAN, MB., HIVNOR, C., GREESON, E., ROSS, EV., SHUMAKER, PR., PETER, R., UEBELHOER, NS., WAIBEL, JS. Laser treatment of traumatic scars with an emphasis on ablative fractional laser resurfacing: consensus report. **JAMA Dermatology**, v. 150, n. 2, p. 187-193, 2014.
- ANDRADE, ALM., BRASSOLATTI, P., LUNA, GF., PARISI, JR., DE OLIVEIRA LEAL, ÂM., FRADE, MAC., PARIZOTTO, NA. Effect of photobiomodulation associated with cell therapy in the process of cutaneous regeneration in third degree burns in rats. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 14, n. 5, p. 673-683, 2020.
- ANDRADE, FJET., ALBUQUERQUE, PB., SEIXAS, JRP., FEITOZA, GS., JUNIOR, WB, VICENTE, AA., CARNEIRO-DA-CUNHA, MG. Influence of *Cassia grandis* galactomannan on the properties of sponge cakes: a substitute for fat. **Food & Function**, v. 9, n. 4, p. 2456-2468, 2018a.

ANDRADE, FJET., ALBUQUERQUE, PBS., MORAES, GMD., FARIAS, MDP., TEIXEIRA-SA, DMA., VICENTE, AA., CARNEIRO-DA-CUNHA. Influence of hydrocolloids (galactomannan and xanthan gum) on the physicochemical and sensory characteristics of gluten-free bean-based cakes (*Phaseolus lunatus*). **Function & Function**, v. 9, n.12, p. 6369-6379, 2018b.

ARAGÃO-NETO, AC., SOARES, PA., LIMA-RIBEIRO, MH., CARVALHO, EJ., CORREIA, MT., CARNEIRO-DA-CUNHA, MG. Combined therapy using low level laser and chitosan-policaju hydrogel for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 268–272, 2017.

Árvore do Brasil. Cássia rosa - *Cassia grandis*, 2022. Disponível em <<https://www.arvores.brasil.nom.br/new/cassiagrande/index.htm>>. Acesso em: 1 de Dez. de 2022.

ATUÁ R, H., PEREIRA, KFS., GAETTI JARDIM, EC., ZAFALON, EJ., BOSCAINE, EF., SILVA, JCL. Use of low level laser therapy in the postoperative of exodontia of third molars. **Archives of Health Investigation**, v. 10, n.3, p. 489-496, 2021.

AVCI, P., GUPTA, A., SADASIVAM, M., VECCHIO, D., PAM, Z., PAM, N., HAMBLIN, MR. Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 32, n. 1, p. 41–52, 2013.

BAUMANN, ME., CLAIRMONTE, IA., DEBRULER, DM., BLACKSTONE, BN., MALARA, MM., SUPP, DM., KEVIN, JB., HEATHER MP. FXCO2 laser therapy of existing burn scars does not significantly improve outcomes in a porcine model. **Burns Open**, v.3, n.3, p. 89-95, 2019.

BAXTER, D. Laserterapia de baixa intensidade. **Eletroterapia: prática baseada em evidências. 11ª ed. Barueri: Manole**, p. 171-88, 2003.

BILAL, M., GUL, I., BASHARAT, A., QAMAR, SA. Bionanostructures based on polysaccharides and their potential applications in food. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 176, p. 540-557, 2021.

BISHT, B., LOHANI, UC., KUMAR V., GURURANI, P., SINHMAR, R. Edible hydrocolloids as sustainable substitute for non-biodegradable materials. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 2, n 3, p. 693–725, 2022.

BONIAKOWSKI, AE., KIMBALL, AS., JACOBS, BN., KUNKEL, SL., GALLAGHER, KA. Macrophage-Mediated Inflammation in Normal and Diabetic Wound Healing. **The Journal of Immunology**, v. 199, n. 1, p. 17-24, 2017.

BOTMAN, M., HENDRIKS, TC., DE HAAS, LE., MTUI, GS., BINNERTS, J., NUWASS, EQ., & VAN ZUIJLEN, PP. Access to Burn Care in Low- and Middle-Income Countries: An Assessment of Timeliness, Surgical Capacity, and Affordability in a Regional Referral Hospital in Tanzania. **Journal of Burn Care & Research**, v. 43, n. 3, p. 657-664, 2022.

