

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PEDRO EDUARDO PEREIRA

PRODUÇÃO E ENSAIO PRÉ-CLÍNICO DE MEMBRANAS ELETROFIADAS DE
NANOQUITOSANA, CURCUMINA, COLÁGENO E ÁCIDO HIALURÔNICO PARA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS DE PELE

PALOTINA

2025

PEDRO EDUARDO PEREIRA

PRODUÇÃO E ENSAIO PRÉ-CLÍNICO DE MEMBRANAS ELETROFIADAS DE
NANOQUITOSANA, CURCUMINA, COLÁGENO E ÁCIDO HIALURÔNICO PARA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS DE PELE

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Setor de Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dra. Juliana Bernardi Wenzel.

PALOTINA

2025

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.
Biblioteca UFPR Palotina.

P436 Pereira, Pedro Eduardo

Produção e ensaio pré-clínico de membranas eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina, colágeno e ácido hialurônico para cicatrização de feridas de pele / Pedro Eduardo Pereira.
– Palotina, PR, 2025.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.
Orientadora: Prof. Dra. Juliana Bernardi Wenzel.

1. Antioxidante. 2. Eletrofiação. 3. Processo cicatricial.
I. Wenzel, Juliana Bernardi. II. Universidade Federal do Paraná.
III. Título.

CDU 60

Bibliotecária: Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOTECNOLOGIA -
40001016083P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação BIOTECNOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **PEDRO EDUARDO PEREIRA**, intitulada: **PRODUÇÃO E ENSAIO PRÉ-CLÍNICO DE MEMBRANAS ELETROFIADAS DE NANOQUITOSANA, CURCUMINA, COLÁGENO E ÁCIDO HIALURÔNICO PARA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS DE PELE**, sob orientação da Profa. Dra. JULIANA BERNARDI WENZEL, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 27 de Agosto de 2025.

Assinatura Eletrônica

29/08/2025 13:59:51.0

JULIANA BERNARDI WENZEL

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

29/08/2025 10:20:55.0

TATIELE ESTEFANI SCHONHOLZER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - CAMPUS TOLEDO)

Assinatura Eletrônica

29/08/2025 12:31:54.0

KATHERINNE MARIA SPERCOSKI

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

À minha parceira Karina, que esteve comigo em todos os momentos bons e ruins desta etapa desafiadora da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Juliana Bernardi Wenzel pela paciência em me orientar ao longo deste estudo, aos estudantes de iniciação científica pela participação nos processos técnicos e a todos os professores do programa que compartilham seus conhecimentos.

"Em algum lugar, algo incrível está esperando para ser descoberto."

-Carl Sagan

RESUMO

As feridas cutâneas constituem um relevante problema de saúde pública, afetando milhões de pessoas e gerando elevados custos aos sistemas de saúde devido à necessidade de cuidados prolongados e ao risco de complicações, especialmente em casos crônicos. Entre os materiais estudados para favorecer a cicatrização, a nanoquitosana destaca-se por sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividade antimicrobiana e capacidade de estimular a regeneração tecidual. Este estudo teve como objetivo produzir e avaliar membranas eletrofiadas compostas por nanoquitosana associada à curcumina, colágeno e ácido hialurônico quanto ao seu potencial cicatrizante em modelo pré-clínico com ratos Wistar. As membranas foram obtidas pelo método de eletrofiação a partir de soluções poliméricas preparadas em meio ácido e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura, ensaios *in vitro* de citotoxicidade, teste de atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e ensaio *in vivo* em feridas em ratos Wistar. A análise morfológica revelou fibras uniformes, com diâmetro médio de 305 nm, dispostas de forma entrelaçada. Os testes de citotoxicidade indicaram viabilidade celular acima de 90% para todas as membranas, confirmando ausência de efeito citotóxico. Não foi observada inibição bacteriana contra *S. aureus*. Nos ensaios *in vivo*, todos os grupos tratados apresentaram melhor aspecto visual das feridas em comparação ao controle com solução fisiológica, sobretudo a partir do 7º dia. As associações entre curcumina, colágeno e ácido hialurônico promoveram fechamento mais rápido e maior contração das feridas, atingindo cerca de 99% no 21º dia, embora sem significância estatística em relação ao controle. A análise histológica indicou maior organização tecidual, deposição de colágeno e epitelização nas feridas tratadas com membranas contendo múltiplos princípios ativos. Conclui-se que as membranas eletrofiadas de nanoquitosana associadas à curcumina, colágeno e ácido hialurônico apresentam potencial promissor como curativos funcionais, unindo propriedades físico-químicas favoráveis, ausência de citotoxicidade e efeito positivo no processo cicatricial, configurando-se como alternativa sustentável e de menor custo frente aos curativos avançados disponíveis no mercado.

Palavras-chave: Eletrofiação, processo cicatricial, antioxidante, anti-inflamatório, cobertura.

ABSTRACT

Skin wounds are a significant public health concern, affecting millions of individuals and generating high healthcare costs due to prolonged care needs and the risk of complications, especially in chronic cases. Among the materials investigated for wound healing, nanochitosan stands out for its biocompatibility, biodegradability, antimicrobial activity, and ability to stimulate tissue regeneration. This study aimed to produce and evaluate electrospun membranes composed of nanochitosan combined with curcumin, collagen, and hyaluronic acid for their healing potential in a preclinical Wistar rat model. The membranes were obtained by electrospinning from polymer solutions prepared in an acidic medium and characterized by scanning electron microscopy, *in vitro* cytotoxicity assays, antimicrobial activity tests against *Staphylococcus aureus*, and an *in vivo* assay on standardized dorsal wounds. Morphological analysis revealed uniform fibers with a mean diameter of 305 nm, arranged in an interlaced pattern without apparent defects. Cytotoxicity tests showed cell viability above 90% for all treatments, confirming the absence of cytotoxic effects. No bacterial inhibition against *S. aureus* was observed. *In vivo* assays showed that all treated groups presented better wound appearance compared to the saline control, especially from day 7 onwards. Combinations of curcumin, collagen, and hyaluronic acid promoted faster wound closure and greater contraction, reaching approximately 99% by day 21, although without statistical significance compared to the control. Histological evaluation indicated greater tissue organization, collagen deposition, and re-epithelialization in wounds treated with membranes containing multiple active agents. It is concluded that electrospun nanochitosan membranes combined with curcumin, collagen, and hyaluronic acid have promising potential as functional dressings, combining favorable physicochemical properties, absence of cytotoxicity, and positive effects on the healing process, representing a sustainable and cost-effective alternative to advanced dressings available on the market.

Keywords: electrospinning; wound healing; antioxidant; anti-inflammatory; functional dressings.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FIBRAS ELETROFIADAS DAS MEMBRANAS DOS TRATAMENTOS.....	34/35
FIGURA 2 – PLACA DE PETRI UTILIZADA NO TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	37
FIGURA 3 – MEDIDA DA CITOTOXICIDADE DAS MEMBRANAS.....	38
FIGURA 4 – FOTOS DAS FERIDAS DOS TRATAMENTOS NOS TEMPOS D3, D7, D14 E D21.....	39
FIGURA 5 – PORCENTAGEM MÉDIA DA CONTRAÇÃO DAS FERIDAS.....	41
FIGURA 6 – FOTOS DAS LÂMINAS HISTOLOGICAS DOS TRATAMENTOS NOS TEMPOS D3, D7, D14 E D21.....	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – VALORES DETERMINADOS PARA A PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS.....36

TABELA 2 – VALORES MÉDIOS DAS ÁREAS DAS FERIDAS NOS 21 DIAS DE AVALIAÇÃO DO PROCESSO CICATRICIAL UTILIZANDO AS MEMBRANAS ELETROFIADAS.....40

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

MEV – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

UV – ULTRAVIOLETA

DNA – ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO

IL – INTERLEUCINA

TNF – FATOR DE NECROSE TUMORAL

TVA – TRANSMISSÃO DE VAPOR DE ÁGUA

LISTA DE SÍMBOLOS

MM – MICRÔMETRO

% – PORCENTAGEM

°C – GRAU CELSIUS

CM² – CENTÍMETRO QUADRADO

ML – MILILITRO

NM – NANÔMETRO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	OBJETIVOS DA PESQUISA.....	17
1.1.1	Objetivo geral.....	17
1.1.2	Objetivos específicos.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	FERIDAS CUTÂNEAS.....	18
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1.1	Análise de citotoxicidade.....	33
4	RESULTADOS.....	35
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
5.1	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55
	ANEXO	63

1 INTRODUÇÃO

As feridas cutâneas são consideradas um problema para a saúde pública, sendo que, cerca de 5% da população adulta necessita de cuidados relacionados a feridas. Estes podem envolver tratamentos complexos, cuidados em domicílio ou prolongado tempo de internação, o que gera custos elevados para os sistemas de saúde (Oliveira *et al.*, 2019).

Feridas cutâneas podem aparecer em qualquer etapa da vida, porém, alguns fatores intrínsecos e extrínsecos podem afetar o surgimento e os processos de cicatrização das feridas. Entre os fatores intrínsecos, os principais são a presença de patologias que possam causar ou dificultar a cicatrização das feridas, já os extrínsecos estão relacionados ao estado e condição de surgimento das feridas, além da forma de tratamento escolhida (Ribeiro *et al.*, 2019).

A maior incidência de feridas é em as pessoas idosas, comprometendo sua qualidade de vida, em grande parte, sendo classificadas como feridas crônicas, caso em que a cicatrização do tecido lesionado não ocorre de forma esperada, demorando semanas ou mesmo meses. Essas feridas crônicas são associadas principalmente a pacientes portadores de diabetes e insuficiência venosa, levando a complicações em média em 84% dos casos, podendo levar a amputação do membro acometido pela ferida (Rangel; Moreschi, 2020).

Entre os pacientes diabéticos, cerca de 15% a 25% provavelmente irão desenvolver feridas em algum momento, sendo mais comum conhecida como pé diabético, que é associada a complicações e contribui de forma significativa para a morbidade. Cerca de 20% a 40% destas feridas levam até 12 semanas para cicatrizar e 50% levam até 6 meses. Até 30% dos acometidos podem necessitar de intervenção cirúrgica levando a amputação (Stratmann *et al.*, 2020).

Outros fatores de risco para a formação de feridas podem ser o paciente acometido por doença arterial obstrutiva periférica e hipertensão arterial sistêmica que levam ao estreitamento das artérias reduzindo o fluxo sanguíneo nos membros inferiores; dislipidemia que aumenta a incidência de aterosclerose favorecendo o surgimento de feridas e isquemia; e o tabagismo que é relacionado a aterosclerose e formação de coágulos, que além de diminuir o fluxo sanguíneo pode prejudicar o processo de cicatrização (Maia *et al.*, 2019).

As lesões por pressão ocorrem em áreas que são submetidas a pressão por período prolongado, causado pela oclusão vascular podendo causar necrose celular, acomete principalmente em pacientes que permanecem em imobilização por longos períodos. Acomete em média 23% dos pacientes acamados em tratamento domiciliar e 9% dos pacientes internados, em unidades de terapia intensiva (UTI) os acometidos podem chegar a 50%, principalmente em pacientes com sensibilidade comprometida ou sedados (Bernardes; Jurado, 2018).

A presença de feridas, principalmente crônicas, reduzem muito a qualidade de vida do paciente acometido, afetando seu estilo de vida devido a diversos fatores como a dor recorrente e dificuldade na mobilidade, podendo levar a incapacidade para realizar trabalhos, diminuição da autoestima, isolamento social e depressão (Evangelista *et al.*, 2012).

Em estudos prévios, membranas de nanoquitosana com ácido hialurônico (Dal Ponte *et al.*, 2024), nanoquitosana com nanocelulose e tanino (Taffarel e Takahashi, 2023) e nanoquitosana com colágeno (Poltronieri e Silva, 2024) foram produzidas pelo método de eletrofiação e avaliadas quanto ao efeito cicatrizante em animais, em ensaios pré-clínicos.

Foi verificado que as membranas não apresentam efeito citotóxico, quando avaliadas *in vitro*. As características das membranas demonstraram-se propícias para utilização como curativos de coberturas, permitindo a passagem de vapor d'água, com nanofibras formadas de forma randomizada e com boa adesão sobre o leito das feridas.

Os resultados demonstraram um efeito cicatrizante superior estatisticamente significativo das membranas eletrofiadas em relação a curativos de referência utilizados como o hidrocloide e membrana de celulose bacteriana nos dias três, sete e quatorze do tratamento, realizado por 21 dias. A contração das feridas, especialmente nos primeiros dias, seguida de produção de tecido de granulação, reduz significativamente a chance de infecções, reduz a liberação de exsudato e consequentemente de odor desagradável, o que permite uma melhor qualidade de vida do paciente em tratamento.

Os ensaios pré-clínicos demonstraram ainda redução do processo inflamatório a partir do 7º dia de tratamento, com menor produção de IL-1, o que indica que o uso pode favorecer os pacientes por induzir a redução mais rápida da área das feridas.

De acordo com estudo realizado por Ruiz e Lima (2022), os custos para tratamento de feridas em uma região da Bahia-BR, levando-se em consideração os honorários dos profissionais de saúde e curativos simples, com atadura e fita microporosa são de aproximadamente R\$ 62,50. Todavia, levando-se em consideração curativos desenvolvidos com alguma tecnologia nos materiais/composição, os custos tendem a ser mais elevados.

Adicionalmente, é importante enfatizar que a nanoquitosana utilizada na produção das membranas é proveniente de carapaças de camarão que seriam descartadas. O uso destas permite a reutilização de uma matéria-prima de baixo custo e com propriedades importantes para a cicatrização de feridas. Como a base das membranas é a nanoquitosana com menor quantidade de ácido hialurônico, colágeno, nanocelulose tanino e produzida por uma técnica que exige equipamento de custo moderado, o valor das membranas, que são curativos funcionais além de cobertura, pode competir com outros curativos funcionais que já estão no mercado, apresentando custo menor.

Assim, as membranas eletrofiadas de nanoquitosana associadas a polímeros podem contribuir com a redução do custo de um tratamento eficaz, tornando as tecnologias de curativos mais acessíveis aos usuários e serviços de saúde, além de contribuir com questões ecológicas ao ser biodegradável e reutilizando descartes industriais em sua estrutura, conjunto de fatores que demonstram que seus benefícios vão muito além de suas propriedades cicatrizantes.

1.1 OBJETIVOS DA PESQUISA

1.1.1 Objetivo geral

Produzir e avaliar os efeitos de membranas eletrofiadas de nanoquitosana com curcumina, colágeno e ácido hialurônico no processo de cicatrização de feridas de pele em ensaio pré-clínico com ratos Wistar.

1.1.2 Objetivos específicos

- Produzir membranas de nanoquitosana com curcumina, nanoquitosana com curcumina e ácido hialurônico, nanoquitosana com curcumina e colágeno, nanoquitosana com curcumina, colágeno e ácido hialurônico;
- Caracterizar as membranas produzidas por meio de microscopia eletrônica de varredura;
- Avaliar a citotoxicidade *in vitro* das membranas produzidas;
- Avaliar a atividade antimicrobiana das membranas eletrofiadas;
- Avaliar o efeito das membranas na cicatrização de feridas de pele em ratos por meio de análises macro e microscópicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. *Pele*

A pele representa por volta de 15% do peso corporal do ser humano, sendo o maior órgão do corpo e tem como funções a proteção, termorregulação, percepção de ambiente, retenção de líquidos, resposta imunológica e é responsável pela produção de vitamina D (Eberhardt *et al.*, 2015).

Ela é formada por duas camadas, a derme e a epiderme, que servem como uma camada protetora contra temperaturas extremas, danos físicos, infecções e radiação ultravioleta. Em sua estrutura há a presença de células epiteliais, matriz extracelular, vasos sanguíneos e linfáticos e nervos (Vieira *et al.*, 2022).

