

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – CAMPUS DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE – MESTRADO

EDICLEIA DE FREITAS

**SERICINA: REVISÃO E EFEITOS DO BIOCURATIVO NA CICATRIZAÇÃO DE
FÉRIDAS NA PELE**

CASCAVEL / PR
JULHO, 2022

EDICLEIA DE FREITAS

**SERICINA: REVISÃO E EFEITOS DO BIOCURATIVO NA CICATRIZAÇÃO DE
FERIDAS NA PELE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde – Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Área de concentração: Processo Saúde Doença.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Rose Meire Costa

CASCAVEL-PR

JULHO, 2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Freitas, Edicleia

SERICINA: REVISÃO E EFEITOS DO BIOCURATIVO NA
CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS NA PELE / Edicleia Freitas;
orientadora Rose Meire Costa . -- Cascavel, 2022.
110 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) --
Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências
Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em BioCiências
e Saúde, 2022.

1. Queimaduras. 2. Cicatrização . 3. Sericina . 4.
Feridas. I. Meire Costa , Rose , orient. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

EDICLEIA DE FREITAS

SERICINA: REVISÃO E EFEITOS DO BIOCURATIVO NA CICATRIZAÇÃO

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientadora: Profa. Dra. Rose Meire Costa

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

Profa. Dra. Andréia Cristina Conegero Sanches

Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE

Prof. Dr. Ivo Ilvan Kerppers

Universidade Estadual do Centro Oeste – UNICENTRO

CASCAVEL-PR

Julho/2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

A Deus pelo dom da vida, pelo discernimento e pela sabedoria para conduzir a pesquisa mesmo diante de tantos desafios durante o período de pandemia.

À minha família, especialmente à minha maior incentivadora, minha mãe Sirlei Gonçalves Freitas.

Ao meu pai que partiu precocemente, mas deixou tantos ensinamentos.

À minha irmã Edinara Freitas por sempre acreditar e confiar no meu potencial.

Ao meu amado esposo Flávio Rovaris, por nossa parceria de vida, pela cumplicidade e pela paciência durante nossa caminhada.

Às amigas do laboratório Ana Caroline Retameiro, Lilian Pradal e Thais Schnauffer, já que, com elas, tudo ficou mais leve. Houve momentos de dificuldade, mas as risadas e o bom humor sempre predominaram. Obrigada pela parceria.

À minha orientadora Prof^a Dra. Rose Meire Costa, por me escolher e acreditar em meu potencial, no ano de 2018. Muito obrigada por todo o acolhimento nos momentos de dificuldade, pelas reuniões nos horários alternativos, pela paciência, pelos ensinamentos e pelas orientações preciosas.

Ao Prof. Dr. Gladson Ricardo Flor Bertolini, por toda ajuda na parte estatística.

À Profa. Dra. Lucinéia de Fátima Chasko Ribeiro, pelo incentivo e apoio.

À Profa. Dra. Taciane Stein, por todos os ensinamentos para meu experimento

À Profa. Dra. Ana Paula Sone e ao Prof^a Dr Marcelino Luiz Gimenes, pela confecção dos biocutativos para a pesquisa.

À técnica de laboratório Celeste, por todo o aprendizado prático durante as atividades laboratoriais.

Por fim, agradeço ao programa de pós-graduação em Biociências e Saúde e Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela oportunidade da realização desta

pesquisa. E à Capes, pela concessão da bolsa de estudos. Muito obrigada por confiarem em mim.

RESUMO

FREITAS, E. **SERICINA: REVISÃO E EFEITOS DO BIOCURATIVO NA CICATRIZAÇÃO**. 110 páginas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus de Cascavel, Unioeste, 2022.

A sericina é uma proteína produzida pelo bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), e utilizada na construção do casulo de seda. Apresenta uma constituição de aminoácidos (semelhante às proteínas do extrato córneo da pele humana), com propriedades hidratantes, de biocompatibilidade. Auxilia nos processos de migração e proliferação, com potencial aplicação para o tratamento de feridas na pele. Dependendo da gravidade da ferida, pode ocorrer comprometimento na integridade funcional do órgão, como em casos de queimaduras. A busca por tratamentos, cada vez mais efetivos voltados à melhora no processo de cicatrização, tem sido uma constante, e as pesquisas com o uso da sericina se apresentam como alternativa nesse processo. Assim, essa pesquisa teve como objetivos analisar as propriedades cicatrizantes de um biocurativo de sericina no tratamento de feridas provocadas por queimaduras e agrupar evidências do uso clínico da sericina na cicatrização de feridas, especialmente queimaduras, por meio de revisão sistemática. Tal revisão foi efetuada nas bases de dados *PubMed*, *Science Direct*, *Lilacs*, *Scopus*, *Web of Science* e *Google Scholar*, com o uso dos descritores na língua inglesa *sericin*, *wound healing*, e *clinical trial* sem limitação de idiomas e período de publicação. Foram incluídos ensaios clínicos randomizados que utilizaram a proteína sericina na composição dos tratamentos de feridas de pele, independentemente do tipo de ferida, etiologia, local, idade e sexo dos participantes, sendo excluídos estudos que não se enquadraram nesses critérios. O estudo experimental foi desenvolvido com 40 ratos *Wistar*, separados aleatoriamente em quatro grupos: controle (com pele íntegra); queimado (pelo calor e não tratado); queimado (tratado com curativo Aquacel Ag®); e queimado (tratado com biocurativo de sericina). A queimadura foi realizada na região interescapular, com 1,5 x 1,5 cm de diâmetro. Após 13 dias de experimento, os animais foram eutanasiados. Foi retirado o segmento da pele que seguiu o processamento histológico de rotina, colorações pela hematoxilina e eosina, como também o tricrômico de Masson para avaliações microscópicas. Na pesquisa de revisão, foram incluídos quatro estudos, todos realizados na Tailândia. Três deles trataram feridas de áreas doadoras e apenas um de feridas provocadas por queimaduras. Esses estudos usaram curativos previamente desenvolvidos e pomada de sulfadiazina de prata com adição de sericina, respectivamente. A sericina se mostrou eficiente na repitelização e, em alguns trabalhos, a proteína da seda apresentou melhores índices nas escalas de dor, sem relatos de reações adversas ou complicações. Os resultados do experimento evidenciaram que o biocurativo de sericina apresentou resultados similares ao Aquacel Ag® para espessura de epiderme e quantificação do tecido conjuntivo indicando potencialidade no tratamento de feridas por queimaduras. A reepitelização e neoangiogenese não apresentaram diferenças entre os grupos tratados, fato achado no grupo tratado por biocurativo de sericina por ter sido influenciado pelo aumento significativo infiltrado inflamatório. Conclui-se,