BRAGA, RC., TEIXEIRA-SÁ, DMA., RIBEIRO, AF., MIRANDA, RL., ALMEIDA, LM., HORTA, ACG., MOREIRA, RA. Evaluation of Caesalpinia pulcherrima endospermic gum as affinity matrices for galactose-binding lectins interaction. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n.2, p. 283-292, 2011.

BROUGHTON, G., JANIS, JE., ATTINGER, CE. Wound healing: an overview. **Plastic and Reconstructive Surgery**, 117 (7 Suplemento): 1e-S-32e-S, 2006.

BROWN, TM., KRISHNAMURTHY, K. Histology Histology, dermis. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2022. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/>.

BUNMAN, S., DUMAVIBHAT, N., LARBCHAROENSUB, N. Evaluation of liver and kidney toxicity in rats that receiving proteoglycans from fish cartilage for the acceleration of burn Wound healing. **The Bangkok Medical Journal**, v.11, p. 11-16, 2016.

CAVALCANTI, TM., ALMEIDA-BARROS, RQ., CATÃO, MHCV., FEITOSA, APA., LINS, RDAU. Conhecimento das propriedades físicas e da interação do laser com os tecidos biológicos na odontologia. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 86, p. 955-960, 2011.

CARVALHO, R., PEDROSA, C., LEAL, A., PALERMO, L., & MANSUR, C. Extração, caracterização e comportamento reológico de galactomananas em condições de alta salinidade e temperatura. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**, v. 26, n.7, p. 573-592, 2021.

CERQUEIRA, MA., LIMA, AM., TEIXEIRA, JA., MOREIRA, RA., VICENTE, AA. Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. **Journal of Food Engineering**, v.94, p. 372-378, 2009.

CERQUEIRA, MA., SOUZA, BWS., SIMÕES, J., TEIXEIRA, JA., DOMINGUES, MRM., COIMBRA, MA., VICENTE, AA. Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 179–185, 2011.

CHAKKA, VP., ZHOU, T. Carboxymethylation of polysaccharides: Synthesis and bioactivities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.165, p.2425-2431, 2020.

CHEN, L., DIPIETRO, LA. Toll-Like Receptor Function in Acute Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 6, n.10, p.344-355, 2017.

CHEN, L., LONG, R., HUANG, G., HUANG, H. Extraction and antioxidant activities in vivo of pumpkin polysaccharide. **Industrial Crops and Products**, v.146, p.112199, 2020.

CHO, YS., CHOI, YH. Comparison of three cooling methods for burn patients: a randomized clinical trial. **Burns**, v. 43, p. 502-508, 2016.

CONFORTI, M., FACHINETTI, GP. High power laser therapy treatment compared to simple segmental physical rehabilitation in whiplash injuries (1° and 2° grade of the Quebec Task Force classification) involving muscles and ligaments. **Muscles, Ligaments and Tendons Journal**, v. 3, n. 2, p.106-111,2013.

COTLER, HB., CHOW, RT., HAMBLIN, MR., CARROLL, J. The Use of Low Level Laser Therapy (LLLT) For Musculoskeletal Pain. **MOJ Orthopedics & Rheumatology**, v. 2, n.5, p. 188-194, 2015.

DARBY, IA., LAVERDET, B., BONTE, F., DESMOULIERE, A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 7, p. 301-311, 2014.

DAS, A., SINHA, M., DATTA, S., ABAS, M., CHAFFEE, S., SEM, CK, ROY, S. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. **The American Journal of Pathology**, v. 185, n. 10, p. 2596-2606, 2015.

DALLA-CORTE, LM., FLEURY, BAG., HUANG, M., ADORNO, J., MODELLI, MES. Epidemiological profile of burning victims in a specialized unit in the Federal District of Brazil. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 18, n.1, p. 10-15, 2019.

DJÄRV, T et al. Duration of cooling with water for thermal burns as a first aid intervention: A systematic review. **Burns**, v. 48, p. 251-262, 2021.