A derme tem em sua constituição a presença de fibras de colágeno e elastina que tem as funções de fornecer resistência, sustentação e elasticidade à pele, características que variam de acordo com a idade do indivíduo. A epiderme é a camada mais externa da pele, é constituída pelo estrato córneo importante na proteção contra invasão de patógenos, além de evitar a perda de líquidos por via transdérmica, agindo como a barreira protetora da pele (Costa da Silva *et al.*, 2024).

A matriz extracelular (MEC) fornece uma organização e preenchimento tridimensional para as camadas mais externas da pele, sendo responsável pela sua arquitetura, suporte e por manter sua integralidade de acordo com a disposição das moléculas em sua composição. A MEC compõe a lâmina basal encontrada entre as células e o tecido conjuntivo, sendo responsável pela sustentação dos tecidos. Pode ajudar nos processos de diferenciação, migração e proliferação celular por suas propriedades bioquímicas, causando a estabilização de seu fenótipo e permite a passagem de fatores de crescimento, citocinas, hormônios, gases e nutrientes, permitindo que ocorram diversas cascatas de sinalização (Viadanna, 2023).

A MEC é composta por duas partes, a substância fundamental, composta por diversos tipos de glicoconjugados como glicosaminoglicanos (GAGs), proteoglicanos e glicoproteínas adesivas, além de água e íons, e o componente fibrilar, onde se encontram vários tipos de colágenos e de fibras elásticas (Góes, 2024).

A perda da integridade da pele representa risco a saúde, bem-estar e qualidade de vida dos indivíduos propiciando um ambiente favorável a desregulações

fisiológicas e agressão por agentes biológicos, químicos e físicos (Wang *et al.*, 2021).

2.1 Feridas cutâneas

As feridas são definidas como lesões ou quaisquer distúrbios que comprometam a integridade da pele e são causadas por fatores extrínsecos como cirurgia, traumas físicos, químicos ou mecânicos ou ainda de forma intrínseca, como consequência de condições patológicas, como diabetes ou doenças vasculares (Tottoli, 2020).

As feridas podem ser classificadas de acordo com o tempo de cicatrização, agente causal, infecção ou contaminação, comprometimento do tecido e o tipo de tecido lesionado (Queiroz; Tomaz; 2020).

Quanto ao tempo de existência, as feridas podem ser agudas, que se caracterizam por terem rápido início e normalmente curta duração, e não apresentam complicações em sua cicatrização, como é o caso das feridas cirúrgicas. E feridas crônicas, que são de longa duração, superior a 3 semanas e podem apresentar complicações em sua cicatrização, como o desenvolvimento de úlceras (Ramalho *et al.*, 2018).

Em relação ao agente causal, podem ser lesões cirúrgicas, que são causadas por objetos afiados, são feridas limpas e de fácil cicatrização. As lesões traumáticas podem ser causadas por vários tipos de agentes podendo ser mecânicos, como lesões lacerantes, que são causadas por rasgo ou tração, e tem suas bordas irregulares, perfurantes, que causam pequenas aberturas na pele e normalmente tem profundidade maior que a borda da lesão, e contusas, que são causadas por objetos sem ponta, dentro das lesões mecânicas também temos as lesões químicas, causadas por reagentes, ácidos ou cosméticos, e feridas físicas, causadas por calor, frio ou radiação (Pires *et al.*, 2023).

O grau de contaminação das feridas pode ser dividido em quatro tipos: feridas limpas, normalmente realizada em cirurgias, não apresentam contaminação ou falhas na assepsia, com bordas aproximadas e suturadas sem presença de inflamação. Feridas limpo-contaminadas, moderada contaminação em cirurgias no trato gastrointestinal, respiratório e urinário. Feridas contaminadas, recentes e traumáticas, com comprometimento da assepsia e normalmente apresentam microrganismos.

Feridas infectadas, antigas e traumáticas, com tecidos lesionados apresentando exsudato, normalmente apresentam aspecto purulento (Ramos, 2021). Um dos aspectos mais relevantes no cuidado e tratamento das feridas é a prevenção da transmissão de infecções, que causam grande impacto nos indivíduos acometidos (Oliveira *et al.*, 2016).

Quanto ao comprometimento as feridas podem ser com perda de tecido parcial ou superficiais, afetam apenas a epiderme, mas a derme permanece parcialmente, onde a cicatrização ocorre por migração ou proliferação epitelial, não havendo perda de função, e ferida com total perda de tecido ou profunda, a epiderme e derme são totalmente destruídas, podendo afetar tecidos subcutâneos, músculos e ossos (Cassilei, 2021).

3.2. Cicatrização

A cicatrização é um processo natural que ocorre para a regeneração dos tecidos cutâneos derme e epiderme. Imediatamente após o processo de lesão tecidual o processo de reparação é iniciado, com uma série de processos moleculares com o objetivo de recuperar o tecido lesionado, visando a restauração da integridade funcional e morfológica perdida (Ricco; Aquino Júnior, 2022; Rodrigues; Bezerra; Calçada, 2023). O processo de cicatrização pode ser dividido em etapas como processo inflamatório, proliferação e maturação ou remodelação (Paganela *et al.*, 2009).

A primeira resposta do organismo à ferida é o processo inflamatório pelo qual ocorre a liberação de substâncias responsáveis pela vasoconstrição local principalmente a tromboxana A₂ e prostaglandinas. Em seguida ocorre a agregação de plaquetas com início do processo de coagulação, com liberação de fatores como o fator de crescimento de transformação beta (TGF- β), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento derivado de fibroblastos (FGF) e fator de crescimento epidérmico (EGF), levando ao aumento da permeabilidade vascular e atração de neutrófilos ao local da ferida (Campos; Borges-Branco; Groth, 2007).

Além dos neutrófilos, macrófagos são atraídos para a região lesionada onde atuam na liberação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, IL6, TNF- α e IFN- γ que promovem a quimiotaxia celular além de liberarem fatores de crescimento que tem importante papel no término do desbridamento iniciado pelos neutrófilos, contribuem

na angiogênese, fibroplasia, produção da matriz celular e na diferenciação de monócitos em macrófagos (Colares *et al.*, 2019).

Em seguida ocorre a vasodilatação na região lesionada, aumentando o fluxo dos leucócitos, hemácias e proteínas plasmáticas no local. A fibrina se polimeriza formando uma estrutura que favorece a infiltração de células para as subseqüentes etapas da reparação tecidual (Silva *et al.*, 2019).

Na fase de proliferação se inicia algumas horas após o surgimento da ferida, na qual ocorre a migração de células epiteliais das bordas e de apêndices epidérmicos presentes no centro da ferida, que com a fibroplasia e angiogênese formam o tecido de granulação que tem como função a ocupação do tecido lesionado na ferida. Este processo leva cerca de quatro dias após o surgimento da ferida, com ação dos fibroblastos na produção de uma nova matriz celular e liberação de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), ocorre a angiogênese, com produção de vasos sanguíneos responsáveis pelo transporte de oxigênio necessário ao metabolismo local (Mendonça; Coutinho-neto, 2009).

O tecido de granulação produzido na fase proliferativa preenche totalmente a ferida em aproximadamente 10 dias, com capilares totalmente formados. Nesta fase o tecido começa a ser enriquecido com novas fibras de colágeno, surgindo as primeiras fibras de colágeno tipo 1. A ferida começa a ter o aspecto característico de uma cicatriz, porém, o processo de maturação e remodelagem pode levar vários meses, ou anos dependendo do tipo de ferida, e após finalizado o processo a cicatriz cutânea tem em média 70% da resistência da pele (Balbino; Pereira; Curi, 2005).

No caso especialmente de indivíduos com comorbidades, como diabetes, hipertensão arterial sistêmica, insuficiência venosa e em idosos, esse processo natural de cicatrização não ocorre de forma satisfatória, pois ocorre inflamação persistente, interrupção da migração de queratinócitos e sinalização e/ou expressão desregulada de microRNAs específicos em decorrência da doença, o que leva a permanência das lesões, ou seja, provoca as feridas crônicas (Eming; Martin; Tomic-Canic, 2014).

Atualmente, a cicatrização de feridas eficaz e de qualidade representa um importante desafio para a clínica médica, bem como para pesquisadores e incorre em custos consideráveis. Isto pode ser substanciado pelo crescente mercado global de produtos para o tratamento de feridas, que foi de cerca de 12 mil milhões de dólares em 2020 e deverá atingir 18,7 mil milhões de dólares até 2027 (Tottoli, 2020). Além

disso, o tratamento de feridas agudas e crônicas está associado ao grande uso de antibióticos locais e sistêmicos, colaborando para a alta prevalência de infecções multirresistentes, o que por sua vez, impacta em um alto custo de aproximadamente R\$ 96,8 bilhões com hospitalizações no Brasil (Barbosa *et al.*, 2023).

Nesse contexto, devido ao aumento da prevalência de feridas e seu impacto no tratamento de alto custo, se faz necessário o uso de promotores de cicatrização de feridas eficazes, seguros e acessíveis (Naseri *et al.*, 2021). O uso de curativos é uma das alternativas de tratamento e, ao longo dos anos, uma grande variedade de materiais tem sido utilizada como agentes protetores em lesões cutâneas. Desse modo, vários estudos têm buscado o desenvolvimento de curativos que auxiliem no processo de cicatrização de feridas de pele (Claro *et al.*, 2020).

3.3. Curativos

Os curativos são compostos por materiais que são aplicados sobre o local ferido para sua proteção como também a absorção e drenagem dos exsudatos liberados, com o objetivo de melhorar a cicatrização da ferida. Os materiais empregados nos curativos podem diferir de acordo com a etapa do tratamento, como também de acordo com os tipos de feridas e podendo agir sobre a ferida de diversas formas (Smaniotto *et al.*, 2010).

Tratamentos que visam acelerar a reparação tecidual após feridas tem sido um grande objetivo para profissionais da área da saúde. Hoje há mais de três mil diferentes tipos de curativos sendo comercializados, sendo que idealmente, o curativo deve contribuir para que seja mantida a umidade da ferida, melhorar a proliferação do tecido epidérmico, favorecer a angiogênese, ser permeável a gases do ambiente, garantir o fluxo sanguíneo e manter a temperatura do local, além de promover proteção antibacteriana, sem apresentar agentes alérgicos e tóxicos (Dias *et al.*, 2021).

Existem vários tipos de curativos disponíveis no mercado, e escolhê-los depende de conhecimentos sobre o tipo de ferida a ser tratado, como profundidade, extensão, localização, agente de causa, presença de infecção, idade do paciente e outros fatores que possam interferir no processo de cicatrização. Idealmente, os curativos devem evitar a proliferação de microrganismos, manter a umidade local,

possuir baixa toxicidade e além de outros fatores, deve ter uma ação veloz e eficaz (Nogueira *et al.*, 2022).

Os curativos tradicionais como gazes, bandagens e algodão, tem uma menor eficácia em estancar sangramentos, apresentam facilidade na contaminação e precisam ser substituídos com maior frequência que curativos modernos, em casos de contato prolongado com a ferida, podem se aderir ao tecido, levando a dificuldade na remoção destes curativos, além do risco de causar uma lesão secundária (Zhong *et al.*, 2024).

Dos diversos tipos de curativos, podemos citar os desenvolvidos para controle local da ferida, como espumas que absorvem exsudato, hidrocoloides, que tem como objetivo manter a hidratação e hidrogéis, que visam a doação de fluidos à ferida, todos com usos específicos para favorecer a reparação tecidual (Vieira *et al.*, 2018).

Hidrocoloides são curativos compostos por substâncias como a carboximetilcelulose, gelatina e pectina, que formam um gel úmido ao entrarem em contato com o exsudato da ferida, o que favorece o desbridamento autolítico da ferida, acelerando a cicatrização por colaborar na retirada de tecido necrótico. São indicados em casos de feridas levemente exsudativas por proporcionar barreira contra a adesão de microrganismos e facilitar a troca entre curativos, além de minimizar a possibilidade de traumas nas trocas de curativos, pois a sua adesividade natural elimina a necessidade da utilização de outros tipos de adesivos (Pereira; Bartolo, 2018).

Hidrogéis são compostos por redes tridimensionais macromoleculares que tem a função de reter grandes quantidades de líquidos, e apresenta diversas funções na aplicação em feridas complexas. Apresentam grande biocompatibilidade, propriedades fisicoquímicas ajustáveis, previnem sangramento, podem liberar fármacos e células, barreira contra aderência bacteriana e mantem o ambiente úmido para a cicatrização, além de ser biodegradável (Zeng *et al.*, 2022).

Curativos de alginato de cálcio são derivados de algas marinhas que ao entrarem em contato com o exsudato da ferida formam um meio gelatinoso, o que mantem o ambiente úmido e favorece a cicatrização, por serem altamente absorventes, são indicados para feridas exsudativas apresentam também propriedades hemostáticas e podem ser utilizados em casos com leves sangramentos. Necessitam de uma cobertura secundária pois não são autoaderentes e não são recomendados para feridas secas pois podem causar o ressecamento do leito da ferida (Sweeney *et al.*, 2018).

Espumas de poliuretano são estruturas altamente absorventes, indicados para feridas com exsudação moderada a alta, sua estrutura é porosa, o que favorece a troca gasosa da ferida com o ambiente, reduzindo riscos de maceração e promove a conservação da temperatura adequada. É um material não aderente que pode ser usado sob compressão e tem grande proteção contra traumas mecânicos, há variações fabricadas com bordas adesivas, que favorece a facilidade na aplicação, mas deve ser evitado em pacientes com peles sensíveis (Dabiri *et al.*, 2020).

Filmes transparentes semipermeáveis permitem que a ferida seja monitorada sem que haja a necessidade de remoção do curativo em uso, formam barreiras contra a adesão bacteriana e são impermeáveis a líquidos, apesar de permitir a transpiração. Tem leve adesividade ao tecido em pele íntegra e não possuiu propriedades absorventes, o que os torna indicados em casos com mínima exsudação. Podem ser aplicados como “segunda pele”, com um tempo de uso de até sete dias (Mogoşanu; Grumezescu, 2014).

Curativos com colágeno imitam a matriz extracelular humana, o que causa o estímulo de fibroblastos e a síntese de novo colágeno, normalmente derivados de fontes animais. Podem ser aplicados a feridas crônicas e queimaduras pois reduzem a inflamação e aceleram a granulação. Podem ser associados a outros materiais, sendo na forma de matrizes porosas para cavidade e liofilizados para feridas secas (Chattopadhyay; Raines; Glick, 2014).

Curativos com membrana amniótica contém fatores de crescimento como o EGF e TGF- β , além de proteínas anti-inflamatórias que ajudam a aliviar a dor e promovem a epitelização da ferida, normalmente é utilizado em queimaduras graves, feridas refratárias e úlceras de córnea. Apresenta propriedade antifibrótica o que impede o surgimento de cicatrizes hipertróficas, sendo muito utilizada em locais esteticamente sensíveis como face e mãos. Suas principais limitações são o alto custo e a necessidade de bancos de tecidos devidamente certificados (Niknejad *et al.*, 2018).

Há também curativos com o objetivo de controlar a população bacteriana e evitar infecções da ferida, como os curativos com prata, os íons de prata (Ag^+) fazem ligação com o DNA dos esporos bacterianos e bactérias reduzindo sua capacidade de replicação. A diferença entre os vários curativos com prata existente normalmente está na liberação dos íons, sendo a principal forma a oxidação da prata quando em contato com os fluidos da ferida (Silva Leite; Senna Araújo Brito, 2021).

Curativos com íons de prata possuem ação bactericida contra microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, sendo indicados principalmente em casos de alto risco de infecção da ferida, mas também podem ser usados em feridas já infectadas. Podem ser associados a curativos de espumas, hidrocoloides e alginatos para que sua função seja potencializada. Apesar de eficaz como bactericida, seu uso prolongado pode causar resistência bacteriana e citotoxicidade celular (Leaper *et al.*, 2019).

Podem ser utilizados também princípios ativos que visem a degradação do tecido desvitalizado da ferida, como curativos com collagenase, ácidos graxos essenciais que aceleram a granulação tecidual e promove angiogênese e o carvão ativado que além de agir na absorção do exsudato ajuda a eliminar odores provenientes de infecções na ferida (Franco; Gonçalves, 2008).