então, que existe uma carência nos ensaios clínicos que usem a sericina. E, com base nos estudos existentes, o biopolímero da seda apresenta boa segurança e biocompatibilidade. No estudo experimental o biocurativo de sericina apresentou potencial aplicação na cicatrização de feridas por queimadura, verificado pela ação na replicação dos queratinócitos e aumento no conjuntivo, sendo necessários estudos adicionais com lesões menos profundas.

Palavras-Chaves: Queimaduras; Feridas; Cicatrização; Sericina.

ABSTRACT

FREITAS, E. **SERICINA: REVISÃO E EFEITOS DO BIOCURATIVO NA CICATRIZAÇÃO.** 110 páginas. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus de Cascavel, Unioeste, 2022.

Sericin is a protein produced by the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), and used in the construction of the silk cocoon. A human skin damage treatment application features, with moisturizers, biocompatibility, resources in the adaptation and adaptation processes, and application resources for skin wound treatment. The severity of the severity of the injury can occur in the functional safety of the organ, as in cases of risk. Increasingly effective search for being a constant improvement in the process, and research with the alternative use as an alternative process. In this sense, a curative treatment of sericin, for the treatment of separation, especially for the treatment of clinical treatment, especially for the treatment of scarring, especially for the treatment medium, were studied as research objectives. The review was carried out in PubMed, Science Direct, Lilac, Scopus, Web of Science and Google Scholar databases, using the English descriptors sericin, wound healing and clinical trial without language or publication period limitation. These were randomized clinical trials that used independent studies of skin wound treatments, in wound type, local protein, age and sex of the participants, excluding those who did not meet these criteria. The experimental study was carried out with 40 Wistar rats, randomly divided into four groups: control, with intact skin; burned, received heat induction and not treated; burnt, treated with Aquacel Ag® dressing; and burned, treated with sericin biodressing. The burn was performed in the interscapular region, measuring 1.5 x 1.5 cm in diameter. After 13 years of the experiment, the skin segment that 13 animals were euthanized after routine histological processing, stains by the line and eosinascopic and eosinascopic Masson for microscopic estimates. n the review research, four studies were included, all conducted in Thailand, three treated wounds from donor areas and only one from wounds caused by burns, the studies used previously developed dressings and silver sulfadiazine ointment with sericin addition, respectively. Sericin proved to be efficient in re-epithelialization and, in some studies, silk protein showed better indexes in pain scales, with no reports of adverse reactions or complications. The results of the experiment showed that the sericin biocurative presented similar results to Aquacel Ag® for epidermis thickness and connective tissue quantification, indicating potential in the treatment of burn wounds. Re-epithelialization and neoangiogenesis showed no differences between the treated groups, this finding in the group treated with sericin biodressing as it was influenced by the significant increase in inflammatory infiltrate. It is concluded that there is a lack of clinical trials that use sericin, but that, based on existing studies, the silk biopolymer has good safety and biocompatibility. In the experimental study, the sericin biodressing showed potential application in the healing of burn wounds, verified by the action on the replication of keratinocytes and increase in the connective tissue, requiring additional studies with less deep injuries.

Keywords: Burns; Wounds; Healing; Sericin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Organização geral da pele.....	22
Figura 2- Estratos da epiderme.....	23
Figura 3 - Unidade proliferativa epidérmica ..	24
Figura 4- Profundidade das queimaduras	30
Figure 5- Zonas da lesão por queimaduras.	31
Figura 6 - Instrumento adaptado.....	40
Figura 7 - Biocurativo de sericina.....	41
Figura 8 - Animais com colete.....	41
Figura 9 - Locais para medidas da espessura da epiderme.....	43
Figura 10 - Contagem de vasos e infiltrado inflamatório.....	44

Lista de Tabelas

Tabela 1- Divisão dos grupos.....	39
-----------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CEUA - Comitê de Ética Animal

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

ERO - Espécies Reativas de Oxigênio

FNT- Fator de Necrose Tumoral

G1 - Grupo Controle

G2 - Grupo Lesão sem Tratamento

G3 - Grupo Aquacel Ag®

G4 - Grupo Biocurativo de Sericina

HE - Hematoxilina-eosina

IL - Interleucina

KRT - Queratina

LABEF - Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional

LELRF - Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos

MNF - Fatores de Hidratação Natural

RNA - Ácido Ribonucleico

TAC - Célula Amplificadora Transitória

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo Geral	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3 REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1 Pele: Características gerais	20
3.2 Epiderme	22
3.3 Derme	27
3.4 Feridas Na Pele: Queimaduras	29
3.4.1 Tratamentos de Queimaduras	32
3.5 Sericina	35
4 METODOLOGIA	38
4.1 Revisão sistemática: delineamento	38
4.2 Estudo experimental: delineamento	39
4.2.1 Indução da Queimadura	40
4.2.2 Tratamentos	41
4.2.3 Morfologia Microscópica	42
4.2.4 Espessura da epiderme	43
4.2.5 Quantificação de vasos e infiltrado inflamatório	44
4.2.6 Avaliação da Formação de Colágeno	45
4.2.7 Análise estatística	45
5 Artigo 1	47
6 artigo 2	62

7 Conclusões finais	80
REFERÊNCIAS Gerais	81
ANEXO 2	90
ANEXO 3	92
aANEXO 4.....	93
Online Submission.....	93
ANEXO 5	108

1 INTRODUÇÃO

As feridas na pele são causadas por interrupções em suas estruturas (Shi *et al.*, 2020). Quando ocorrem de forma traumática, podem variar desde pequenas lesões superficiais a feridas extensas, atingindo estruturas mais profundas. Geralmente, a extensão do dano é influenciada pelo mecanismo da lesão podendo ser por trauma penetrante, esmagamento, mordida de animais ou queimaduras (IHEOZOR-EJIOFOR, *et al.*, 2018).