DU CHEYNE, C., TAY, H., DE SPIEGELAERE, W. The complex TIE between macrophages and angiogenesis. **Anatomia, Histologia Embryologia**, v. 49, n. 5, p. 585-596, 2020.

FERNANDES, PB., GONCALVES, MP., DOUBLIER, JL. Rheological behaviour of kappa-carrageenan/galactomannan mixtures at a very low level of kappa-carrageenan. **Journal of Texture Studies**, v. 25, n. 3, p. 267-283, 1994.

FIÓRIO, FB., ALBERTINI, R., LEAL JUNIOR, ECP et al. Effect of low-level laser therapy on types I and III collagen and inflammatory cells in rats with induced third-degree burns. **Lasers in Medical Science**, v. 29, n. 1, p. 313– 319, 2014.

GARTI, N., MADAR, Z., ASERIN, A., STERNHEIM, B. Fenugreek galactomannans as food emulsifiers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 30, n. 3, p. 305-311, 1997.

GERMANO, TA., AGUIAR, RP., BASTOS, MSR., MOREIRA, RA., MIRANDA, MRA. Galactomannan-carnauba wax coating improves the antioxidant status and reduces chilling injury of 'Paluma' guava. **Postharvest Biology and Technology**, v. 149, p. 9-17, 2019.

GOLEBIEWSKA, EM., POOLE, AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. **Blood Reviews**, v. 29, n. 3, p. 153-162, 2015.

GONZALEZ, AC., COSTA, TF., ANDRADE, ZA., MEDRADO, AR. Wound healing – a literature review. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, p. 614–620, 2016.

GARROS-ROSA, I., REICHER, F., PETKOWICZ, CLO., SIERAKOWSKI, MR., MOREIRA, RA. Characterization of the Galactomannans from *ParkinsoniaAculeata* Seeds and their Application on Affinity Chromatography. **Polímeros**, v. 16, n.2, p. 99-103, 2006.

GRAND VIEW RESEACH, Market Reserach Report, 1-140, 2019: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/burn-care->

HEIDARIAN, P., KOUZANI, AZ., KAYNAK, A., PAULINO, M., NASRI-NASRABADI, B., ZOLFAGHARIAN, A., VARLEY, R. Dynamic plant-derived polysaccharide-based hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 231, p. 115743, 2020.

HOSSAIN, S., AFRIN, S., ANIKA, S., SULTANA, S., HAQUE, P., SHAHRUZZAMAN, M. Chapter Two - Synthesis, characterization, and modification of natural polysaccharides. **Radiation-Processed Polysaccharides-Emerging Roles in Agriculture**, 29-74, 2022.

HOU, C., CHEN, L., YANG, L., JI, X. An insight into anti-inflammatory effects of natural polysaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 53, p. 248–255, 2020.

JANIS, JE., HARRISON, B. Wound Healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 138, 9S–17S, 2016.

JI, C., HOU, Y., GAO, Y., XUE, Y., YAN, X. Guo, Metagenomic analysis of gut microbiota modulatory effects of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) polysaccharides in a colorectal cancer mouse model. **Food Function**, v.11, p. 163–173, 2020.

KARMISHOLT, K., HAERSKJOLD, A., KARLSMARK, T., WAIBEL, JS., PAASCH, U., HAEDERSDAL. M. Early laser intervention to reduce scar formation – a systematic review. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.32, p.1099–110, 2018.

KARU TI. Photobiological Fundamentals of Low-Power Laser Therapy. **Journal of Quantum Electronics**, v. 23, n. 10, p. 1703-1717, 1987.

KESHRI, GK., YADAV, A., VERMA, S., KUMAR, B., GUPTA, A. Effects of Pulsed 810 nm Al-Ga-As Diode Laser on Wound Healing Under Immunosuppression: A Molecular Insight. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 52, n. 5, p. 424-436, 2020.

KHAVKIN, J., ELLIS, DAF. Aging skin: histology, physiology, and pathology. **Facial Plastic Surgery Clinics**, v. 19, n. 2, p. 229-234, 2011.

KIM JY., DAO, H. Physiology, Integument. StatPearls Publishing; Jan – NCBI, 2022. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554386/>).