O carvão ativado é muito utilizado em curativos para feridas infectadas, com presença de toxinas e odor fétido devido a sua capacidade de adsorção, age na captura de moléculas voláteis que são responsáveis pelo mau cheiro exalado pelas feridas infectadas. A estrutura porosa do carvão ativado favorece a manutenção da umidade da ferida, o que favorece a cicatrização. Não é recomendado em feridas secas ou com exsudação leve pois pode causar o ressecamento da ferida (Lee *et al.*, 2019).

Os princípios podem ser também combinados em um único curativo para que haja a potencialização de seus efeitos, como o carvão ativado ou hidrogéis em associação com a prata para que haja o controle local em conjunto com o controle bacteriano da ferida, além ativos com funções específicas para cada tipo de ferida a ser tratado (Nogueira *et al.*, 2022).

O curativo ideal deve também apresentar biocompatibilidade cutânea, não toxicidade, boa aderência ao tecido e ser biodegradável. A quitosana apresenta tais propriedades, se mostrando um biopolímero altamente versátil na utilização em curativos, possui atividade antimicrobiana e proporciona uma maior síntese de colágeno, e além de seus benefícios, apresenta também uma ótima relação de custo-benefício (Queiroz; Tomaz, 2021).

A forma de produção dos curativos também pode ser diferente, dependendo do tipo de material utilizado e a finalidade. O processo de eletrofiação utiliza um campo elétrico que controla a formação e deposição de materiais poliméricos de forma muito eficiente, além de ser um método de baixo custo. O método produz fibras com grande

semelhança à matriz extracelular, que além de fornecer ótimo suporte para adesão celular, apresenta um excelente ambiente para a proliferação celular (Nunes; Oliveira, 2023).

As nanofibras surgem como um promissor método para a produção de curativos inteligentes, tendo a capacidade de imitar o ambiente extracelular, o que oferece suporte estrutural as feridas e servindo como guia para a cicatrização tecidual (Datta *et al.*, 2025).

As membranas eletrofiadas fibrosas podem também ter importante utilização nos casos em que seria necessária a aplicação de substruções alogênicas de tecidos humanos ou outros tipos de substitutos xenogênicos, podendo imitar a estrutura do tecido humano, facilitando o crescimento celular aderido à estrutura da membrana biopolimérica, podendo assim ser utilizado como um substituto da pele humana no processo de cicatrização (Husain *et al.*, 2024).

Além dos materiais para curativos, as pesquisas sobre cicatrização abrangem uma variedade enorme de tecnologias que podem ser utilizadas no desenvolvimento de curativos inteligentes, como biomateriais, compostos antibacterianos, fatores de crescimento, biossensores entre outros compostos (Bhar *et al.*, 2021).

As membranas obtidas pelo processo de eletrofiação permite a incorporação de outros polímeros e fármacos com propriedades terapêuticas com diversas funções auxiliares a cicatrização, promovendo a cobertura e proteção da ferida, evitando o surgimento de cicatrizes e permitindo uma troca eficiente de ar e água com o ambiente, o que promove um ambiente microestável para a recuperação da ferida (Wen *et al.*, 2024).

A manutenção do ambiente úmido na ferida mostrou uma aceleração na cicatrização. Pesquisas com curativos avançados, mostrou que as superfícies secas em curativos causam a formação de crostas, o que causa dor, dificulta a regeneração tecidual e favorecem o surgimento de cicatrizes (Bentcherif *et al.*, 2019).

Materiais como o oxido de zinco, prata, cobre, ouro e vidro bioativo, que apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes e promotoras da angiogênese, podem ser incorporados as membranas eletrofiadas, aplicadas contra biofilmes formados em feridas crônicas, mostraram eficiência no controle de microrganismos como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Dikici *et al.*, 2017).

Membranas eletrofiadas são candidatas ideias para curativos de feridas devido às suas propriedades estruturais, como elevada área de superfície em relação ao

volume, a porosidade e a semelhança estrutural com a matriz extracelular (Reshmi *et al.*, 2018). Esta última característica, em especial, leva a um aumento da adesão, proliferação e migração as células e à formação de novos tecidos (Norouzi *et al.*, 2015). Apesar de porosa, as membranas eletrofiadas não são mais susceptíveis à penetração de microrganismos nem a perda excessiva de água, pois, esses poros são suficientemente pequenos para evitar a passagem de microrganismos bem como a desidratação, prevalecendo o efeito benéfico da permeabilidade ao ar (Tort *et al.*, 2017).

Além disso, a eletrofiação permite a combinação de diferentes tipos de polímeros que podem ser naturais ou sintéticos. Os polímeros naturais apresentam vantagens que incluem segurança, compatibilidade com o corpo humano, capacidade de se decompor naturalmente, habilidade de aderir à pele, e propriedades que ajudam a parar sangramentos e a combater microrganismos (Aycan *et al.*, 2019). Alguns também manifestam propriedades antimicrobianas ou anti-inflamatórias, como a quitosana. Assim, proteínas naturais e polissacarídeos têm recebido maior interesse na produção de curativos, devido à sua semelhança com macromoléculas, que são reconhecidas pelo corpo humano, alcançando a biomimética da Matriz extra-celular (MEC) (Yue, 2014).

Verifica-se que desenvolver novas tecnologias para melhorar o processo de cicatrização representa um desafio importante de saúde atualmente (Frykbergrobert *et al.*, 2015). Avanços significativos têm sido feitos com o uso de biopolímeros eletrofiados, que se destacam em aplicações na engenharia de tecidos e no tratamento de feridas. Esses polímeros, que são biodegradáveis e biocompatíveis, geralmente de origem natural, são os principais candidatos devido às suas propriedades favoráveis. Além disso, trata-se de uma técnica ser altamente reprodutível, pode ser escalada para produção industrial, o que a torna especialmente promissora para futuras inovações no campo (Tottoli *et al.*, 2020). Dessa forma, a eletrofiação de biopolímeros pode desempenhar um papel crucial no desenvolvimento de soluções avançadas para cicatrização de feridas e regeneração de tecidos.

3.4. *Curativos a base de polímeros naturais*

Alguns polímeros naturais como fibrinogênio, elastina, colágeno e quitosana podem ser biocompatíveis com o tecido humano, sendo estes, materiais que podem

ser usados para a criação de curativos funcionais que tem também a função de serem carreadoras de princípios ativos ao local lesionado, acelerando os processos de cicatrização das feridas (Mogoşanu; Grumezescu, 2014).

Entre esses polímeros naturais, destaca-se a quitosana como um dos ligantes mais comuns utilizados na cicatrização de feridas devido a propriedades antimicrobianas e elevada versatilidade funcional (Garcia-Orue *et al.*, 2018). A curcumina e o colágeno emerge atualmente como biopolímero importante para cicatrização devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas e antioxidantes (Sarkar *et al.*, 2018; Sharma *et al.*, 2014).

A quitosana é um polissacarídeo obtido pela desacetilação da quitina, retirada do exoesqueleto de crustáceos que são subprodutos das indústrias pesqueiras, sendo o biopolímero mais abundante depois da celulose. É um importante objeto de pesquisa devido a algumas de suas propriedades como a biocompatibilidade com tecido, além de não apresentar toxicidade e ter propriedades antioxidantes e antimicrobianas (Matica *et al.*, 2019).

Se apresenta na forma de biopolímero hidrofílico, composto por N-acetilglucosamina, apresentando estrutura semelhante aos glicosaminoglicanos. Na área médica, a sua aplicabilidade se dá ao fato a sua alta afinidade com o tecido biológico, podendo estimular o desenvolvimento de células de reparação na matriz extracelular (Rosendo *et al.*, 2020).

É solúvel em meios ácidos com pH inferior a 6,5, sendo os ácidos comumente utilizados o ácido acético, fórmico e ascórbico. Sua solubilização é possível nestes meios a partir da absorção de um íon de hidrogênio pelos radicais amina presentes na quitosana, se transformando em uma molécula protonada NH_3^+ , esta molécula é a responsável por polarizar a cadeia polimérica e permitir sua solubilização. Quando carregada positivamente sua bioatividade é aumentada, tornando-a mucoadesiva e promovendo a interação com moléculas como proteínas, DNA, alginatos, heparina e ácido hialurônico (Filho *et al.*, 2020).

A quitosana pode ser utilizada como o principal componente de membranas biopoliméricas, mas também podem ser associadas com diversos outros polímeros com o objetivo de potencializar os benefícios em sua utilização. Diferentes associações já foram avaliadas, demonstrando um aumento na eficácia do curativo de quitosana na cicatrização de feridas (Barros; Lima; Bunhak *et al.*, 2022).

A nanoquitosana, derivado nanométrico da quitosana, apresenta menor toxicidade, maior biodegradabilidade e maior solubilidade, propriedades as quais estão diretamente relacionadas ao seu peso molecular (Mohammed *et al.*, 2017). Além disso, a nanoquitosana é dotada de características favoráveis tanto das nanopartículas, quanto da sua base de quitosana, possuindo assim um potencial antibacteriano reforçado (Rashki *et al.*, 2021).

O ácido hialurônico é um polissacarídeo linear, com massa molar elevada, pertence à família dos glicosaminoglicanos, contém unidades dissacarídicas de ácido D-glicurônico e N-acetilglicosamina e se destaca no tratamento de lesões da derme e epiderme. É constituído por derivados da matriz extracelular e apresenta características desejadas em materiais para cobertura de lesões como biocompatibilidade, não causa reações imunológicas, é um material biodegradável, podendo ser utilizado no tratamento de doenças inflamatórias e degenerativas articulares, para reposição de líquido sinovial, cirurgias oftalmológicas e reconstrução de tecidos (Dalmedico *et al.*, 2016).

No tratamento de feridas cutâneas, o ácido hialurônico favorece a retenção de líquidos no local aplicado, o que fornece um meio adequado para a síntese de elastinas e colágenos, favorece a proliferação celular acelerando o processo de cicatrização, além de possuir efeitos antibacterianos e anti-inflamatórios (Araujo *et al.*, 2021).

A aplicação de ácido hialurônico é utilizada em vários tipos de lesões, e sua utilização apresenta tempo de cicatrização acelerado em comparação a outros tipos de curativos (Silva *et al.*, 2022). A associação da quitosana com o ácido hialurônico demonstra uma maior proliferação celular no tecido e uma maior atividade celular, apresentando melhores resultados que as substâncias desassociadas (Vieira Souza; Malmonge; Santos Jr, 2019).

A curcumina é extraída da espécie *Curcuma longa* L., uma especiaria culinária muito comum, é encontrada no caule subterrâneo da planta, apresenta coloração amarela e é rica em polifenóis (Seroli, 2020). Apesar de sua baixa solubilidade em água, a curcumina demonstra uma rápida degradação e metabolização em outros compostos e apresenta baixa biodisponibilidade no organismo quando consumida de forma oral (Silva, 2025).

Os extratos brutos da cúrcuma longa apresentam cerca de 60 a 70% de curcumina, contendo outros dois compostos presentes na planta, sendo a

demetoxicurcumina e a bisdesmetoxicurcumina. A curcumina é uma molécula simétrica e apresenta em sua composição dois anéis aromáticos que são unidos por uma cadeia de sete carbonos e tem em sua estrutura grupos metóxi e hidroxila (Teixeira, 2022).

A curcumina apresenta a capacidade de interagir com moléculas mediadoras inflamatórias, pode capturar radicais livres liberados em processos de peroxidação como o superóxido, dióxido, nitrogênio, oxigênio singlete e hidroxilo (Carriço, 2021). A partir de suas propriedades, a curcumina apresenta efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, o que lhe confere um grande potencial na cicatrização tecidual (Sales, 2024).

O colágeno está presente em grande quantidade na matriz extracelular, se caracteriza como uma proteína fibrosa. Está presente em cartilagens, tendões, ossos e na pele, desempenhando regulamentação celular e servindo de suporte para a estrutura de órgãos e da pele, consistindo em cerca de 20 a 30% de todas as proteínas do corpo (Modolon, 2024). Curativos associados ao colágeno apresentam praticidade na sua aplicação, demonstrando alta disponibilidade (Pinto *et al.*, 2017).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.5. Preparo das soluções

A nanoquitosana utilizada para a produção das membranas eletrofiadas foi sintetizada pelo Laboratório de Materiais e Energias Renováveis (LABMATER) da Universidade Federal do Paraná - Setor Palotina utilizando procedimentos descritos e protegidos por meio da patente BR102017022250 (Alves *et al.*, 2017).

Para a produção das membranas pelo processo de eletrofiação, foram utilizadas soluções de nanoquitosana a 4% (m/v) diluídas em ácido acético (Êxodo científica), acrescidas de 1% (m/m) de curcumina, 2% (m/v) colágeno (Verisol®) e 0,1% (m/m) de ácido hialurônico (Florata). As misturas das soluções foram realizadas em temperatura ambiente, valendo-se de um agitador magnético, durante um período de 24 horas a fim de assegurar a completa dissolução dos solutos e, assim, uma solução homogênea. Logo após as soluções foram submetidas ao processo de eletrofiação.

3.6. Eletrofiação das membranas

A eletrofiação foi realizada com voltagem de 20kV, 12 cm de distância entre o tubo capilar de onde os polímeros foram liberados e o coletor e fluxo de 2,0 mL.h⁻¹ (adaptado de Guellis *et al.*, 2021).

3.7. Esterilização

As membranas eletrofiadas foram submetidas a esterilização em luz UV em capela microbiológica pela exposição superficial das duas faces por 20 minutos cada.

3.8. Caracterização das nanofibras

3.8.1. Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia da superfície das nanofibras foram caracterizadas utilizando a microscopia eletrônica de varredura (MEV). Antes da observação por microscopia, uma pequena amostra de cada membrana eletrofiada foi submetida à vácuo e pulverizadas com partículas de ouro, em aparelho Denton Vacuum. Em seguida foram analisadas em microscópio eletrônico, modelo Tescan Vega 3. As amostras foram visualizadas em uma ampliação de 50.000 vezes (5m) em relação ao seu tamanho original para que fosse possível avaliar visualmente a eletrofiabilidade das membranas. Além disso, foi possível determinar o diâmetro médio das fibras obtidas utilizando o software de processamento de imagens VEGA ao microscópio.

3.8.1.1. Análise de transmissão de vapor d'água (WVT)

A taxa de transmissão de vapor de água foi determinada seguindo a norma ASTM E96/E96M-16 adaptada. No prato de teste padrão ASTM, 4 mL de água destilada foram adicionados e selados com a membrana de teste. A placa foi mantida em pote hermeticamente fechado contendo sílica gel e colocada em estufa a 32°C. O conjunto contendo a solução tampão e a placa teste de membrana foram pesados periodicamente por um período de 24 horas, obtendo-se um total de nove pontos. O WVT foi calculado por meio da equação ($WVT = \Delta W / \Delta t \cdot A$), onde ΔW é a quantidade de água perdida em função do tempo, A é a área da membrana em m² e $(\Delta W / \Delta t)$ é o coeficiente valor angular obtido por regressão linear (Ruiz-Cardona *et al.*, 1996).

3.8.2. Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana das membranas eletrofiadas foi realizada por meio do teste de difusão, em triplicata, contra a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538. Nestes testes, a bactéria foi incubada em meio Mueller Hinton (MH) a 35±2°C durante 24 horas. Em seguida, a suspensão bacteriana foi ajustada para uma concentração de 1,5x10⁸ células por mL. Foram inoculados 100 µL da suspensão bacteriana em placas de Petri contendo ágar MH e, logo após, espalhamento com alça de Drigalsky. Posteriormente, foram adicionados quatro fragmentos de membrana de 6 mm de diâmetro, equidistantes, sobre o meio de cultura com *S. aureus*. Ademais, foi realizado o controle negativo, contendo discos de papel filtro embebidos de água destilada esterilizada e um controle positivo com antibiótico

levofloxacin em uma dose de 5 µg em cada disco. As placas com os discos foram incubadas a 35±2°C por 24 horas. A atividade antimicrobiana foi determinada pela formação e medida de halos de inibição, conforme adaptado de Souza *et al.*, (2004). O diâmetro dos halos de inibição foi comparado com tabelas padronizadas para antibióticos reconhecidamente eficazes contra *S. aureus*, a fim de avaliar se as membranas possuem atividade antimicrobiana.