As queimaduras podem ser causadas por agentes térmicos, elétricos, químicos ou radiativos, que levam à violação traumática na continuidade da pele (MANSORES *et al.*, 2020). O Ministério da Saúde estima que, no Brasil, acontece em torno de 1 milhão de acidentes por queimadura anualmente (BRASIL, 2017). Essas elevadas taxas têm grande impacto social, comprometendo a qualidade de vida dos indivíduos, com prejuízos físicos, estéticos, sociais e psicológicos (COUTRO, 2020; OMS, 2020).

O tratamento de feridas provocadas por queimaduras depende de sua gravidade e deve ser adaptado à necessidade de cada paciente, de forma a se reduzir o tempo de tratamento e a hospitalização, buscando o bem-estar. Para isso, deve ocorrer um equilíbrio de fatores que afetam a cicatrização no local lesionado, como controle da inflamação e do edema, que, em excesso ou em períodos prolongados, são prejudiciais à recuperação, e à redução do risco de infecção (COUTRO, 2020; ROWAN *et al.*, 2015).

Nas queimaduras, especial atenção ocorre no controle das infecções, o que contribui para a redução no tempo de fechamento da ferida e de recuperação funcional total (ROWAN *et al.*, 2015). A pomada de sulfadiazina de prata é o medicamento tópico mais utilizado no tratamento de feridas por queimadura devido às suas características bactericidas, aliado ao seu baixo custo e à grande disponibilidade. Entretanto, Kempf, Kimble e Cuttle (2011) relataram que a pomada apresenta liberação rápida da prata nas feridas, exigindo várias reaplicações diárias, expondo a ferida a agentes infecciosos, o que causa retardo na reepitelização. Diante disso, os curativos com liberação lenta vêm apresentado melhores resultados na cicatrização de feridas por queimaduras do que nas feridas tratadas com pomadas, precisando de

menos trocas diárias, o que proporciona menor trauma no leito da ferida e reduz o tempo de exposição (NÍMIA *et al.*, 2018).

No intuito de melhorar a cicatrização e reduzir o tempo para restaurar lesões por queimadura, curativos como Aquacel Ag®, que combinam hidrofibra de carboximetilcelulose e prata, têm se destacado por apresentar formulação com liberação lenta, prolongada e controlada de substâncias; que, no caso da prata, assegura sua propriedade antimicrobiana e minimiza os efeitos negativos na cicatrização do epitélio. De acordo com estudo de revisão, Silva *et al.* (2020) evidenciaram que, nos últimos anos, esses tratamentos apresentaram um grande avanço e, para que esse progresso continue, é necessário que as investigações, por meio de novos estudos, sigam acontecendo, na busca por novas evidências e aprimorando tipos de curativos a serem implementados ao tratamento de pacientes queimados (SILVA *et al.*, 2020; BARNEA; WEISS; GUR, 2010).

Substâncias naturais têm despertado o interesse como formas alternativas de tratamento para queimaduras, principalmente devido ao aumento da resistência aos antibióticos (HIXON *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2019; RAHMAN; CARTER; BHATTARAI, 2017). Nessa busca, verificou-se que o biopolímero sericina, extraído do casulo do bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), tem potencial aplicação no tratamento de lesões na pele, devido às propriedades hidratantes e à biocompatibilidade da molécula, além de apresentar uma constituição de aminoácidos semelhante à das proteínas presentes no estrato córneo da pele (KUNZ *et al.*, 2016).

Siritientong *et al.* (2013) utilizaram biocurativo de sericina em pele íntegra de 110 voluntários saudáveis, para teste de contato. Os resultados demonstraram segurança, visto que não ocorreram evidências de irritação de pele. Achado semelhante foi relatado em ensaio clínico conduzido por Napavichayanun *et al.* (2018). Além disso, os autores verificaram menor tempo de cicatrização, em áreas doadoras de enxerto com o uso de biocurativos de sericina comparado a curativos padrões.

Estudo experimental *in vitro* e *in vivo* com queimaduras, em que foi utilizado biocurativo com sericina, evidenciou seu desempenho bactericida, com redução de células inflamatórias, melhor deposição de fibras de colágeno e menor tempo de cicatrização (BAKHSHESHI-RAD *et al.*, 2020). Enzimas de defesa antioxidante, como a glutaciona peroxidase, superóxido dismutase e catalase, foram encontradas por

meio de análises bioquímicas que utilizaram gel com sericina para tratamento de feridas cutâneas (ERSEL *et al.*, 2016).

Sone *et al.* (2021) desenvolveram um biocurativo não convencional, com potencial bioterapêutico para o tratamento de queimaduras, formulado com glicerol sulfadiazina de prata e sericina. Os resultados evidenciaram poder de inibição em microrganismos, capacidade de manter a hidratação e boas propriedades físicas do biocurativo, apresentando maleabilidade, o que facilita no momento de remoção.