KIM, E-J.; KIM, S-H. Anti-inflammatory effects of low-level laser in burn wound models in rats. **Physical Therapy Rehabilitation Science**, v. 6, n.4, p. 170–175, 2017.

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

KONTOGIORGOS, V. Galactomannans (guar, locust bean, fenugreek, tara). In L. Melton, F. Shahidi, & P. Varelis (Eds.), *Encyclopedia of food chemistry*, p. 109–113, Academic Press, 2019.

KUJATH, P., MICHELSEN, A. Wounds– From physiology to wound dressing. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 105, n.13, p. 239-248, 2008.

LAFOURCADE, PA., RODRIGUEZ, AJR., ESCALONA, AJC., LAURIDO, FC. State of the art in *Cassia grandis* Lf. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n 1, p. 21–28, 2014.

LAFOURCADE, PA., RODRIGUEZ, AJR., KEITA, H., PUENTE, ZE., CARVALHO, H., SILVA, L.E., PEREIRA, ST., TAVARES, CJC. *Cassia grandis* fruit extract reduces the blood glucose level in alloxan-induced diabetic rats. **Biomedicine& Pharmacotherapy**, v.103, p.421-428, 2018.

LANGTON, AK., HALAI, P., GRIFFITHS, CEM., SHERRATT, MJ., WATSON, REB. The impact of intrinsic ageing on the protein composition of the dermal-epidermal junction. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 156, p14–16, 2016.

LAVUDI, HN., SUTHARI, S. Application of Legume Seed Galactomannan Polysaccharides. In book: *Legume Agriculture and Biotechnology* (pp.1-10), 2020. [https://www.researchgate.net/publication/341481570\\_Application\\_of\\_Legume\\_Seed\\_Galactomannan\\_Polysaccharides](https://www.researchgate.net/publication/341481570_Application_of_Legume_Seed_Galactomannan_Polysaccharides).

LEWIS, GP., SCHRIRE, B. MACKINDER, B. LOCK, M. Legumes of the World. **The Royal Botanic Gardens**. Kew, p. 577, 2005.

LI, D., HONGMEI, P., LE, Q., PEHR, S., AOXUE, W., TONGBIN, C., XI, L., XINLING, BI., QUEPING, L., IRÈNE, GS. “MiR-19a/b and MiR20a Promote Wound Healing by Regulating the Inflammatory Response of Keratinocytes. **Journal of Investigative Dermatology**, v.141, n.3, p.659–671, 2021.

LIAO, S, PORTER, D., SCOTT, A., NEWMAN, G., DOETSCHAMAN, T., SCHULTZ, JJ. The cardioprotective effect of the low molecular weight isoform of fibroblast growth factor-2: The role of JNK signaling. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 42, p.106–120, 2007.

LIMA, EV., PACHEGO-SOARES, C., SILVA, NS. Photobiomodulation assay of muscle cells C2C12 after irradiation with LED device / Ensaio de fotobiomodulação de células musculares C2C12 após irradiação com dispositivo LED / Ensayo de fotobiomodulación de células musculares C2C12 después de la irradiación con dispositivo LED. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, e41511628884, 2022.

LINDE, LG. Reabilitação de crianças com queimaduras. In: Tecklin JP, ed. *Fisioterapia pediátrica*. 3ª ed. Porto Alegre:Artmed; p.384-422, 2002.