3.1.1 Análise de citotoxicidade

A citotoxicidade das membranas eletrofiadas foi avaliada em linhagem celular de fibroblasto L929, utilizando o kit CyQUANT MTT Cell Viability Assay Protocol (Invitrogen), empregando o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT).

A linhagem de células foi cultivada em frascos de cultura celular (25 cm²) contendo meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), suplementado com 60µg/mL de penicilina/estreptomicina. As células foram mantidas em uma estufa a 37°C e 5% CO₂.

Foram semeadas de 10⁴–10⁵ células/poço de uma placa de 96 poços, em 100 µL de meio de cultura celular DMEM com fragmentos de 5 mm de diâmetro das membranas eletrofiadas. As placas foram incubadas em incubadora de CO₂ por 24 horas. Posteriormente foi adicionado 1 mL de PBS a um frasco do Componente A para obter uma solução estoque de MTT 12 mM. A solução foi agitada em vórtex até dissolver. Foram adicionados 10 mL de HCl 0,01 M a um tubo de SDS (Componente B) e misturado por inversão até o SDS dissolver. Em seguida as células foram lavadas removendo o meio e substituindo-o por 100 µL de meio fresco e adicionado 10 µL da solução estoque de MTT a cada poço. A placa foi então incubada a 37°C por 4 horas em uma incubadora de CO₂ a 37°C. Após o tempo de incubação foram adicionados 100 µL da solução de SDS-HCl a cada poço e a placa foi novamente incubada a 37°C por 4 horas em uma incubadora de CO₂ a 37°C. As amostras foram então misturadas, pipetando para cima e para baixo e a absorbância lida em leitor de placas a 570 nm.

A viabilidade celular foi determinada pela fórmula: Viab. % = $\frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{meio}}} \times 100$. Os dados resultantes do teste de citotoxicidade foram analisados pela análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey (p < 0,05). A viabilidade celular menor que 70% indica potencial citotóxico (ISO 10993-5, 2009).

3.9. Potencial Cicatrizante em animais

O projeto foi primeiramente submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná (CEUA) - Setor Curitiba e foi aprovado sob certificado nº1646. O protocolo de testes dos curativos *in vivo* foi adaptado de Gaissler et al. (2021).

O delineamento do experimento foi em blocos. Foram utilizados ratos Wistar com 90 a 120 dias de vida, independente do sexo, distribuídos aleatoriamente entre cinco grupos experimentais: 1. Nanoqitosana com curcumina (NCur), 2. Nanoqitosana com curcumina e ácido hialurônico (NCurAH), 3. Nanoqitosana com curcumina e colágeno (NCurCol) e 4. Nanoqitosana com curcumina, colágeno e ácido hialurônico (NCurColAH) de 24 animais cada, totalizando 120 animais. Os ratos foram mantidos em grupos de quatro animais do mesmo sexo em cada caixa de propileno com dimensões de 41x33x16cm, normalmente utilizadas no alojamento de ratos.

Os animais tiveram ração paletizada e água *ad libitum* e a maravalha foi trocada a cada três dias. Os animais foram mantidos a uma temperatura de 22°C, no ciclo claro/escuro de 12 horas. Foi realizado manejo durante 15 dias antes do início do experimento.

No dia denominado como “zero”, os animais foram submetidos à realização da ferida cirúrgica. Para tanto, cada animal foi pesado em balança digital e, então, receberam, diazepam (2mg/Kg, IP). Após 10 minutos, foi realizada indução e manutenção anestésica com isoflurano diluído em 100% de oxigênio.

Após a realização da tricotomia de 3x3 cm na região dorsal dos animais a cerca de 1,5 cm abaixo da base do pescoço, foi realizada a antissepsia com povidin tópico, foi aplicado lidocaína SC a uma dose de 5 mg/Kg e, então, foi realizada uma ferida de pele de 2 cm de diâmetro com o uso de bisturi e a pele foi removida completamente na região da ferida, a ferida foi limpa com NaCl 0,9% e os animais receberam tratamento tópico.

Em seguida, cada animal recebeu administração única de cefalotina (60mg/Kg,SC) e de meloxicam (2,0mg/Kg, SC) e foi devolvido à caixa de 17 polipropileno. A limpeza com NaCl 0,9% e a administração tópica das membranas em

teste foi realizada a cada sete dias de tratamento, após o desbridamento da ferida, até sua cicatrização completa.

No 3º, 7º, 14º e 21º dias (D3, D7, D14, D21), seis animais de cada grupo foram aleatoriamente removidos da caixa, avaliação visual das lesões e estes, então, foram submetidos à eutanásia com overdose de isoflurano para avaliação do processo de cicatrização.

3.9.1. Avaliação Macroscópica

Imediatamente após a confirmação da morte do animal, foi verificada a presença de edema, crosta, exsudato. Ademais, foram tiradas fotos de cada lesão, com o auxílio de um tripé e as imagens foram avaliadas posteriormente no software ImageJ® para a determinação da área das feridas. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando o software Jasp para se determinar se os tratamentos tiveram resultado estatisticamente significativo de redução da área das lesões em cada tempo analisado em relação aos controles.

3.9.2. Avaliação Microscópica

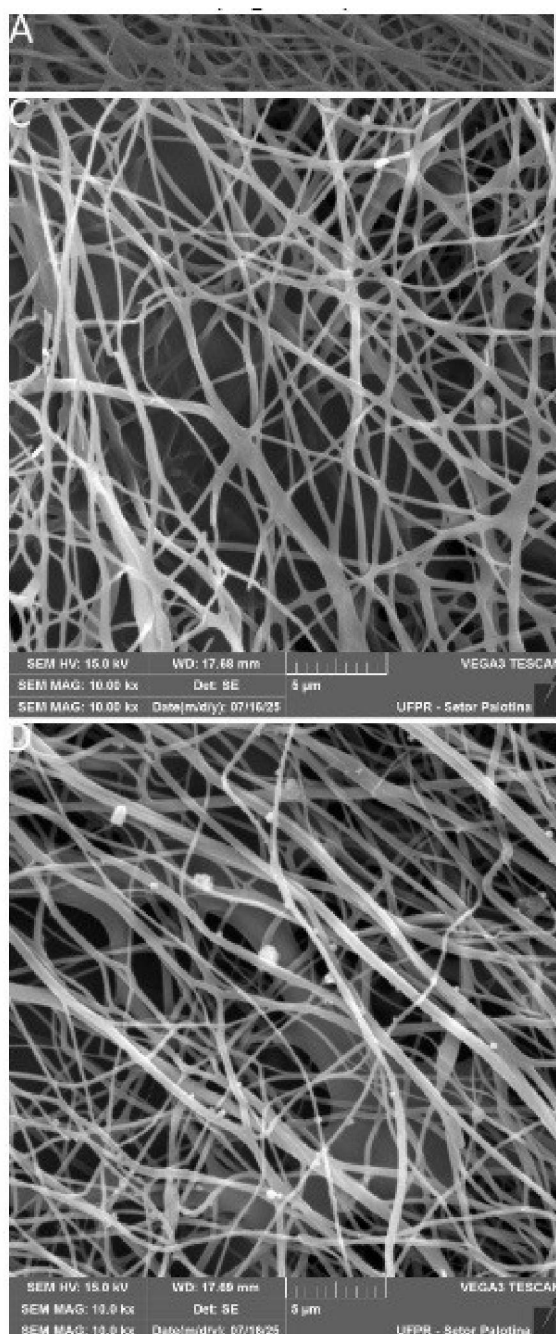
Após a eutanásia, foi retirado um fragmento de pele, subcutâneo e musculatura da região lesionada e armazenando em 30 mL de formol tamponado (proporção: 0,6 mg de fosfato de sódio dibásico; 0,4 mg de fosfato de sódio monobásico; 10 mL formol; 90 mL de água destilada) para avaliação histopatológica.

As amostras foram cortadas em 5 mm e coradas com hematoxilina-eosina (HE) para posterior leitura em microscopia óptica (Schmitz *et al.*, 2010).

4 RESULTADOS

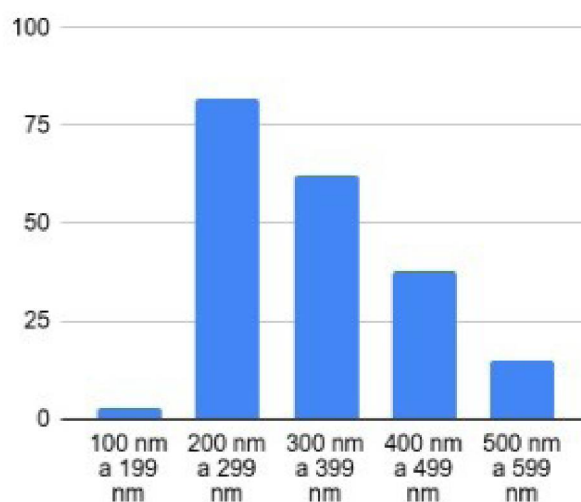
4.1. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As membranas obtidas por eletrofiação foram caracterizadas utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens obtidas foram analisadas com e o diâmetro das fibras foi determinado pela medição de 200 fibras de cada membrana, possibilitando a análise da distribuição do diâmetro das fibras e sua uniformidade (Figura 1).



Diâmetro das fibras NCur

Diâmetro das fibras NCurCol



Diâmetro das fibras NCurColAH

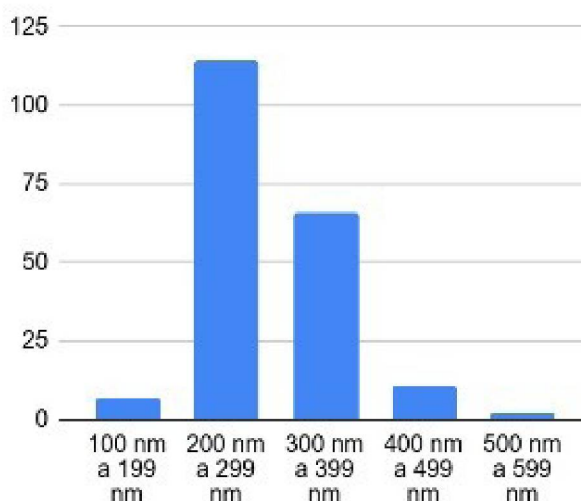


FIGURA 1: Fibras eletrofiadas das membranas eletrofiadas observadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e diâmetros das fibras. Ampliação de 10.000x. a) Nanoquitosana e Curcumina (NCur); b) Nanoquitosana, curcumina e ácido hialurônico (NCurAH); c) Nanoquitosana, curcumina e colágeno (NCurCol) e d) Nanoquitosana, curcumina, colágeno e ácido hialurônico (NCurColAH).

É possível observar que as membranas apresentam uniformidade na disposição de suas fibras, que se dispõem de forma entrelaçada e ramificada. Pode-se observar que as membranas de NCurColAH apresentaram uma deposição de pequenas partículas sobre as fibras, que pode ser pela presença da quantidade de polímeros utilizados.

Os gráficos acima mostram a distribuição dos diâmetros das fibras eletrofiadas de cada tipo de membrana em estudo. De acordo com os gráficos é possível observar que a variação do diâmetro das fibras das membranas foi de 145 a 598 nm, sendo que as fibras das membranas NCur mostraram uma média de 290 ± 10 nm, as de NCurAH obtiveram uma média de 310 ± 110 nm, de NCurCol média de 330 ± 90 nm e as de NCurColAH mostraram uma média de 290 ± 80 nm.

É possível observar que com exceção das membranas de NCurCol não houve uma diferença entre o diâmetro médio e distribuição das fibras, nesta membrana as fibras mostraram um diâmetro médio ligeiramente maior que as demais membranas.

4.2. Transmissão de vapor d'água

Para que o processo cicatricial ocorra de forma adequada uma das condições é de que o leito da ferida mantenha umidade, porém realize trocas gasosas com o meio, ou seja, que o curativo permita a transpiração. Em relação a análise de transmissão de vapor d'água ou permeação, os resultados encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1: Valores determinados para a permeabilidade ao vapor de água das membranas eletrofiadas.

Amostra*	Permeabilidade (g/m ² .dia ⁻¹)
NCur	1123,25±22,47 a
NCurAH	1139,28±18,92 a
NCurCol	1140,46±29,37 a
NCurColAH	1169,11±14,92 a

*NCur – membrana eletrofiadas de nanoquitosana e curcumina, NCurAH– membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e ácido hialurônico, NCurCol – membrana eletrofiadas de nanoquitosana,

curcumina e colágeno e NCurColAH – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina, colágeno e ácido hialurônico.

4.3. Atividade antimicrobiana

Os testes de atividade antimicrobiana demonstraram resultados negativos para a inibição de crescimento microbiano em placa por meio de disco-difusão, o que pode ser observado pela ausência do halo de inibição em torno das membranas dos tratamentos, como visualizado no controle positivo realizado com antibiótico (Figura 3).

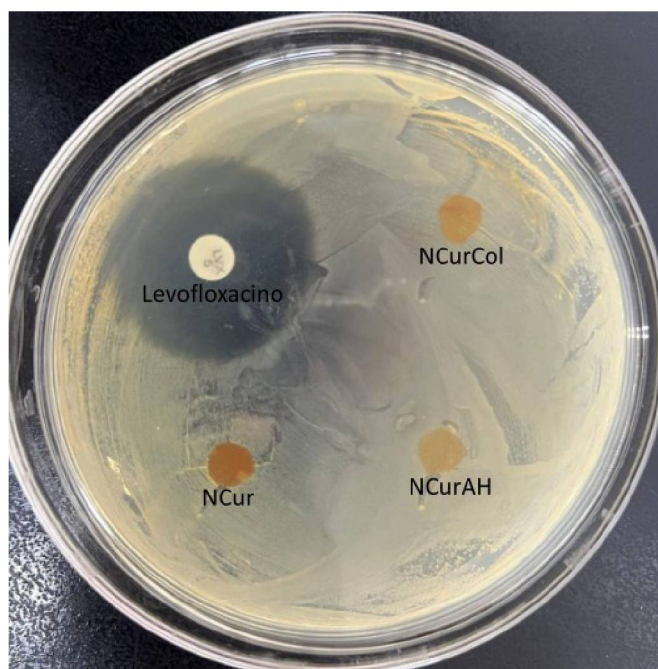


FIGURA 2: Atividade antimicrobiana pela técnica de disco-difusão das membranas eletrofiadas contra *S. aureus*. NCur – membrana eletrofiadas de nanoquitosana e curcumina, NCurAH– membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e ácido hialurônico, NCurCol – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e colágeno.

A ausência de halos de inibição em torno das membranas utilizadas evidencia a ausência de atividade antimicrobiana contra o microrganismo *Staphylococcus aureus*.

4.4. Citotoxicidade

As análises de viabilidade celular das membras apresentaram resultados satisfatórios em todos os tratamentos. Em comparação ao meio controle (100% de viabilidade celular), não demonstraram grande degradação dos fibroblastos, nos tratamentos (Figura 2).