Mesmo considerando os estudos que evidenciaram características cicatrizantes e curativas da sericina, torna-se necessário ampliar evidências de sua utilização no tratamento de feridas por queimaduras, em especial seu papel na reepitelização. Ainda, as propriedades físico-químicas da sericina, que afetam sua funcionalidade, são diretamente influenciadas pela linhagem de *B. mori*, pela qualidade das folhas da amoreira que as lagartas são alimentadas, pelo clima e pelos métodos de extração da molécula (KUNZ *et al.*, 2016; RUTH *et al.*, 2019). Por esse motivo, a presente pesquisa tem como objetivo analisar propriedades cicatrizantes do biocurativo de sericina formulado por Sone *et al.* (2021) com o curativo comercial Aquacel Ag® no tratamento de feridas provocadas por queimaduras.

O biocurativo, que combina sericina, sulfadiazina de prata e glicerol, apresentou boa maleabilidade e capacidade de manter a hidratação, características importantes para o tratamento de queimadura, facilitando a remoção e troca de curativos. Também demonstrou liberação lenta da prata com efeitos contra microrganismos (SONE *et al.*, 2021). Sendo assim, buscando uma melhor elucidação sobre o biocurativo de sericina, este trabalho tem como pergunta de pesquisa: quais são os efeitos do biocurativo de sericina na cicatrização de feridas provenientes de queimaduras?

Paralelamente ao estudo experimental, fez-se necessário um levantamento de estudos clínicos que utilizaram o biopolímero sericina nas formulações nos tratamentos de feridas, em especial, por queimaduras. O objetivo dessa busca é levantar evidências sobre a eficácia e os efeitos de intervenções clínicas. Os resultados encontrados, somados a este, podem nortear para ensaios clínicos futuros com uso de sericina obtida de linhagem brasileira.

Com base nas informações acima, esta pesquisa parte da hipótese de que, devido às propriedades de biocompatibilidade e biodegradação, o biocurativo de

sericina se apresenta como potencial agente cicatrizante de feridas decorrentes de queimaduras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Analisar propriedades cicatrizantes de um biocurativo de sericina no tratamento de feridas por queimadura e gerar evidências do uso clínico da sericina na cicatrização de feridas.

2.2 Objetivos Específicos

- Levantar evidências sobre a eficácia e os efeitos de intervenções clínicas do uso do biopolímero sericina no tratamento de feridas, em especial as provenientes de queimaduras;

- Mensurar as dimensões das feridas por queimadura nos animais dos grupos experimentais;

- Avaliar alterações na espessura da epiderme dos animais dos grupos experimentais;

- Quantificar, na derme, a presença de vasos sanguíneos, infiltrado inflamatório e tecido conjuntivo destes animais.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PELE: CARACTERÍSTICAS GERAIS

A pele é o maior órgão do corpo humano, representando 15% a 20% do peso corporal. Desempenha múltiplas funções, como a proteção do organismo contra a desidratação, atritos e microorganismos indesejáveis. Colabora na termorregulação do corpo, na excreção de substâncias, na proteção contra raios ultravioleta e recebe informações sensitivas do ambiente que são levadas até o sistema nervoso central (WONG; CHANG, 2009; JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017).

Mamíferos apresentam a pele organizada em epiderme, derme (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017) e hipoderme (BRANDNER, SCHULZKE, 2015; BÄSLER; BRANDNER, 2016) como visualizado na FIGURA 01. Embrionologicamente, a epiderme e seus anexos (como pelos, glândulas da pele e unhas) desenvolvem a partir do ectoderma, e a derme e a hipoderme surgem do mesoderma. Na quarta semana de desenvolvimento embrionário, o embrião é envolto por uma única camada de ectoderma. Abaixo desse epitélio simples, ocorre uma camada de mesoderma indiferenciado, o mesênquima. Com aproximadamente seis semanas, o ectoderma e o mesoderma subjacente começam a proliferar e a diferenciar. Folículos pilosos, unhas e glândulas iniciam o desenvolvimento no terceiro mês e, ao término do terceiro mês, fibras de colágeno organizadas aparecem na derme. O tecido conjuntivo embrionário, abaixo da derme, se desenvolve na camada subcutânea caracterizado por ilhotas de gordura (HU *et al.*, 2018)

Hipoderme, camada mais profunda da pele localizada abaixo da derme e acima do músculo subjacente, é constituída por tecido conjuntivo frouxo rico em adipócitos dispostos em lóbulos e separados por septos do conjuntivo. Essa gordura subcutânea apresenta variação anatômica e individual, o que reflete o estado nutricional; quando desenvolvida, forma o panículo adiposo que modela o corpo, armazena energia e atua na termoregulação (BÄSLER; BRANDNER, 2016).

A derme é composta por duas camadas de tecido conjuntivo estruturalmente distintas, a papilar e a reticular. A camada papilar é relativamente fina (localizada abaixo da epiderme) e apresenta uma delicada rede de fibras colágenas (tipo I e III, principalmente), além de uma rede irregular de fibras elásticas, que proporcionam

elasticidade e estabilidade. Ainda, nela, há vasos sanguíneos e nervos. A camada reticular é mais espessa e menos celularizada que a camada papilar e se localiza logo abaixo desta. O conjuntivo se caracteriza pela presença de feixes espessos e irregulares de colágeno, em especial do tipo I, e por fibras elásticas mais espessas. Essas fibras proteicas formam linhas regulares de tensão na pele, denominadas linhas de Langer (BÄSLER; BRANDNER, 2016; JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017).

A principal população celular da derme são os fibroblastos que sintetizam e secretam colágeno (BÄSLER; BRANDNER, 2016), além de outros tipos celulares como as células do sistema imunológico, mastócitos e macrófagos. Na derme, existe uma rica vascularização sanguínea e linfática, essenciais à sobrevivência da epiderme, bem como receptores sensoriais, compartimentos dérmicos de folículos capilares e glândulas (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

A epiderme é constituída de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e se apresenta fortemente aderida à derme, pela membrana basal. Tal membrana é composta por integrinas, lamininas, colágenos e outras proteínas que desempenham papéis importantes na regulação da interação epitelial mesenquimal (WONG; CHANG, 2009). Além disso, a membrana apresenta duas regiões, uma mais superficial, a lâmina lúcida, composta por filamentos de ancoragem que conectam hemidesmossomos da membrana plasmática das células basais, e uma região mais profunda, a lâmina densa, conectada à derme por meio de fibrilas (LOSQUADRO, 2017).