- LINS, RDAU et al. Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, p. 849-855, 2010.
- LOW, J., REED, A. Laserterapia. In: Eletroterapia explicada: princípios e prática. São Paulo:Manole., p.389-409. 2001.
- LUO, Y. Food colloids binary and ternary nanocomplexes: innovations and discoveries, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, p.111309, 2020.
- MESTER, E., MESTER, AF., MESTER, A., The biomedical effects of laser application. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 5, p. 31-39, 1985.
- MIR, M., BARAKULLAH, A., GULZAR, A. Synthetic polymeric biomaterials for wound healing: a review. **Progress in Biomaterials**, v.7, n.1, p.1-21, 2018.
- MITCHELL M., KISTAMGARI S., CHOUNTHIRATH T., MCKENZIE LB., SMITH GA. Children Younger Than 18 Years Treated for Nonfatal Burns in US Emergency Departments. **Clinical pediatrics**, v. 59, p. 34-44, 2020.
- MONAVARIAN M., KADER S., MOEINZADEH, S., JABBARI, E. Regenerative Scar-Free Skin Wound Healing. **Tissue engineering. Part B, Reviews**, v. 25, n. 4, p.294-31, 2019.
- MOREIRA, AR., VASCONCELOS, IC., FACHI, JL., THEODORO, V., DALIA, RA., ARO, AA., PIMENTEL, ER., GASPI, FOG., ANDRADE, TAM., AMARAL, MEC., ESQUISATTO, MAM., MENDONÇA, FAS., SANTOS, GMT. Application of Solidago Chilensis and Laser Improved the Repair of Burns in Diabetic Rats. **Biomedical Journal**, v. 44, n. 6, p. 709-716, 2021.
- MOREIRA, RA., CASTELO-BRANCO, CC., MONTEIRO, ACO., TAVARES, RO., BELTRAMINI, LM. Isolation and Partial Characterization of A Lectin From *Artocarpus Incisa* L. Seeds. **Phytochemistry**, v. 47, p. 1183–1188, 1998.
- NOURELDI, MA., SAID, TA., MAKEEN, K., & KADRY, HM. Comparative study between skin micrografting (Meek technique) and meshed skin grafts in pediatric burns. **Burns**, v. 48, n. 7, p. 1632-1644, 2022.
- ODONDI, RN., SHITSINZI, R., EMARAH, A. Clinical patterns and early outcomes of burn injuries in patients admitted at the Moi Teaching and Referral Hospital in Eldoret, Western Kenya. **Heliyon**, v. 6, n. 3, p. e03629, 2020.
- PANDEY, RK., DOUGHERTY, TJ., KESSEL, D. Handbook of Photodynamic Therapy: Updates on Recent Applications of Porphyrin-Based Compounds. **World Scientific Publishing Company Inc**; 1 ed, 2016.
- PASCOAL, KL., SIQUEIRA, SM., AMORIM, AF., RICARDO, NMS., MENEZES, JE., SILVA, LC., TEIXEIRA, AM. Physical-chemical characterization, controlled release, and toxicological potential of galactomannan-bixin microparticles. **Journal of Molecular Structure**, v.1239, p.130499, 2021.

PASTWINSKA, J., AGIER, J., DASTYCH, J., BRZEZINSKA, BE. Mast cells as the strength of the inflammatory process. **Polish Journal of Pathology**, v. 68, n.3, p.187–196, 2017.

POLLARD, MA., EDER, B., FISCHER, P., WINDHAB, EJ. Characterization of galactomannans isolated from legume endosperms of Caesalpinioideae and Faboideae subfamilies by multidetection aqueous SEC. **Carbohydrate Polymers**, v.79, p.70-84, 2010.

PRADA, AL., ACHOD, LDR., KEITA, H., CARVALHO, JCT., SOUZA, TP., AMADO, JRR. Development, pharmacological and toxicological evaluation of a new tablet formulation based on *Cassia grandis* fruit extract. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 16, p.100244, 2020.

PRADA, AL., KEITA, H., SOUZA, TP., LIMA, ES., ACHO, LDR., SILVA, MJA., CARVALHO, JCT., AMADO, JRR. *Cassia grandis* Lf nanodispersion is a hypoglycemic product with a potent  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase inhibitor effect. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v.27, n.2, p. 191-199, 2019.

PRAJAPATI, VD., JANI, GK., MORADIYA, NG., RANDERIA, NP., NAGAR, BJ., NAIKWADI, N N., VARIYA, BC. Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 83–92, 2013.

RAGHUPATI, N. First-aid treatment of burns: efficacy of water cooling. **British Journal of Plastic Surgery**, v. 21, n. 1, p. 68-72, 1968.

RIDIANDRIES, A., TAN, JTM., BURSILL, CA. The Role of Chemokines in Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 19, n.10, p.3217, 2018.