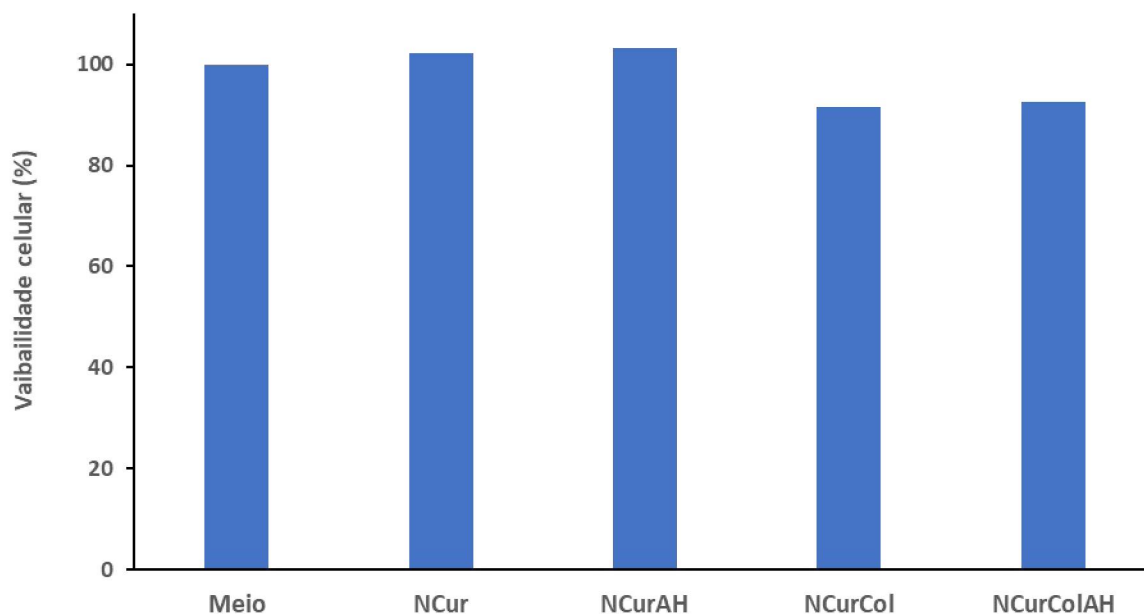


FIGURA 3: Medida da citotoxicidade das membranas de cada tratamento em relação ao meio controle negativo para citotoxicidade, expresso pela viabilidade celular obtida na análise. Meio (DMEM), NCur – membrana eletrofiadas de nanoquitosana e curcumina, NCurAH– membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e ácido hialurônico, NCurCol – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e colágeno e NCurColAH – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina, colágeno e ácido hialurônico.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as membranas avaliadas e o controle somente com o meio e entre as membranas. As taxas de viabilidade celular foram mais elevadas nas membranas de NCur (102,2%) e NCurAH (103,2%), enquanto as membranas com colágeno apresentaram viabilidade celular um pouco mais reduzida, sendo NCurCol (91,6%) e NCurColAH (92,7%), porém ainda com viabilidade celular adequada para os utilização.

4.5. Potencial Cicatrizante em animais

Com base nas imagens obtidas ao final de cada tempo dos tratamentos foi possível observar as diferenças macroscópicas entre as feridas de cada tratamento, sendo observado que os tratamentos com as membranas eletrofiadas contribuíram para a manutenção da umidade da ferida, criação de crosta e menor edema local em relação ao tratamento controle, além de um fechamento médio quase completo das feridas nos tratamentos NCurAH e NCurColAH (Figura 4).

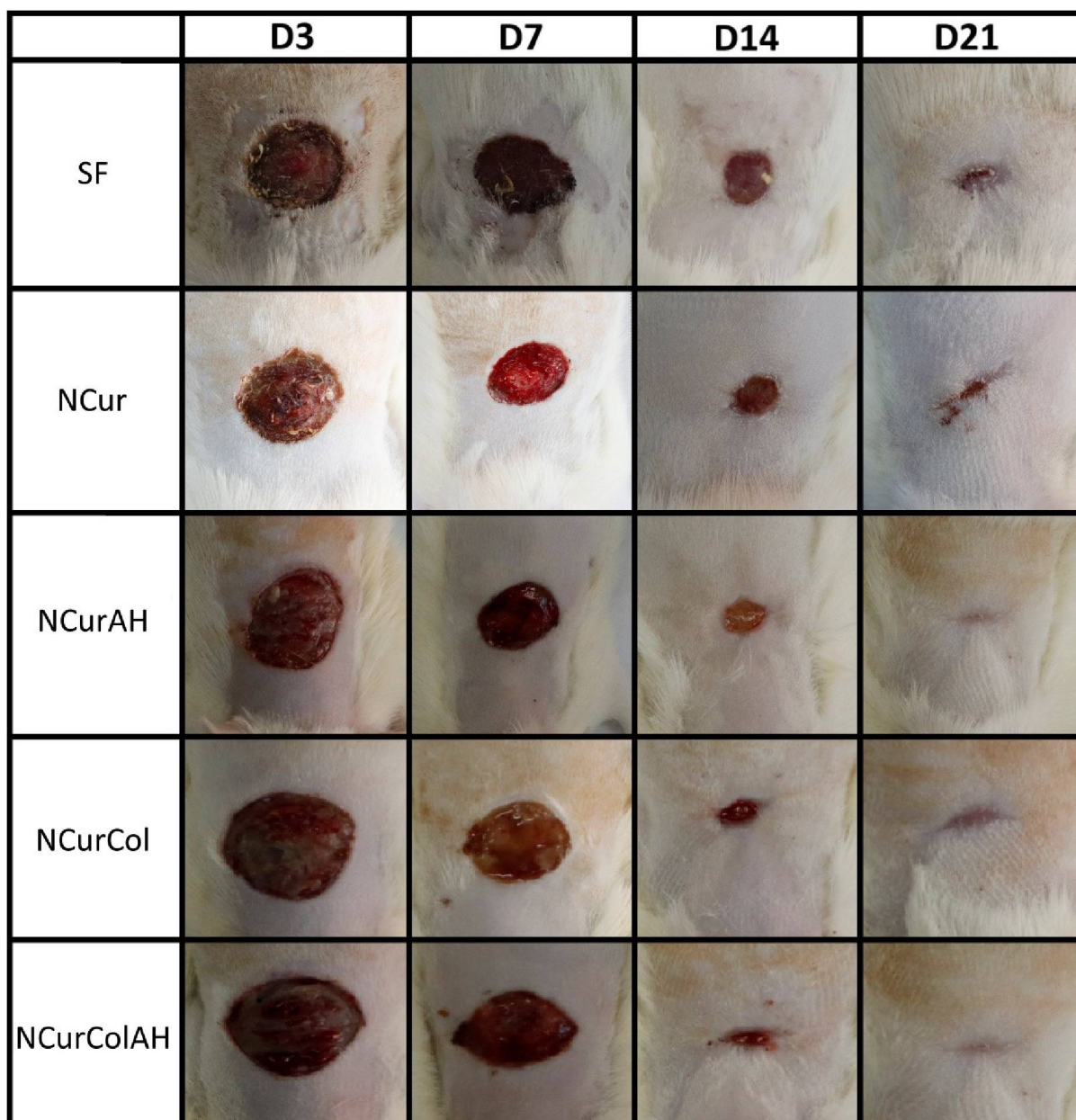


FIGURA 4: Fotos das feridas após 3 dias de aplicação (D3), 7 dias de aplicação (D7), 14 dias de aplicação (D14) e 21 dias de aplicação (D21) do grupo controle SF (Solução fisiológica) e dos tratamentos, NCur – membrana eletrofiadas de nanoquitosana e curcumina, NCurAH– membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e ácido hialurônico, NCurCol – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e colágeno e NCurColAH – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina, colágeno e ácido hialurônico.

Verificou-se que o aspecto das feridas nos tempos D3 e D7 são melhores nos tratamentos com membranas eletrofiadas associadas a princípios ativos, em relação ao controle utilizando solução fisiológica.

Os tratamentos não apresentaram crosta nem exsudato do tempo D3, apenas um leve edema nas bordas das feridas. No tempo D7 as feridas de todos os tratamentos apresentaram exsudato e começo da formação de crosta, sendo os tratamentos SF e NCur os que apresentavam menor exsudato neste tempo. No tempo D14 as feridas de todos os tratamentos apresentaram crosta bem formada e ausência de exsudato e edema na borda das feridas.

No tratamento utilizando apenas a curcumina como princípio ativo não é possível observar uma grande diferença em relação a contração das feridas, porém é notável a diferença em relação a solução fisiológica.

Nos tratamentos associando mais de um princípio ativo as membranas é possível observar um fechamento quase completo das feridas no tempo D14, enquanto no tempo D21 os tratamentos com curcumina e ácido hialurônico, curcumina e colágeno e curcumina, colágeno e ácido hialurônico as feridas já se apresentam totalmente fechadas.

Após as análises do aspecto macroscópico das feridas foi realizada a análise das áreas das feridas em cada tempo e tratamento. As áreas das feridas ao longo dos 21 dias de tratamentos estão na Tabela 2.

TABELA 2: Valores médios das áreas das feridas nos 21 dias de avaliação do processo cicatricial utilizando as membranas eletrofiadas.

Tratamento*	D3	D7	D14	D21
SF	4,28 ± 0,37 a	3,36 ± 0,28 a	0,58 ± 0,06 a	0,13 ± 0,08 a
NCur	4,60 ± 0,20 a	3,33 ± 0,12 a	1,08 ± 0,16 a	0,16 ± 0,07 a
NCurAH	4,20 ± 0,17 a	3,28 ± 0,13 a	0,53 ± 0,05 a	0,10 ± 0,07 a
NCurCol	5,31 ± 0,51 a	3,34 ± 0,41 a	0,42 ± 0,10 a	0,17 ± 0,08 a
NCurColAH	4,38 ± 0,60 a	2,85 ± 0,24 a	0,37 ± 0,10 a	0,09 ± 0,05 a

*SF - soro fisiológico, NCur – membrana eletrofiadas de nanoquitosana e curcumina, NCurAH– membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e ácido hialurônico, NCurCol – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e colágeno e NCurColAH – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina, colágeno e ácido hialurônico.

Em nenhum dos tempos avaliados houve diferença estatística significativa entre os tratamentos e o controle negativo com solução fisiológica. Todavia, foi

possível observar algumas diferenças nas áreas das feridas ao longo dos dias de cicatrização. No tempo D3 o tratamento associando curcumina e ácido hialurônico obteve a melhor média em relação as demais.

No tempo D7 o tratamento que demonstrou a menor área da ferida foi o que utilizou curcumina com colágeno e ácido hialurônico, seguido pelo tratamento com curcumina e ácido hialurônico. Neste tempo é possível perceber uma melhora significativa dos tratamentos em relação ao grupo controle que utilizou apenas solução fisiológica, sendo este o que apresentou a maior área da ferida.

No tempo D14 o tratamento associando os três princípios ativos continuou a demonstrar a menor área de ferida em relação aos demais tratamentos, observação que se manteve até o tempo D21, sendo o tratamento associando os três ativos o que obteve a menor área média das feridas ao final dos testes, seguido pelo tratamento com curcumina e ácido hialurônico.

No tempo D21 que é o tempo final dos testes, os tratamentos com curcumina e curcumina com colágeno demonstraram uma área média da ferida superiores ao grupo controle com solução fisiológica, o que não exclui outros possíveis benefícios ao tecido ao utilizar estes tratamentos.

4.5.1. Contração das feridas

As análises da porcentagem de contração das feridas ao longo dos testes ajudaram a determinar a velocidade em que as feridas se fecharam em cada tratamento (Figura 5).

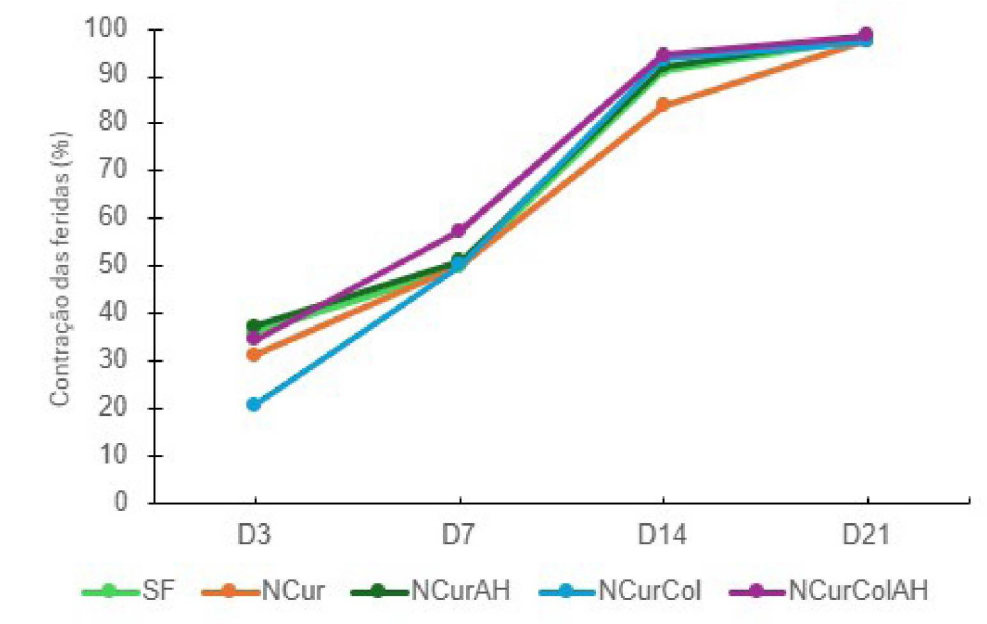


FIGURA 5: Porcentagem média da contração das feridas calculados dos tempos D3, D7, D14 e D21 para cada tratamento. *SF - soro fisiológico, NCur – membrana eletrofiadas de nanoquitosana e curcumina, NCurAH– membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e ácido hialurônico, NCurCol – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina e colágeno e NCurColAH – membrana eletrofiadas de nanoquitosana, curcumina, colágeno e ácido hialurônico.

No tempo D3 é possível observar que o tratamento utilizando NCurAH (37,22%) obteve a maior média de contração das feridas, seguido pelo tratamento controle com SF (36,02%), assim como nos testes de área das feridas, a maioria dos tratamentos não apresentou resultados significativos em relação a contração. Os tratamentos com NCurColAH (34,53%) e apenas NCur (31,24%) mostraram resultados próximos ao controle, enquanto o tratamento com NCurCol (20,63%) obteve a menor porcentagem de contração das feridas neste tempo.

No tempo D7, o tratamento com NCurColAH (57,4%) demonstrou a maior porcentagem de contração das feridas em relação aos demais tratamentos, que obtiveram resultados muito próximos, sendo a NCurAH (50,97%), a NCur (50,22%), NCurCol (50,10%) e SF (49,78%), neste tempo todos os tratamentos apresentaram certa vantagem em relação a solução fisiológica, porém, os valores não apresentam grande significância.

No tempo D14 o tratamento com NCurColAH (94,97%) continuou demonstrando a maior porcentagem de retração das feridas, seguido pelo tratamento com NCurCol (93,72%), NCurAH (92,08%), SF (91,33%) e NCur (83,86%). Neste

tempo, o tratamento com Curcumina demonstrou uma grande desvantagem em relação aos demais tratamentos, porém, ainda se faz necessária a análise dos demais aspectos em relação as feridas.

No tempo D21 todos os tratamentos obtiveram medidas aproximadas, demonstrando uma média de fechamento quase completo das feridas, sendo a maior porcentagem de contração das feridas observada no tratamento com Curcumina, Colágeno e Ácido Hialurônico (98,65%), seguido pelos tratamentos com Curcumina e Ácido Hialurônico (98,51%), solução fisiológica (98,06%), Curcumina (97,61%) e Curcumina e Colágeno (97,45%).

Assim foi possível determinar que os tratamentos NCurAh e NCurColAH se mostraram mais eficientes que os demais tratamentos ao final do estudo, sendo o tratamento NCurColAH o que obteve os melhores resultados em todos os tempos com exceção do tempo D3. O tratamento NCur apresentou o menor valor de contração no tempo D14 enquanto o tratamento NCurCol demonstrou a pior resposta inicial no tempo D3, porém, ao final dos testes as membranas NCur e NCurCol alcançaram resultados próximos aos demais tratamentos.