Neste estudo, serão apresentadas a morfologia e a fisiologia da epiderme e derme com suas características e respostas mediante a lesões e queimaduras. Com foco no tratamento de queimaduras de segundo grau, serão também apresentadas a morfologia e a fisiologia da epiderme e derme, mediante a lesões e queimaduras.

Organização geral da pele

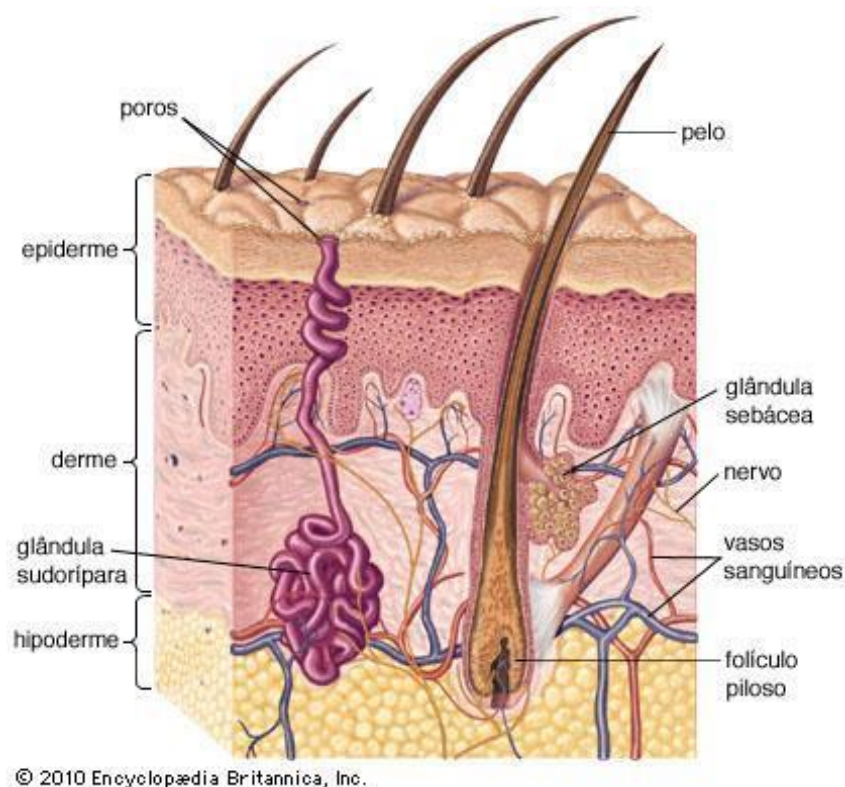


Figura 1- Imagem de esquema representativo das diferentes camadas e anexos da pele.
Fonte: Encyclopedia Britannica, Inc (2010).

3.2 EPIDERME

A epiderme é a camada mais superficial da pele sendo responsável pela cor, textura e umidade (LOSQUADRO, 2017). As células epiteliais mais abundantes são os queratinócitos, que representam cerca de 80% da população celular. Bianconi *et al.* (2013) estimaram, na pele, uma população de $1,69 \times 10^{11}$ queratinócitos, estando presente também outros tipos celulares, como os melanócitos ($\approx 3\%$), com $3,8 \times 10^9$, os quais conferem a pigmentação (cor) da pele; as células de Langerhans, $2,58 \times 10^9$ ($\approx 4\%$), as quais atuam na defesa contra agentes infecciosos; e as células de Merkel, $3,62 \times 10^9$ ($\approx 1\%$), as quais são responsáveis pela sensibilidade tátil.

Os queratinócitos estão distribuídos em camadas ou estratos, cujo formato e grau de diferenciação variam conforme o estrato em que se encontram (LOSQUADRO, 2017; TORTORA; DERRICKSON, 2010), assim ocorrem os estratos basal, espinhoso, granuloso e córneo (Figura 02). A migração de um queratinócito por

todos os estratos leva em torno de quatro semanas. Esse processo de migração e diferenciação celular é constante e garante a renovação dos queratinócitos (WONG; CHANG, 2009). Cada estrato possui uma diferenciação gradual preparada para atender diferentes funções (BÄSLER; BRANDNER, 2016).

Estratos da epiderme

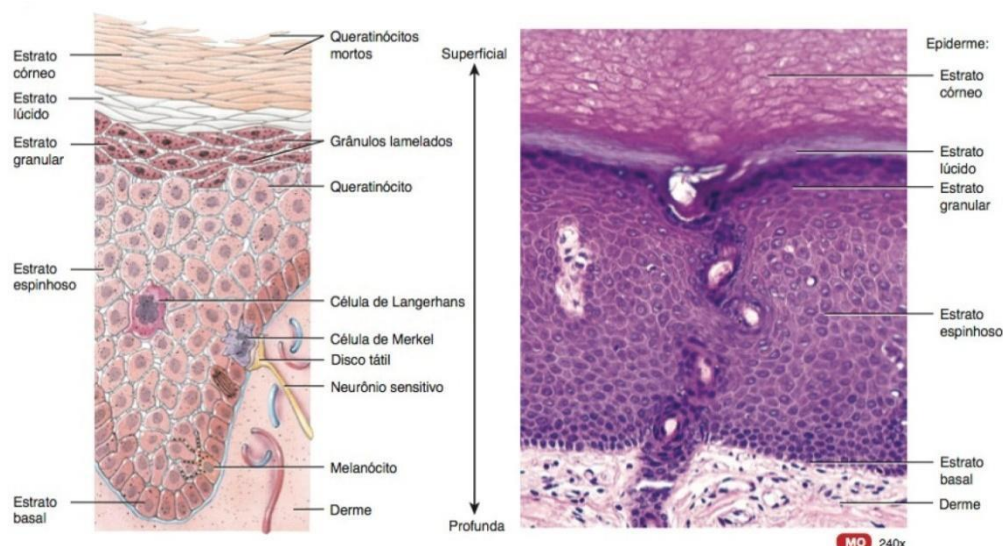


Figura 2- Imagem dos estratos da epiderme, apresentado em modelo esquemático (A) e na fotomicrografia (B). Fonte: Tortora; Nelson (2010).