ROBIJNS, J et al. Photobiomodulation therapy for the prevention of acute radiation dermatitis in head and neck cancer patients (DERMISHEAD trial). **Radiotherapy & Oncology**, v. 158, p. 268-275, 2021.

RODERO, MP. et al. In Vivo Imaging Reveals a Pioneer Wave of Monocyte Recruitment into Mouse Skin Wounds. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p.108212, 2014.

RODRIGUEZ-CANTO, W., CERQUEIRA, M.A., CHEL-GUERRERO, L., PASTRANA, L.M., AGUILAR-VEJA, M. Delonix regia galactomannan-based edible films: Effect of molecular weight and k-carrageenan on physicochemical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 103, p. 105632, 2020.

ROGER, M., FULLARD, N., COSTELLO, L., BRADBURY, S., MARKIEWICZ, E., O'REILLY, S., DARLING, N., RITCHIE, P., MAATTA, A., KARAKESISOGLU, I., NELSON, G., VON ZGLINICKI, T., DICOLANDREA, T., ISFORT, R., BASCOM, C., PRZYBORSKI, S. Bioengineering the microanatomy of human skin. **Journal Anatomy**, v. 234, p. 438-455, 2019.

SAMPAIO, S., RIVITTI, E. Anatomia e fisiologia da pele. Dermatologia 3º Edição, 2014.

SBCP-SC. Quais são os principais procedimentos não cirúrgicos? Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica Regional Santa Catarina, fev. 2019. Disponível em: <https://sbcpsc.org.br/artigos/quais-sao-os-principais-procedimentos-nao-cirurgicos/>. Acesso em: 1 maio 2022.

SCHORSCH, C., GARNIER, C., DOUBLIER, J-L. Viscoelastic properties of xanthogalactomannan mixtures: comparison of guar gum with locust bean gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 34, n. 3, p. 165-175, 1997.

SESHAGIRIAO, K., LEELAVATHI, C., SASIDHAR, V. Cross-linked *Leucaena* Seed Gum Matrix: An Affinity Chromatography Tool for Galactose-specific Lectins. **Biochemistry and Molecular Biology**. v. 38, p. 370-372, 2005.

SENGOELGE, M., EL-KHATIB, Z., LAFLAMME, L. The global burden of child burn injuries in light of country level economic development and income inequality. **Preventive Medicine Report**, v. 6, p.115–120, 2017.

SHAW, T.J., MARTIN, P. Wound repair: a showcase for cell plasticity and migration. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 42, p. 29-37, 2016.

SHI, L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 37-48, 2016.

SILVEIRA, JLM., BRESOLIN, TMB. Pharmaceutical use of galactomannans. **Química Nova**, v. 34, n, 2, p. 292-299, 2011.

SITTIKIYOTHIN, W., TORRES, D., GONÇALVES, MP. Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, n. 3, p. 339-350, 2005.

SOARES, P.A.G. Obtenção, caracterização e aplicação de hidrogéis a base de polissacarídeos. Tese de Doutorado pelo Programa de PG em Bioquímica e Fisiologia, UFPE/CB-2017-259, 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUEIMADURA (SBQ). **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 17, p.1- 82, 2018.

SONG, S., WANG, L., YU, Q., AI, C. FU, Y., YAN, C., WEN, C., ZHU, Z. Structural characterization and anticoagulant activity of two polysaccharides from *Patinopecten yessoensis* viscera. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 579–585, 2019.

SOUICI, L, DENESVRE, C. 3D skin models in domestic animals. **Veterinary Research**, v. 52, n. 21, p. 1-15, 2021.

SRIVASTAVA, M., KAPOOR, VP. Seed galactomannans: an overview. **Chemistry e Biodiversity**, v. 2, n. 3, p. 295-317, 2005.

SU, WH., CHENG, MH., LEE, WL., TSOU, TS., CHANG, WH., CHEN, CS., Wang, P-H. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for wounds: pain relief or excessive scar formation? **Mediators Inflammation**, p. 413238, 2010.

TAO, Y., WANG, T., HUANG, C., LAI, C., LING, Z., ZHOU, Y., YONG, Q. Production performance, egg quality, plasma biochemical constituents and lipid metabolites of aged laying hens supplemented with incomplete degradation products of galactomannan. **Poultry Science**, v. 100, n. 8, 101296, 2021.