4.5.2. Análise histológica

As lâminas histológicas foram observadas em microscópio óptico, possibilitando a análise dos elementos microscópicos das feridas. Foi possível determinar que as feridas dos tratamentos tiveram uma menor resposta inflamatória em relação ao controle com solução fisiológica, os tratamentos NCurAH e NCurColAH apresentaram uma resposta mais precoce que os demais tratamentos na deposição e organização de fibras colágenas, enquanto o tratamento NCur apresentou a melhor resposta precoce ao processo inflamatório, os tratamentos NCur, NCurAH e NCurColAH apresentaram resultados ligeiramente melhores aos demais ao final do estudo em relação a organização do colágeno, reepitelização e camada queratinizada, nos demais aspectos todos os tratamentos obtiveram resultados semelhantes (Figura 6).

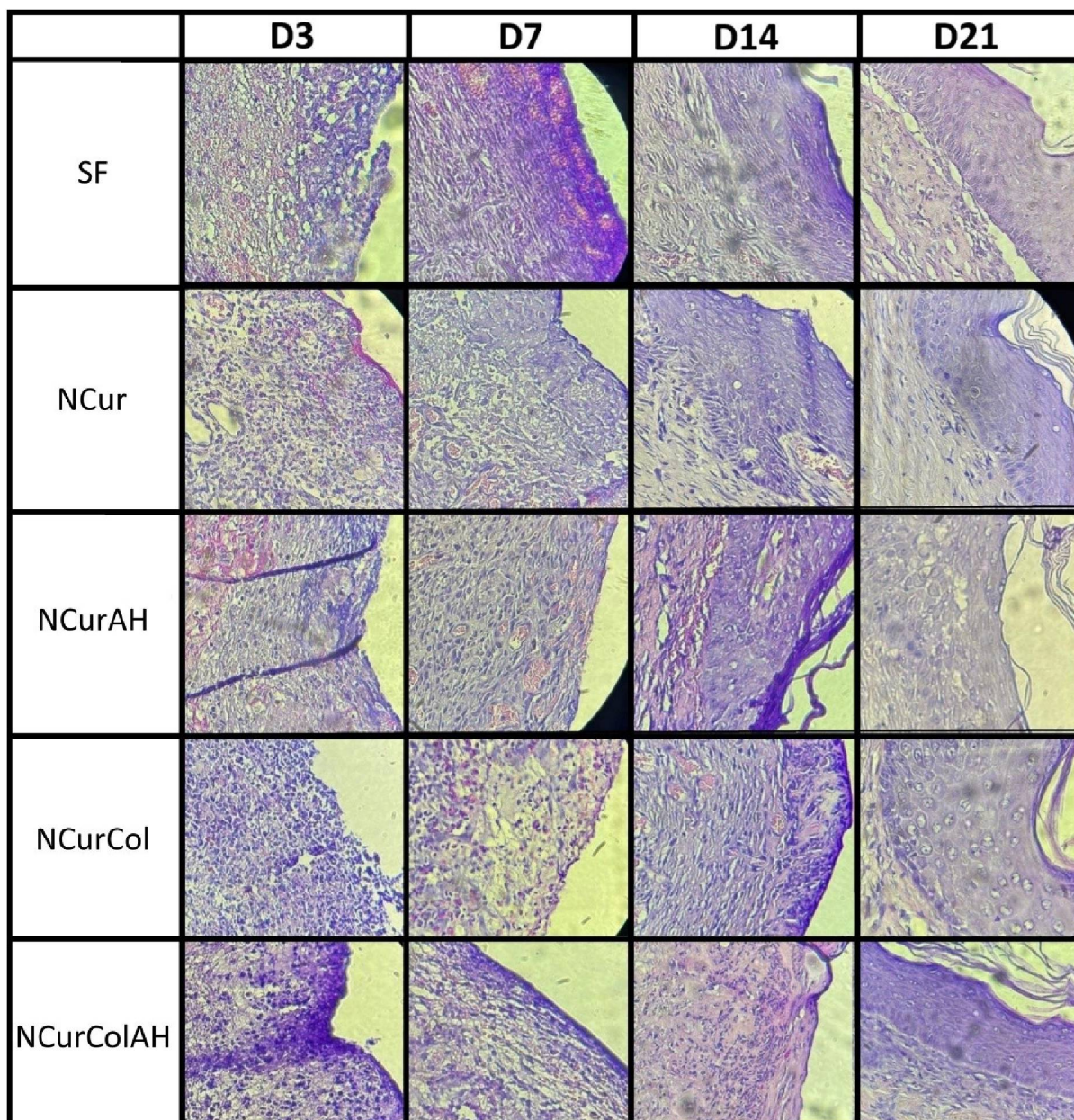


FIGURA 6: Cortes histológicos das bordas das feridas nos tempos D3, D7, D14 e D21 após os tratamentos Cur, Cur+AH, Cur+Col e Cur+Col+AH, coradas com hematoxilina-eosina (HE), observadas em microscópio ótico com ampliação de 400x (10x ocular + 40x objetiva).

No tempo D3, é perceptível um ligeiro depósito de colágeno apenas no tratamento NCurAH, enquanto em todos os tratamentos é possível observar infiltrado inflamatório e fibroblasto, em maior quantidade nos tratamentos NCurCol e NCurColAH, neste tempo nenhum dos tratamentos apresentou formação de novos vasos ou reepitelização tecidual.

No tempo D7, é possível observar uma diminuição no número de leucócitos no infiltrado inflamatório em todos os tratamentos, em especial no tratamento NCur, nota-se um aumento e melhor organização nas fibras colágenas no tratamento NCurAH

enquanto todos os demais tratamentos apresentam depósito de fibras colágenas ainda desorganizadas. Neste tempo há também o surgimento dos novos vasos sanguíneos nos tratamentos NCur, NCurAH, NCurColAH e no grupo controle tratado com solução fisiológica. Ainda não é possível observar reepitelização significativa.

No tempo D14, é perceptível a presença de novos vasos sanguíneos no tratamento NCurCol, todos os tratamentos apresentam um grande aumento na quantidade de fibras colágenas e com melhor organização em relação ao tempo anterior, diferença notada com maior intensidade nos grupos NCurAH e NCurColAH. É possível observar neste tempo uma diminuição significativa de leucócitos e a reepitelização em todos os tratamentos, em maior intensidade nos tratamentos NCur e NCurAH, sendo notada no tratamento NCurAH o surgimento da camada queratinizada do tecido, no tratamento NCurColAH a coloração da lâmina dificultou sua análise, porém é possível observar camada epitelial bem formada.

No tempo D21, os tecidos já se encontram quase totalmente íntegros, em todos os tratamentos é possível observar uma presença discreta dos leucócitos dos infiltrado inflamatório e escassos fibroblastos. As fibras colágenas já se encontram totalmente organizadas nos tratamentos NCur, NCurAH e NCurColAH, todos os tratamentos apresentam camada queratinizada do tecido bem formada.

Assim, pode-se concluir que entre os tratamentos em estudo, os tratamentos NCur, NCurAH e NCurColAH apresentaram a melhor resposta imediata, como na síntese de novos vasos sanguíneos e na epitelização mais precoce e mais robusta que os demais tratamentos em tempos de estudo mais iniciais, porém, com o desenvolvimento dos tempos todos os tratamentos mostraram resultados finais muito parecidos entre si, com ligeiras vantagens em relação ao grupo controle principalmente no nível de organização das fibras de colágeno e desenvolvimento da camada queratinizada do tecido.

5. DISCUSSÃO

O método de eletrofiação consiste em um dos melhores métodos na atualidade para síntese de matrizes poliméricas de alta porosidade formadas por fibras, apresentando baixo custo e complexidade em seu processo. Lemos (2023) destaca que o método é composto por apenas três partes fundamentais, sendo a fonte elétrica, que cria uma diferença de potencial entre o coletor e a origem das fibras poliméricas, o capilar, por onde a solução será eletrofiada e o coletor que fará a captura das fibras eletrofiadas.

O processo de eletrofiação foi adaptado de Guellis *et al.* (2021), mas com algumas otimizações empregadas ao método, o método original utilizava voltagens até 23kV, distância entre capilar e coletor de 15 a 20cm, seringa de 5mL e vazão padronizada de 0,5mL/H, o método otimizado passou a utilizar voltagem de 20kV, distância fixa entre capilar e coletor de 12 cm, seringa de 10 mL e vazão padronizada a 2mL/h, o que acelerou a produção de cada membrana de aproximadamente 10 h para 5h no processo de eletrofiação para o dobro de volume da solução.

As membranas eletrofiadas usadas no estudo apresentaram textura uniforme e coloração parecida entre os tratamentos, além de não apresentarem transparência em nenhum ponto das membranas, o que sugere que os processos de homogeneização das soluções e eletrofiação das membranas ocorreram de acordo com o objetivo. É válido destacar que, entre todos os polímeros adicionados às soluções para eletrofiação, nenhum dos tratamentos apresentou diferenças significativas quanto à viscosidade final das soluções ou durante o processo de eletrofiação, não havendo necessidade de alterar a vazão ou voltagem aplicada durante o processo.

As membranas eletrofiadas de nanoquitosana associadas a outros polímeros apresentaram boa cobertura e adesão ao leito das feridas, excluindo a necessidade de se utilizar outros tipos de adesivos sintéticos para sua fixação, o que poderia afetar a regeneração celular de forma física e química, interferindo assim nos resultados e no conforto do paciente, visando utilização futura em animais e humanos. De acordo com Askari *et al.* (2025), membranas eletrofiadas de nanoquitosana demonstram uma maior uniformidade em suas fibras quando associadas a outros polímeros como colágeno e ácido hialurônico, o que pode aumentar significativamente sua resistência e elasticidade, além de contribuírem para a manutenção da umidade local da ferida

ao permitir a passagem de vapor d'água e gases. Outros fatores como o diâmetro e distribuição das fibras eletrofiadas podem causar variações na resistência, elasticidade e TVA das membranas, Cordeiro (2022), obteve fibras com média de 340 nm e destaca que diversos fatores podem modificar o diâmetro das fibras eletrofiadas, como o aumento ou diminuição da vazão que obtém respectivamente fibras com maiores ou menores diâmetros.

Jabur *et al.* (2015), demonstrou os efeitos da tensão aplicada ao sistema nos diâmetros das fibras eletrofiadas, enquanto tensões de 25 kV obtiveram menores diâmetros com média de 150 nm, tensões de 5 kV obtiveram fibras com diâmetro médio de 910nm. Mercante *et al.* (2023), destaca que a viscosidade da solução tem forte impacto no diâmetro das fibras e na espessura da membrana, soluções pouco viscosas normalmente eletrofiam fibras com menores diâmetros e favorecem a eletropulverização levando a perda de solução, enquanto soluções muito viscosas resultam em fibras com maiores diâmetros e podem comprometer o sistema causando o entupimento do capilar.

Em relação a transmissão de vapor d'água, as membranas mostraram-se pouco permeáveis, já que a faixa ideal para transmissão de vapor d'água seria entre 2000 e 2500 g/m² por dia. As membranas apresentaram valores entre 1123 e 1169 g/m² por dia, o que indica que poderiam ser produzidas com menor espessura, visando aumentar a taxa de evaporação. A otimização dos parâmetros de eletrofiação realizada, com aumento de fluxo e de volume, podem ter interferido na espessura e permitido a formação de poros menores que deixaram as membranas pouco permeáveis.

Assim, sugere-se um novo ajuste nos parâmetros de eletrofiação visando melhorar a taxa de permeabilidade das membranas, de acordo com Pedroso (2023), um maior volume de solução eletrofiada garante uma membrana com maior espessura, o que por sua vez está diretamente relacionada a uma menor permeabilidade a vapores de água. Santos (2018), destaca que valores adequados de TVA são importantes na manutenção do equilíbrio do leito das feridas, uma vez que valores diminuídos podem aumentar o risco de contaminação ao causar o acúmulo de exsudato, enquanto valores aumentados normalmente levam a desidratação das feridas.

A incorporação de outros polímeros como princípio ativo na membrana tem como maior objetivo aumentar o seu potencial regenerativo ao maximizar a

eficiência de cada um dos processos bioquímicos envolvidos na regeneração tecidual, além de fornecer materiais para tais processos e contribuir para um tratamento com menos incômodos relacionados ao material utilizado.

Como apontado por Adhikari *et al.* (2024), materiais que agregam várias funções são o futuro dos curativos, oferecendo além da barreira protetora, estímulos para regeneração ativa do tecido, como combinar a nanoquitosana que apresenta propriedades antimicrobianas, o colágeno que mimetiza proteínas da matriz extracelular, ácido hialurônico que age como promotor da angiogênese e hidratação e curcumina que é um fitoquímico com propriedades antioxidantes.

Os polímeros associados às membranas de nanoquitosana foram escolhidos de acordo com evidências que demonstraram a eficácia de suas funções na literatura, como o colágeno e a importância de sua biodisponibilidade proteica para a matriz extracelular no leito da lesão, de acordo com Papaiordanou *et al.* (2022), o colágeno desempenha importantes papéis na estrutura de diversos tecidos, e é a mais abundante proteína na matriz extracelular do tecido epitelial, constituindo aproximadamente 90% de sua massa seca. O ácido hialurônico, que apresenta alta capacidade estimulante a angiogênese e cicatrização em feridas, como citado por Araújo *et al.* (2021), também está presente na composição da matriz extracelular, tendo como função regular a deposição excessiva de colágeno nos processos de cicatrização, protegendo a cicatrização tecidual, melhora a atividade de neutrófilos a partir do aumento de sua motilidade e atua estimulando os processos de angiogênese e proliferação de células.

A nanoquitosana foi utilizada como base para a eletrofiação das membranas pois já demonstrou diversos aspectos importantes para a cicatrização cutânea como destaca Zakaluk (2024), apresenta grande capacidade para a formação de filmes, além de ter propriedades cicatrizantes, anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas, suas propriedades são diretamente associadas às características físicas e químicas de seus polímeros, em principal o grau de acetilação e seu peso molecular.

De acordo com Baron *et al.* (2023), a curcumina apresenta diversas atividades bioquímicas ativas que a torna uma substância promissora em relação a cicatrização de feridas como propriedades anti-inflamatórias, angiogênicas, antioxidantes e antimicrobianas. Assim, associando a base de nanoquitosana com outros polímeros, é possível extrair diversos benefícios para a reparação tecidual com a utilização de

apenas um tipo de curativo, cujo a membrana apresenta a associação de diversos princípios ativos em sua composição.

Quanto a análise de citotoxicidade, todas as membranas utilizadas apresentaram viabilidade celular acima de 90%, considerado ideal para curativos cutâneos. As membranas de NCur e NCurAH apresentaram efeito protetor sobre as células, aumentando a taxa de divisão celular, o que pode ser observado pela viabilidade celular acima do controle (100%). Isso se deve possivelmente ao efeito antioxidante da curcumina, que neutraliza radicais livres, permitindo que a atividade celular seja potencializada. As membranas contendo colágeno tiveram uma pequena redução na viabilidade celular, porém ainda com segurança para utilização. Como descrito por Echhardt (2024), é considerado ideal uma taxa de viabilidade celular acima de 70%, sendo que o potencial de dano celular das membranas é inversamente proporcional à viabilidade celular apresentada em relação ao meio controle negativo.

O controle da citotoxicidade dos curativos utilizados nos tratamentos cutâneos tem grande relevância na qualidade da cicatrização do tecido, enquanto materiais com alto nível de citotoxicidade podem contribuir para morte celular de células com papéis fundamentais para o reparo tecidual como os fibroblastos, Santos (2022) concluiu em sua revisão que a presença de elementos citotóxicos podem inviabilizar os fibroblastos no processo de cicatrização, além de prejudicar a função dos fibroblastos ainda viáveis, o que pode levar a inibição parcial do crescimento celular. George *et al.* (2021), demonstrou que concentrações menores de biopolímeros com maior viabilidade celular nos testes de citotoxicidade apresentaram resultados superiores na contração das feridas quando comparados aos mesmos biopolímeros em maiores concentrações, o que diminui a viabilidade celular apresentada nos testes de citotoxicidade.