O estrato basal ou germinativo é o mais profundo, em contato com a derme, composto de uma única fileira de queratinócitos, em formato colunar ou cúbico, além da presença de células tronco, com atividade mitótica que asseguram a renovação tecidual (BÄSLER; BRANDNER, 2016). Uma das células-filhas derivadas de sua divisão deixa o nicho, no qual está situada sua progenitora, e se transforma em uma célula amplificadora transitória (TAC- *transit amplifying cells*). As outras células filhas permanecem indiferenciadas, mantendo assim a fonte de renovação do tecido (AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017) (Figura 03).

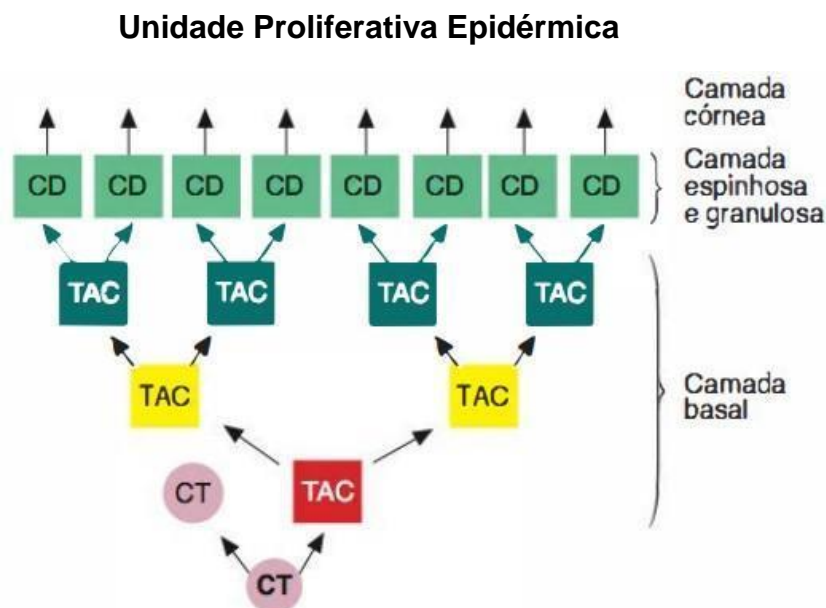


Figura 3 – Modelo esquemático da unidade proliferativa epidérmica. CT= célula tronco; TAC= Célula amplificadora transitória (progenitora); CD= célula diferenciada. Fonte: Azulay; Azulay; Abulafia,(2017).

O estrato espinhoso, acima do basal, apresenta um número variável de camadas constituintes e, também, possui células-tronco, mas as mitoses ocorrem em menor número (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017). Os queratinócitos estão firmemente justapostos, devido à presença de junções intercelulares; os desmossomos, cujas projeções são pontiagudas, conferem um aspecto espinhoso em microscopia e, por isso, responsabilizam-se pela designação desse estrato. Os desmossomos são feixes de filamentos de queratina, os tonofilamentos, entre outros componentes, se aproximam de células mantendo-as unidas (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

Na sequência, ocorre o estrato granuloso, os queratinócitos se apresentam achatados e em processo de apoptose. O núcleo e as organelas começam a se degenerar, o citoplasma se apresenta carregado de grânulos basófilos, chamados de grânulos de querato-hialina, e grânulos lamelares. Estes são vesículas, portanto, envoltas de membrana que acumulam lipídios, os quais são secretados e se depositam no meio extracelular (TORTORA; DERRICKSON, 2010; JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017).

O estrato córneo é a última camada da epiderme, a mais superficial, formada por queratinócitos achatados e mortos, essas células são continuamente descartadas e substituídas por células provenientes da camada subjacente, mais profunda. O

citoplasma é rico em queratina e, no espaço intercelular, estão lipídios provenientes da exocitose dos grânulos lamelares, os quais auxiliam na formação da barreira impermeável à água, eletrólitos e demais substâncias hidrossolúveis, contribuindo contra a penetração de substâncias e impedindo a desidratação do organismo (TORTORA; DERRICKSON, 2010; JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017).

Melanócitos são células epidérmicas que sintetizam e secretam o pigmento melanina, encontram-se no estrato basal, não apresentam mecanismo de adesão com os queratinócitos e se prendem a membrana basal por meio de hemidesmossomos. Esse tipo celular apresenta dendritos que penetram nos queratinócitos dos estratos basal e espinhoso transferindo seus grânulos de melanina, conhecidos como melanossomos. Esses grânulos têm sua mielinização por meio da tirosinase, que, pela oxidação da tirosina, leva à formação da melanina (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017; AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017).

As células de Langerhans são derivadas da medula óssea e estão presentes nos estratos basal, espinhoso e granuloso. São envolvidas em respostas imunológicas, processamento e apresentação de antígenos. Em estágio não ativado, têm ação fagocítica, internalizando antígenos e processando-os, provocando transformação que faz perder seu potencial fagocítico, aumentando sua capacidade apresentadora de antígenos para os linfócitos T e, desse modo, produzem resposta imunológica (KIERSZENBAUM, 2008; AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017).