TARADAJ, J., HALSKI, T., KUCHARZEWSKI, M. et al. Effect of Laser Irradiation at Different Wavelengths (940, 808, and 658 nm) on Pressure Ulcer Healing: Results from a Clinical Study. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013:960240, 2013.

TORRES, FG., TRONCOSO, OP., PISANI, A, GATTO, F., BARDI, G. Natural Polysaccharide Nanomaterials: An Overview of Their Immunological PropertiesInternational. **Journal of Molecular Sciences**. v.14, n.20, p.5092, 2019.

TORTORA, GJ, DERRICKSON, BH. Princípios de anatomia e fisiologia: manutenção e contiuidade do corpo humano. Volume 2. Décima segunda edição. John Wiley and Sons, Hoboken NJ, 2009.

VAN NJEKERK, A. Burn-Related Injuries, 2022. <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780190632366.013.305> Published online: 24 February 2022.

WAIBEL, JS., RUDNICK, A. Current trends and future considerations in scar treatment. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v.34, p. 13-16, 2015.

WALLACE, H.A.; BASEHORE, B.M.; ZITO, P.M. Wound Healing Phases. 2022. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 29262065.

WANG, PH., HUANG, BS., HORNG, HC., YEH, CC., CHEN, YJ. Wound healing. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n.2, p. 94-10, 2018.

WATT, FM., FUJIWARA, H. Cell-extracellular matrix interactions in normal and diseased skin. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 3, n. 4, a005124, 2011.

WHO 2018, Burns - WHO | World Health Organization (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>).

WILKINSON, HN, HARDMAN, MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. **Open Biology**, 10: 200223 (2020). <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.200223>.

WITTE, MB., BARBUL, A. General principles of wound healing. **Surgical Clinics of North America**, v. 77, n.3, p. 509–528, 1997.

WRIGHT E. H., TYLER, M., VOJNOVIC B., PLEAT, J., HARRIS A., FURNISS D. Human model of burn injury that quantifies the benefit of cooling as a first aid measure. **Journal of British Surgery**, v. 106, n. 11, p. 1472-1479, 2019.

XIA, S., ZHAI, Y., WANG, X., FAN, Q., DONG, X., CHEN, M., HAN, T. Phosphorylation of polysaccharides: A review on the synthesis and bioactivities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 184, p. 946-954, 2021.

YADAV, H., MAITI, S. Research progress in galactomannan-based nanomaterials: Synthesis and application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.15, n.163, p. 2113-2126, 2020.

YOUSEF H., MANDY ALHAJJ, M., SHARMA, S. Anatomy, Skin (Integument), Epidermis StatPearls Publishing; 2022 Jan – NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470464/>).

## ANEXOS

### ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO 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  
 cma@ufpe.br

Recife, 30 de setembro de 2019

Ofício nº 65/19

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

Para: **Prof. Maria das Graças Caneiro da Cunha**

**Departamento de Bioquímica**

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **0094/2019**

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação da atividade biológica e icatrizante do gel de galactomanana de sementes de Cassia grandis associado à laserterapia no processo cicatricial de feridas por queimadura**”, registrado com o nº **0094/2019** sob a responsabilidade de **Prof. Maria das Graças Caneiro da Cunha** 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 24/09/2019

Finalidade	( ) Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	04/11/2019 a 30/04/2021
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	80
Peso/Idade	250 ± 50/ g
Sexo	machos (80)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição/UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério Convencional do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA/UFPE)

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva  
 Vice-Presidente CEUA/UFPE  
 SIAPE 2345691

ANEXO B- MENSAGEM DA *CRC Press*

Dear Dr. Sánchez, Dr. Duque, Dr. Galindo and Dr. Herrera,

The print files have been sent to the printing department. The publication date is 25<sup>th</sup> May 2023 but the eBOOK may be ready before the Print version and you may receive it earlier.

*Free copies:* Each editor will receive three hardcopies of the printed book + eBOOK. The Corresponding or Lead authors of each chapter will receive eBOOK. A separate request for both hardcopy and eBOOK will be sent to the concerned department for processing.