A atividade antimicrobiana da nanoquitosana é descrita normalmente de duas formas, como um agente bacteriostático, ou seja, que impede o desenvolvimento das bactérias, ainda que não haja distinção se as bactérias estão mortas ou não, ou como agente bactericida, que mata pelo menos alguma fração das bactérias vivas (Santos, 2022). Embora haja indícios na literatura que apontem uma potencial atividade antimicrobiana associada a nanoquitosana, os testes realizados neste estudo não apresentaram dados que favoreçam a afirmação, sendo válido destacar que as membranas utilizadas foram associadas a polímeros que podem alterar suas propriedades. Outro fator que pode ter impacto no resultado é a metodologia

empregada, que no caso do estudo foi a disco-difusão, a técnica apesar de eficaz em diversos casos, não leva em consideração diferentes concentrações de microrganismos e do composto em estudo, no caso, as membranas eletrofiadas, o ideal para tal análise seria o desenvolvimento de um estudo que trate especificamente os potenciais antimicrobianos das membranas de nanoquitosana associada a diferentes polímeros.

As análises macroscópicas apresentaram resultados satisfatórios em relação a cicatrização das feridas, todos os tratamentos apresentaram fechamento da ferida quase completo ao final dos 21 dias de estudo, sendo que os tratamentos que se destacaram foram os tratamentos que utilizaram o ácido hialurônico como o NCurAH e o NCurColAH, tratamentos os quais demonstraram um fechamento total das feridas em grande parte dos indivíduos testados, o tratamento com colágeno demonstrou uma ação mais demorada em relação aos demais, enquanto o tratamento com curcumina apresentou um menor pico na contração da ferida no tempo D14, porém, ao final dos testes ambos alcançaram um resultado aproximado dos demais tratamentos. Resultados semelhantes foram achados por Dal Ponte et al. (2024), que ao avaliarem membranas eletrofiadas de nanoquitosana e nanoquitosana com ácido hialurônico, verificaram que o ácido hialurônico colabora para a melhor deposição tecidual e acelera a cicatrização de feridas.

Quanto às análises de área média das feridas e contração média das feridas, os resultados se mostram de acordo com os demais achados macroscópicos, os tratamentos contendo o ácido hialurônico tiveram o melhor desempenho, sendo a melhor média obtida pelo tratamento NCurColAH, seguido pelo NCurAH, que demonstraram área média das feridas de respectivamente 0,09cm² e 0,10cm² e contração média das feridas de respectivamente 98,65% e 98,51%. Quando comparados ao grupo de controle que utilizou apenas solução fisiológica para a limpeza das feridas, os demais tratamentos não demonstraram resultados positivos em relação à área e contração das feridas.

Apesar de estatisticamente não haver diferença entre os tratamentos, vale ressaltar que a análise completa dos aspectos presentes no estudo leva a uma melhor compreensão dos efeitos observados nos diferentes tratamentos, que além de gerarem indícios isoladamente, abrem também o espaço para novos estudos.

Quanto às análises microscópicas, o tratamento NCurAH foi o que demonstrou o depósito de colágeno mais precocemente no tempo D3, o que pode indicar que o

ácido hialurônico tem maior influência na deposição de colágeno que o tratamento que torna o colágeno biodisponível na ferida, Silva *et al.* (2023), aponta em sua revisão que o ácido hialurônico favorece a formação de elastina e colágenos e estimula uma maior proliferação e diferenciação celular, além de estimular a produção de fatores de crescimento, o que favorece a velocidade de cicatrização. No tempo D7 todos os tratamentos demonstraram um depósito de fibras colágenas enquanto o do tratamento NCurAH se mostrou mais robusto, neste tempo também houve os primeiros indícios de angiogênese nos tratamentos NCur, NCurAH, NCurColAH e no grupo controle, resultados obtidos por Mafra (2024) demonstram que o uso de filmes compostos por ácido hialurônico associado a outros compostos apresentou forte potencial pró-angiogênico em tecido ósseo testado em modelo animal. Neste tempo foi também observada uma diminuição no infiltrado inflamatório em todos os tratamentos, em especial no tratamento NCur. No tempo D14, já passado mais da metade do tempo total de estudo, foi possível observar o início do processo de angiogênese no tratamento NCurCol, e também um aumento significativo na quantidade e na organização das fibras colágenas de todos os tratamentos, sendo o efeito notado com maior intensidade nos tratamentos NCurAH e NCurColAH, o que vai de acordo com a literatura afirmar que os tratamentos com ácido hialurônico demonstraram potencial cicatrizante eficaz em relação aos outros tratamentos, como apontado por Araújo *et al.* (2017) o tratamento de lesões teciduais com ácido hialurônico apresentam cicatrização rápida e eficiente, agindo de forma benéfica à recuperação do tecido. Com relação ao infiltrado inflamatório encontramos outra concordância com a literatura comprovando as propriedades anti-inflamatórias da curcumina, como apontado por Filgueiras *et al.* (2023), ensaios pré-clínicos apresentaram em diversas condições que a curcumina age na redução da inflamação e estresse oxidativo, como no câncer, doenças cardiovasculares e degenerativas. Apesar de todos os tratamentos apresentaram redução no número de leucócitos, o efeito é observado com maior intensidade nos tratamentos com curcumina, sendo o NCur, NCurCol e NCurColAH, neste tempo é também perceptível uma robusta camada de epitelização dos tecidos em todos os tratamentos, com destaque para os tratamentos NCur e NCurAH, além da presença de camada queratinizada epitelial no tratamento NCurAH. O tratamento NCurColAH apresentou coloração enfraquecida em sua lâmina, apesar de possível notar a camada de reepitelização formada, é possível que haja uma interferência na visualização de alguns de seus elementos.

Ao final do estudo, no tempo D21, as análises histológicas demonstraram uma diminuição significativa do infiltrado inflamatório, restando poucos leucócitos e raros fibroblastos, nota-se um aumento na quantidade e organização das fibras colágenas em todos os tratamentos, como também uma camada epitelial robusta e com camada queratinizada bem formada, os tratamentos NCur, NCurAH e NCurColAH demonstraram fibras colágenas já totalmente organizadas, tal qual um tecido totalmente íntegro, Bortolli (2018) demonstra que uso de produtos à base de curcumina melhoram a formação de tecido de granulação e aumentam a migração de fibroblastos, além de estimular a deposição de colágenos e apresentar efeitos pró-angiogênicos o que favorece a reepitelização e acelera a contração das feridas, e Figueira; Crusca; Yoshioka; (2014), que demonstram que em modelo animal a reepitelização das feridas tratadas com ácido hialurônico foi superior ao grupo controle, alcançando a contração total das feridas em 14 dias, além de apresentar cicatrizes com aspectos melhores. Apesar de haver uma certa diferença na velocidade em que os processos da cicatrizaram aconteceram nos diferentes tratamentos, ao final do estudo, todos obtiveram resultados aproximados, porém, não apenas o resultado final que importa, mas suas etapas podem contribuir com aspectos da cicatrização além da área e contração da ferida, como o conforto do indivíduo durante o tratamento, o surgimento modelação e aspecto das cicatrizes após os tratamentos, além da possibilidade da cura total da cicatriz, a depender é claro da extensão e profundidade da lesão.

A partir do conjunto de resultados, é possível concluir que, apesar de não apresentar diferenças estatísticas nos testes citotoxicidade, área total da ferida e contração da ferida, os tratamentos contendo ácido hialurônico se mostraram mais eficazes em quase todos os critérios analisados, sendo os tratamentos com curcumina superiores apenas nos testes de citotoxicidade e nos aspectos inflamatórios das análises macroscópicas e microscópicas. Apesar da presença do colágeno nas membranas ter mostrado resultados ligeiramente inferiores em citotoxicidade, a viabilidade celular dos tratamentos com colágeno ainda foi superior a 90% (tem-se que o ideal é considerado acima de 70%) e a análise estatística demonstrou que os resultados de todos os tratamentos são estatisticamente iguais. Assim, pode-se afirmar que o tratamento que obteve os melhores resultados em todos os aspectos analisados foi o NCurColAH, que demonstrou fornecer as principais propriedades de seus princípios ativos e favorecer a cicatrização tecidual.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo conseguiu alcançar seu objetivo ao produzir membranas eletrofiadas de nanoquitosana associada a polímeros que apresentam princípios ativos como a Curcumina, Colágeno e Ácido Hialurônico em quatro diferentes tratamentos, sendo NCur, NCurAH, NCurCol e NCurColAH e avaliar seu efeito cicatrizante em animais. As membranas sintetizadas por meio do processo de eletrofiação apresentaram características de acordo com o estabelecido para seu uso no estudo, demonstrando textura uniforme, além da obtenção de uma boa fixação e cobertura para as feridas. A permeabilidade das membranas pode ser melhorada, a fim de manter o leito da ferida mais úmido durante a cicatrização e a adição de outros polímeros com atividade antimicrobiana podem contribuir para a maior efetividade destas. Entre os tratamentos utilizados no estudo, o que obteve os melhores resultados na cicatrização das feridas foi o NCurColAH, tanto nas análises macroscópicas quanto nas microscópicas, apresentando uma maior contração média da ferida, melhor organização de colágeno, menor quantidade de infiltrado inflamatório e maior velocidade de fechamento das feridas em relação aos demais tratamentos e grupo controle.

Além dos diversos efeitos benéficos na cicatrização de feridas cutâneas, as membranas eletrofiadas também podem apresentar um potencial ecológico e econômico, uma vez que a nanoquitosana é obtida a partir do exoesqueleto de crustáceos, a produção em larga escala de membranas a base de nanoquitosana tem o potencial de eliminar um importante descarte gerado pelas indústrias pesqueiras, ao mesmo tempo que, pode ser considerado uma matéria prima de baixo custo em relação a sua abundância e baixo uso na atualidade.

5.1 Recomendações para trabalhos futuros

É de grande importância que novas avaliações sejam realizadas com vistas a aplicação destas membranas para a cicatrização de feridas de pele em humanos e animais.

Assim, ajustar o fluxo da eletrofiação pode contribuir para a melhora da taxa de transmissão de vapor d'água, bem como a adição de algum material com atividade

antimicrobiana, como por exemplo, a prata pode contribuir com a atividade antimicrobiana. O aumento da concentração dos polímeros também pode contribuir para o aumento da efetividade na cicatrização das feridas.

REFERÊNCIAS

- ADHIKARI, J. et al. Bilayer regenerated cellulose/quaternized chitosan-hyaluronic acid/collagen electrospun scaffold for potential wound healing applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 261, p. 129661, 23 jan. 2024.
- ALVES, H. J. et al. Chitosan Depolymerization and Nanochitosan Production Using a Single Physical Procedure. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 9, p. 3913–3923, 16 jun. 2018.
- ALVES, Q.; DAVID, M.; DAVID, J. P.; *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.
- ARAÚJO, A. L. et al. Eficácia do uso do ácido hialurônico no processo de cicatrização de feridas / Effectiveness of the use of hyaluronic acid in the wound healing process. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 12, p. 119067–119082, 29 dez. 2021.
- ARAÚJO, Amanda Lago; DA SILVA, Ana Lúcia Guimarães; DE FREITAS, Iracelia Barbosa; *et al.* Eficácia do uso do ácido hialurônico no processo de cicatrização de feridas / Effectiveness of the use of hyaluronic acid in the wound healing process. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 12, p. 119067–119082, 2021.
- ARAÚJO, M. H. H. P. O. et al. Uso do ácido hialurônico e da película de biocelulose no tratamento tópico de queimadura. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 16, n. 2, p. 135–138, 2017.
- ASKARI, M; *et al.* Chitosan Nanoparticles: A Promising Candidate in Wound Healing. **The International Journal of Lower Extremity Wounds**. 2025;0(0). doi:10.1177/15347346251325057
- BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, 2005.
- BARON, M. V. et al. Efeito da curcumina na cicatrização de feridas: implicações para a educação em saúde no SUS. **Práticas Educativas, Memórias e Oralidades - Rev. Pemo**, v. 5, n. 11954, 5 dez. 2023.
- BARROS, C. F; LIMA, I. A; BUNHAK, E. J. Filmes poliméricos no manejo de feridas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e10111628757, 2022.
- BERNARDES, L. O; JURADO, S. R. Efeitos da laserterapia no tratamento de lesões por pressão: uma revisão sistemática. **Revista Cuidarte**, v. 9, n. 3, p. 1–12, 2018.
- BHAR, B; *et al.* Harnessing Multifaceted Next-Generation Technologies for Improved Skin Wound Healing. **ACS Applied Biomaterials**, v. 4, n. 11, p. 7738–7763, 2021.

Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://nhiso.com/wp-content/uploads/2018/05/ISO-10993-5-2009.pdf>>.

BORTOLLI, J. Q. **Efeito da aplicação tópica do extrato de camomila e da curcumina em úlceras traumáticas em língua de ratos: análise clínica e histológica.** [s.l.] PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL, 2018.

CAMPOS, A. C. L; BORGES-BRANCO, A; GROTH, A. K. Cicatrização de feridas. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, n. 1, p. 51–58, 2007.

CARRIÇO, C. E. M. G. **Plantas Medicinais com Propriedades Anti- inflamatórias Curcuma longa L. Carolina Espinha de Mendonça Gasiba Carriço.** [s.l: s.n.] 2021.

CHATTOPADHYAY, S.; RAINES, R.T. Collagen-based biomaterials for wound healing. **Biopolymers**, v. 101, n. 8, p. 821-833, 2014.

COLARES, C. M. P; *et al.* Cicatrização e tratamento de feridas: a interface do conhecimento à prática do enfermeiro. **Enfermagem em Foco**, v. 10, n. 3, 2019.

CORDEIRO, C. C. Membranas filtrantes obtidas de nanofibras de álcool polivinílico (pva) e quitosana por eletrofiação. **UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**, jun. 2022.

COSTA DA SILVA, J; *et al.* Evidências para o tratamento de feridas em recém-nascidos: revisão integrativa. **Enfermería: Cuidados Humanizados**, v. 13, n. 1, 2024.

DAL PONTE, E; *et al.* Production and Characterization of Electrospun Chitosan, Nanochitosan and Hyaluronic Acid Membranes for Skin Wound Healing. **Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials**, v. 112, n. 10, 2024.

DALMEDICO, M. M; *et al.* Hyaluronic acid covers in burn treatment: a systematic review. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 50, n. 3, p. 522–528, 2016.

DATTA, D; *et al.* Cellulose-Based Nanofibers Infused with Biotherapeutics for Enhanced Wound-Healing Applications. **ACS Polymers Au**, v. 5, n. 2, 2025.

DIAS, A. L; *et al.* Uso de materiais biomiméticos à base de policaprolactona (pcl) em tratamentos de feridas cutâneas: revisão sistemática. **UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 18, n. 51, p. 129–148, 2021.

EBERHARDT, T. D; *et al.* Mensuração de feridas: revisão da literatura. **Ciência & Saúde**, v. 8, n. 2, p. 79, 2015.

ECHHARDT, L. M. Desenvolvimento de membranas a base de nanoquitosana, prata, zinco e ácido hialurônico para o tratamento de queimaduras de pele avaliadas em modelo animal. 2024.

EMING, S.A.; MARTIN, P.; Tomic-Canic, M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med.*, v. 3, n. 6, p. (265), 2014.

EVANGELISTA, D. G; *et al.* Impacto das feridas crônicas na qualidade de vida de usuários da estratégia de saúde da família. **Revista de Enfermagem do Centro-Oeste Mineiro**, v. 2, n. 2, 2012.

BEHROOZI, F; *et al.* Smart liposomal drug delivery for treatment of oxidative stress model in human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 548, n. 1, p. 62–72, 2018.

FIGUEIRA, T. G.; CRUSCA, J. S.; YOSHIOKA, S. A. **Aplicação de pomada de ácido hialurônico extraído da crista do frango para reparo tecidual de feridas cutâneas em ratos.** [s.l: s.n.] 2014.