Células de Merkel são mecanorreceptores que se apresentam entre as células basais e aderidas a elas por desmossomos (KIERSZENBAUM, 2008). Encontradas em maior quantidade nas palmas das mãos e nas plantas dos pés, parecem ser estimuladas pela deformação dos queratinócitos adjacentes provocada por contatos externos (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017; AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017).

Cada estrato da epiderme é definido e diferenciado por sua característica morfológica e bioquímica, desde o estrato germinativo até as células cornificadas do estrato córneo. Um dos principais reguladores que desempenha um papel crítico na regulação da capacidade de auto-renovação e proliferação a longo prazo das células-tronco epidérmicas é o p63 (WONG; CHANG, 2009). Outro gradiente acentuado é o cálcio, que se encontra reduzido nos estratos basal e espinhoso, tendo um pico de concentração no estrato granuloso e queda acentuada do estrato córneo. Essas diferentes concentrações são o principal gatilho da diferenciação.

Durante esse processo, os queratinócitos expressam conjuntos diferentes de filamentos de queratina, que formam heterodímeros entre proteínas ácidas (tipo I) e básicas (tipo II). Quando montados, formam um citoesqueleto tridimensional localizado no citoplasma e ao redor do núcleo (MATSUI; AMAGAI, 2015). Os genes para as queratinas (KRT) 5 e 14 são predominantemente expressas nos queratinócitos basais. No estrato espinhoso, a transcrição de KRT5 e KRT14 diminui e aumenta a de KRT1 e KRT10 (LOSQUADRO, 2017; GOLEVA; BERDYSHEV; LEUNG, 2019) sendo as mais encontradas nos estratos suprabasais. No estrato granuloso, em regiões mais espessas como palmar e plantar, também são expressas as KRT 2e e 9 (KIERSZENBAUM, 2008). Nesse estrato, ocorre a formação dos grânulos de querato-hialina precursora da filagrina (MATSUI; AMAGAI, 2015).

Os grânulos de querato-hialina são gradualmente formados dentro do citoplasma, constituídos de um complexo KRT (principalmente 1 e 10) e uma proteína de ligação, a profilagrina, rica em histidina, glutamato e loricrina. Na transição do estrato granuloso para o córneo, ocorre uma desfosforilação da profilagrina fazendo uma dissociação do complexo dos grânulos de querato-hialina, gerando monômeros de filagrina (MATSUI; AMAGAI, 2015).

Nessa transição, a filagrina desempenha um importante papel, sendo a principal proteína de ligação à queratina no estrato córneo (MATSUI; AMAGAI, 2015). Por meio de um processo catalisado pelas transglutaminases, a filagrina se agrega aos filamentos intermediários de queratina em feixes compactos, levando a um achatamento celular. O complexo queratina-filagrina é depositado na face interna da membrana plasmática formando uma estrutura: o envoltório celular cornificado. Outras proteínas, como a involucrina e loricrina, reforçam esse envoltório. Os grânulos lamelares que aparecem no estrato granuloso liberam um produto lamelar nos espaços intercelulares formando um material lipídico lamelar que resulta em uma estrutura com multicamadas espessas, cobrindo a superfície dos queratinócitos superficiais, proporcionando a barreira impermeável da epiderme.

Decorrente da proteólise da filagrina, originam-se aminoácidos livres e outras pequenas moléculas, que, juntas, conferem a capacidade higroscópica de manter os fatores de hidratação natural da pele (*MNF - natural moisturizing factor*). Os aminoácidos decorrentes têm uma concentração que varia de 30 a 40% nos MNF, sendo um deles a serina (AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017). Estudos demonstram que a exclusão da serina na epiderme resulta na alteração da sua função barreira,

aumentando a permeabilidade da pele e perda de água transepidérmica (INOUE, *et al.*, 2014). As semelhanças nos perfis de aminoácidos entre filagrina e NMF a indicam como única fonte no NMF (MATSUI; AMAGAI, 2015).

3.3 DERME

A derme serve de sustentação para a epiderme, apresenta espessura que varia de acordo com a região do corpo (de 0,6 mm até 3 mm). É constituída por estruturas fibrosas, filamentosas e amorfas que servem de apoio para vasos, nervos e anexos cutâneos. Estruturalmente, é dividida em duas camadas: papilar (superficial) e reticular (profunda) (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017).

A derme papilar é constituída por tecido conjuntivo frouxo, principalmente por fibras elásticas e fibras colágenas tipos I e III. Em sua face externa, estão presentes saliências denominadas cristas ou papilas, que são acompanhadas por reentrâncias da epiderme. Entre essas saliências, ocorre uma interação que une as estruturas dando maior resistência à pele. A derme reticular, fixada à hipoderme, é constituída por tecido conjuntivo denso não modelado, com feixes de fibras colágenas, principalmente do tipo III e fibras elásticas espessas, garantindo a extensibilidade e a elasticidade na região (GARTNER, 2017; TORTORA; DERRICKSON, 2010).

Ambas as camadas apresentam suprimento sanguíneo, sendo responsável pela termorregulação e nutrição, tendo grande contribuição no processo de cicatrização e fenômenos imunológicos. Para isso, existem redes de vasos interconectados distribuídos horizontalmente. Os vasos dos músculos subjacentes originam o plexo inferior, localizado no limite com a hipoderme, deste derivam vasos até o plexo superior ou subpapilar, entre a derme papilar e reticular, dando origem aos capilares das papilas dérmicas. Na derme, os capilares linfáticos também são presentes, além de incluir fibroblastos, mastócitos e macrófagos, como estruturas glandulares, nervosas e folículos pilosos (GARTNER, 2017; KIERSZENBAUM, 2008).