FILGUEIRAS, T. C. *et al.* Impact of curcumin on the regulation of oxidative stress and inflammation in individuals with type 2 diabetes: a systematic review. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 11, p. 2109–2123, 8 dez. 2023.

FILHO, S. H. A; *et al.* Propriedades físico-químicas, atividades biológicas e resultados obtidos após utilização médica da quitosana e seus derivados. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, 2020.

FRANCO, D; GONÇALVES, L. F. Feridas cutâneas: a escolha do curativo adequado. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 35, n. 3, p. 203–206, 2008.

GAISSLER, V. *et al.* The effects of Brazilian chitosan-based biomaterials on wound healing in rats. **Tissue and cell/Tissue & cell**, v. 69, p. 101476–101476, 1 abr. 2021.

GEORGE, H. K. *et al.* Avaliação do biopolímero de óleo de mamona, glicerol e ácido cítrico no processo de cicatrização de feridas. **REVISTA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA ULBRA**, v. 19, 2021.

GÓES, I. A. O. Conteúdo e expressão tecidual de colágeno i, iv e laminina na matriz extracelular em portadores de adenocarcinoma da próstata. **Universidade São Francisco**, 2024.

GUELLIS, C. *et al.* Incorporation of Fluorescent Dyes in Electrospun Chitosan/Poly(ethylene oxide). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 1 jan. 2021.

HAMDAN, S; *et al.* Nanotechnology-Driven Therapeutic Interventions in Wound Healing: Potential Uses and Applications. **ACS Central Science**, v. 3, n. 3, p. 163–175, 2017.

HUSAIN, K; *et al.* A Prospective, Blinded, Randomized Controlled Clinical Trial Evaluating the Effect of the Synthetic Electropsun Fiber Matrix in the Treatment of Chronic Diabetic Foot Ulcers. **Foot & Ankle Surgery: Techniques, Reports & Cases**, p. 100362–100362, 2024.

JABUR A., ABBAS L. K., MUHI S. M. The Effects of Operating Parameters on the Morphology of Electrospun Poly vinyl Alcohol Nanofibres. *Journal of University of kerbala*. p. 35-46, 2015

LEE, S M; *et al.* Activated Charcoal Dressings in the Management of Malodorous Wounds: A Systematic Review. **Journal of Wound Care**, v. 28, n. 12, p. 810–818, 2019.

LEMOS, J. P. R. Preparação de membranas eletrofiadas para regeneração da pele. **Instituto Politécnico de Coimbra**, dez. 2023.

LUO, J; *et al.* The effect of 3 wt.% Cu addition on the microstructure, tribological property and corrosion resistance of CoCrW alloys fabricated by selective laser melting. **Journal of Materials Science Materials in Medicine**, v. 29, n. 4, 2018.

MAIA, A. L; *et al.* Curativo com filme e gel de biopolímero de celulose bacteriana no tratamento de feridas isquêmicas após revascularização de membros inferiores. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 46, n. 5, 2019.

MAFRA, M. A. T. Influência da hancornia speciosa (gomes) e hidroxiapatita em filmes de ácido hialurônico e alginato de sódio na reparação do tecido ósseo em calvária de ratos. **UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**, 22 ago. 2024.

MATICA, M. A; *et al.* Chitosan as a Wound Dressing Starting Material: Antimicrobial Properties and Mode of Action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 5889, 2019.

MEMIC, A; *et al.* Latest Progress in Electrospun Nanofibers for Wound Healing Applications. **ACS Applied Biomaterials**, v. 2, n. 3, p. 952–969, 2019.

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

MERCANTE, L. A. et al. Eletrofiação: parâmetro e configurações de sistema, tipos de fibras e métodos de modificação. **Eletrofiação e nanofibras: fundamentos e aplicações**, p. 13–51, 13 dez. 2023.

MOGOŞANU, G; GRUMEZESCU, A. M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, n. 2, p. 127–136, 2014.

MOHAMMED, M. A. *et al.* An overview of chitosan nanoparticles and its application in non-parenteral drug delivery. **Pharmaceutics**, v. 9, n. 4, p. 53, 2017.

MOMOI, C; *et al.* O teste de contato (patch test) na avaliação de sensibilização por alimentos em pacientes com dermatite atópica – estudo piloto. **Arquivos de Asmas Alergia e Imunologia**, v. 3, n. 2, 2019.

NIKNEJAD, H; *et al.* Amniotic Membrane in Wound Healing: A Systematic Review. **Cell and Tissue Banking**, v. 19, n. 1, p. 1–17, 2018.

NINAN, N.; MUTHIAH, M.; PARK, I.; WUI, T.; GROHENS, Y. Natural Polymer / Inorganic Material Based Hybrid Scaffolds for Skin Wound Healing. **Polymer Reviews**, v. 55, n.3, p. 453-490, 2015.

NOGUEIRA, B. L; *et al.* Os curativos a base de prata e sua eficácia em queimaduras: uma revisão integrativa / Silver-based dressings and their effectiveness in burns: an integrative review. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 8535–8556, 2022.

NUNES, N. OLIVEIRA, I R. Produção de membranas pela combinação de polímeros naturais e de base biológica por eletrofição. **XXVII Encontro Latino-Americano de Iniciação Científica**, v. 27, 2023.

OLIVEIRA, A. C; *et al.* Qualidade de vida de pessoas com feridas crônicas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 32, n. 2, p. 194–201, 2019.

OLIVEIRA, F. P; *et al.* Ação antimicrobiana do fator de crescimento epidérmico em feridas: revisão integrativa: Antimicrobial action of epidermal growth factor in wounds: integrative review. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 78, n. 16, 2016.

PAPAIORDANOU, F. et al. Colágeno e pele: da estrutura às evidências de sua suplementação oral. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 14, 2022.

PEDROSO, P. D. C. Produção de curativo biopolimérico bicamada composto de gelatina e eletrofiado com poliácido láctico. **UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**, 14 dez. 2023.

PIRES, D. M; *et al.* Classificação de feridas com ênfase em acometimentos na espécie equina. **Revista de trabalhos acadêmicos – Centro Universo Juiz de Fora**, v. 17, 2023.

POLTRONIERI, L. A. E; SILVA, P. H. C. **Avaliação do efeito cicatrizante de membranas eletrofiadas de nanoquitosana, colágeno, queratina e ácido hialurônico em feridas de pele em modelo animal.** Trabalho de curso (bacharelado - Medicina) - Universidade Federal do Paraná, Campus Toledo, Medicina, 2024.

QUEIROZ, B. B; TOMAZ, A. F. eficácia do curativo de quitosana na cicatrização: uma revisão integrativa. **TEMA - Revista Eletrônica de Ciências (ISSN 2175-9553)**, v. 21, n. 34, 2021.

RAMALHO, M. P; *et al.* PLANTAS MEDICINAIS NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Expressão Católica Saúde**, v. 3, n. 2, p. 64, 2018.

RAMOS, T. N. L. **MANEJO E TRATAMETO DE FERIDAS: REVISÃO DE LITERATURA**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal da Paraíba, 2021.

RANGEL, A; MORESCHI, T. Feridas crônicas comprometem a qualidade de vida de 5 milhões de brasileiros, especialmente idosos. **Revista Feridas**, v. 44, n. 8, 2020.

RASHKI, S. *et al.* Chitosan-based nanoparticles against bacterial infections. **Carbohydrate polymers**, v. 251, p. 117108, 2021.

RIBEIRO, G S C; *et al.* Pacientes internados com feridas crônicas: um enfoque na qualidade de vida. **Enfermagem em Foco**, v. 10, n. 2, 2019.

RICCO, F. G; AQUINO JÚNIOR, D. S. Uso de óleo ozonizado em feridas: Relato de caso. **Pubvet**, v. 16, n. 1, p. 1–5, 2022.

RODRIGUES, C. F; BEZERRA, S. M. G; CALÇADA, D. B. Sistemas computacionais para auxílio na cicatrização de feridas: revisão de escopo. **Estima – Brazilian Journal of Enterostomal Therapy**, v. 21, n. 21, 2023.

ROGERO, S. O; *et al.* Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, p. 317–320, 2003.

ROSENDO, R. A; *et al.* Estruturas de quitosana utilizadas para regeneração óssea in vivo: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e891974538–e891974538, 2020.

RUIZ, P. B. O; LIMA, A. F. C. Average direct costs of outpatient, hospital, and home care provided to patients with chronic wounds. *Rev Esc Enferm USP*. 2022;56:e20220295. <https://doi.org/10.1590/1980-220X-REEUSP-2022-0295en>.

SANTOS, C. A. **O derivado de ftalocianina é menos citotóxico e não influencia negativamente a cicatrização in vitro de feridas comparado à clorexidina**. [s.l.] UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 18 out. 2022.

SANTOS, D. M. D. Materiais não tecidos à base de poli(ε-caprolactona)/cloreto de N-(2-hidroxil)-propil-3-trimetilamônio quitosana: Desenvolvimento por Eletrofiação, Caracterização Físico-Química e Avaliação citotóxica in vitro. **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**, 2018.

SANTOS, J. M. D. Efeito antibacteriano in vitro de quitosanas e nanoquitosana. **Universidade Federal do Paraná**, 2022.

SCHMITZ, N. *et al.* Basic methods in histopathology of joint tissues. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 18, p. S113–S116, 1 out. 2010.

SEJAS, L. M; *et al.* Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 39, p. 27–35, 2003.

SEROLI, A. K. Propriedades anticancerígenas da Curcumina. 2020. Número total de 28 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Nutrição – **Centro Universitário Anhanguera Campus Marte**, São Paulo, 2020.

SHARMA, S. *et al.* Collagen-based formulations for wound healing: A literature review. **Life sciences**, v. 290, p. 120096, 2022.

SILVA, A. C. *et al.* Tratamento de queimaduras de 2º grau com Ácido Hialurônico 0,2%: Revisão integrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 9, p. e5512943161–e5512943161, 13 set. 2023.

SILVA, B. R. S. **Filmes poliméricos contendo derivados de curcumina: avaliação das propriedades fotofísicas e do potencial de aplicação em terapia fotodinâmica.** [s.l: s.n.] 2025.

SILVA LEITE, F. A; BRITO, A. S. A. Curativos de prata no tratamento de feridas exsudativas - uma revisão sistemática. **Revista Feridas**, v. 9, n. 46, p. 1682–1689, 2021.

SILVA, A P. R; *et al.* O uso do Ácido Hialurônico para a cicatrização de feridas: revisão integrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e58711528581, 2022.

SILVA, F. M; *et al.* Uso de fototerapia para cicatrização de feridas de pés diabéticos. **Hegemonia**, v. 27, n. 27, p. 20–20, 2019.

SMANIOTTO, P. H. S; *et al.* Tratamento clínico das feridas - curativos. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 3/4, p. 137, 2010.

SMANIOTTO, P. H. S; *et al.* Sistematização de curativos para o tratamento clínico das feridas. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 27, n. 4, p. 623–626, 2012.

SOUZA, A. Q. L; *et al.* Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogensbentham*. *Acta Amazonica*, 185-195 p. v.34, 2004).

STRATMANN, B; *et al.* Effect of Cold Atmospheric Plasma Therapy vs Standard Therapy Placebo on Wound Healing in Patients with Diabetic Foot Ulcers. **JAMA Network Open**, v. 3, n. 7, p. e2010411, 2020.

TAFFAREL, J. V; TAKAHASHI, P. A. **Efeito cicatrizante de membranas eletrofiadas de nanoquitosana, nanocelulose e tanino em feridas de pele avaliado em modelo animal.** Trabalho de curso (bacharelado - Medicina) - Universidade FEDERAL DO PARANÁ, CAMPUS TOLEDO, MEDICINA, 2023.

TEIXEIRA, M. G. D. et al. As propriedades biológicas da curcumina: uma revisão de literatura. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, v. 3, n. 3, 2022. <https://doi.org/10.51161/rem/3519DOI>

VIADANNA, I. C. B. a família dos colágenos como elemento de matriz extracelular no desenvolvimento e progressão do câncer de próstata. **UNiversidade Estadual De Campinas Instituto De Biologia**, 2023.

VIEIRA SOUZA, T.; MALMONGE, S.M.; SANTOS JR., A. R. Síntese e caracterização de termogel a base de quitosana/ácido hialurônico aplicada a engenharia de tecido cartilaginoso. **Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais**, v. 6, 2019.

VIEIRA, Ana Laura Gomide; STOCCO, Janislei Giseli Dorociaki; RIBEIRO, Anna Carolina Gaspar; *et al.* Dressings used to prevent surgical site infection in the postoperative period of cardiac surgery: integrative review. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 52, n. 52, 2018.

VIEIRA, Naiara Ribeiro; MOTA, Francisco Claudio Dantas; AKIBA, Isabele Yukie ; *et al.* Avaliação da membrana de Colágeno Tipo II na cicatrização de feridas cutâneas excisionais em ratos Wistar. **revistas.ufpr.br**, v. 27, n. 3, 2022.

Feridas e o Processo de Cicatrização Dicas de Saúde –. farmaceuticodigital.com. Disponível em: <<https://farmaceuticodigital.com/2021/03/feridas-e-o-processo-de-cicatrizacao.html#As-Feridas-e-o-Processo-de-Cicatrizacao>>. Acesso em: 8 nov. 2023.

WEN, S; *et al.* Multifunctional Nanofiber Membranes Constructed by Microfluidic Blow-Spinning to Inhibit Scar Formation at Early Intervention Stage. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 16, n. 39, p. 53042–53059, 2024.

YAMMINE, K; HAYEK, F; ASSI, C. Is there an association between vitamin D and diabetic foot disease? A meta-analysis. **Wound Repair and Regeneration**, v. 28, n. 1, p. 90–96, 2019.

ZENG, Q *et al.* Wound Dressing: From Nanomaterials to Diagnostic Dressings and Healing Evaluations. **ACS Nano**, v. 16, n. 2, p. 1708–1733, 2022.

ZHONG, Y; *et al.* Novel Biomaterials for Wound Healing and Tissue Regeneration. **ACS Omega**, v. 9, n. 30, 2024.

ZAKALUK, I. C. B. **Tratamento com plasma frio na produção de sistemas multicamadas sustentáveis**. Curitiba - PR: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, 8 mar. 2024.

ANEXO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Nº 1646

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), instituída pela Resolução Nº 86/11 do Conselho de Ensino Pesquisa e Extensão (CEPE), de 22 de dezembro de 2011, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal.

STATEMENT

The Ethics Committee for Animal Use from the Biological Sciences Section of the Federal University of Paraná (CEUA/BIO – UFPR), established by the Resolution Nº 86/11 of the Teaching Research and Extension Council (CEPE) on December 22nd 2011, **CERTIFIES** that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the Brazilian Guidelines for Care and Use of Animals for Scientific and Teaching purposes established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and with the international guidelines for animal experimentation.

PROCESSO/PROCESS: 23075.043043/2024-97

APROVADO/APPROVAL: 10/12/2024 – R.O. 11/2024

TÍTULO: Produção, caracterização e avaliação do potencial de membranas de nanoquitosana associada a ácido hialurônico, curcumina e colágeno para cicatrização de feridas de pele avaliado em modelo animal.

TITLE: Production, characterization and evaluation of the potential of nanochitosan membranes associated with hyaluronic acid, curcumin and collagen for healing skin wounds evaluated in an animal model.

AUTORES/AUTHORS: Juliana Bernardi Wenzel, Rafael Messias Luiz, Gabriel dos Santos Oliveira, Janiele Staianov, Jeiciele Mayara Rodrigues Struz, Jean Rafael da Silva.

DEPARTAMENTO/DEPARTMENT: UFPR - Toledo.

Coordenador(a) da CEUA



Documento assinado eletronicamente por **ANGELA CRISTINA DA FONSECA DE OLIVEIRA, INSTITUCIONAL**, em 23/12/2024, às 11:29, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **JANAINA MENEZES ZANOVELI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 29/12/2024, às 20:31, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **7390734** e o código CRC **0AFDBF0B**.