Os fibroblastos são considerados as principais células da derme. Sendo responsáveis pela síntese e degradação das proteínas do tecido conjuntivo, respondendo aos mediadores inflamatórios, podendo ser diferenciado em tipos especializados devido a suas diferentes funções (AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017). Os fibroblastos pequenos e sem atividade metabólica são denominados fibrócitos estando presentes em tecido conjuntivo maduro. Fibroblastos com atividade

fagocítica são chamados de fibroclastos, enquanto os miofibroblastos são derivados dos fibroblastos durante o processo de reparo (KANITAKIS, 2002).

Os mastócitos também desempenham funções na reparação tecidual, sendo considerados uma célula multifuncional pelas diferentes substâncias secretadas, apresentando papel importante na permeabilidade vascular, ação antitumoral, anfigênese e fagocitose. Os macrófagos são células fagocitárias e também estão presentes na derme. Além da presença celular, outras estruturas desempenham papéis importantes e são encontradas na derme, como glândulas, nervos e folículos pilosos. (AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017).

As glândulas são divididas entre sebáceas e sudoríparas, sendo as últimas subdivididas em glândulas écrinas e apócrinas. As glândulas écrinas são tubulosas simples enoveladas, nas quais os ductos se abrem na superfície da epiderme. São formadas por células secretoras, escuras e claras que secretam glicoproteínas e participam no transporte transepitelial de fluidos e sais, respectivamente. Ao contrário das glândulas écrinas, as apócrinas, são enoveladas com tubos secretores maiores e seus ductos excretores se abrem no folículo piloso, tornando-se funcionais a partir da puberdade (KIERSZENBAUM, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017).

As glândulas sebáceas estão distribuídas por quase toda a pele, exceto nas regiões palmar e plantar. A porção secretora da glândula sebácea se encontra na derme sendo constituída por um grupo de alvéolos com gotículas de lipídeos pequenos conectados ao ducto excretor que é localizado no colo do folículo piloso (JUNQUEIRA; CARNEIRO; ABRAHSON, 2017). O sebo secretado impede a desidratação excessiva da pele e evita que a haste superficial do pelo, que se projeta para acima da superfície da pele, fique ressecado e quebradiço (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

Ao contrário da haste, a raiz do pelo é profunda e penetra na derme, ambas estruturas são envoltas por três camadas de células denominadas: medula, córtex e cutícula do pelo. A raiz é envolvida por bainhas internas e externas, formando a porção final, o bulbo, o qual projeta para dentro de sua estrutura a papila dérmica. Nesta região, existem células-tronco de ciclo lento que podem seguir diferentes vias de migração e regenerar a haste do pelo, a epiderme e as glândulas sebáceas (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

Está associado ao folículo piloso, o músculo liso chamado de eretor do pelo, localizado na camada papilar e preso à bainha que envolve o folículo. Sob estresse emocional ou fisiológico, ocorre o estímulo do músculo eretor e o pelo se contrai ficando na posição perpendicular à superfície da pele (GARTNER, 2017).

Em busca de compreender todas essas interações, estudos científicos da pele se utilizam comumente de modelos experimentais e os modelos animais são essenciais para elucidar mecanismos fisiológicos e patológicos dos tecidos de reparo. Tais estudos contribuem para a investigação de tratamentos para cicatrizes (NONG *et al.*, 2019), para efeitos de laser em remodelação tecidual de feridas cirúrgicas (FORTUNA, *et al.*, 2017) ou para queimaduras, entre outros. Os roedores, como os ratos, são os animais mais usados nesses modelos e têm boa aceitação na comunidade científica.

3.4 FERIDAS NA PELE: QUEIMADURAS

Feridas são violações traumáticas na pele que podem ser classificadas como: feridas fechadas (como contusões e fraturas) e feridas abertas (como cortes, lacerações e queimaduras). Os tipos de feridas podem ser diferentes quanto a sua fisiopatologia e tratamento. As queimaduras, foco deste estudo, são feridas que podem ocorrer por meios térmicos, elétricos, químicos ou radiativos e, conforme os agentes causadores, o gerenciamento da lesão poderá ser local ou sistêmico (TIWARI, 2012)

As queimaduras podem ser classificadas de acordo com a sua profundidade: de primeiro grau (que atingem a epiderme e não provocam alterações hemodinâmicas); de segundo grau superficial (que acometem toda a epiderme e parte da derme); de segundo grau profundas (que destroem quase toda a derme e comprometem seus anexos); e de terceiro grau (que acometem todas as camadas da pele). (Figura 04) (MÉLEGA, 2002, TIWARI, 2012; AZULAY; AZULAY; ABULAFIA, 2017).

Profundidade da Queimadura



Figura 4- Representações da profundidade de queimadura. A - queimadura de primeiro grau; B - queimadura de segundo grau e C - queimadura de terceiro grau. Fonte: Naemt (2011).

Em queimaduras superficiais de primeiro e segundo graus, a cura é por intenção primária concluída dentro de cinco a sete dias. Nas de segundo grau superficiais, a cura acontece a partir do epitélio dos restos foliculares capilares que estão na derme. Nas queimaduras de segundo grau profundas e de terceiro grau, a cura é por intenção secundária, que envolve processo de reepitelização e contração (TIWARI, 2012).

A ferida de queimadura pode ser dividida em três zonas (Figura 5), com base na gravidade da destruição dos tecidos e alterações no fluxo sanguíneo. A parte central da ferida sofre mais danos, as proteínas se desnaturam acima de 41°C, o calor excessivo no local resulta em desnaturação, degradação e coagulação de proteínas, levando a necrose do tecido. Ao redor da zona central da coagulação, está a zona de estase ou zona de isquemia, caracterizada pela diminuição da perfusão, hipóxia e isquemia, que podem levar a necrose tecidual dentro de 48 horas. Nas regiões periféricas da queimadura, encontra-se a zona de hiperemia que recebe aumento do fluxo sanguíneo por vasodilatação inflamatória (TIWARI, 2012; ROWAN, 2015).

Zonas das Queimaduras

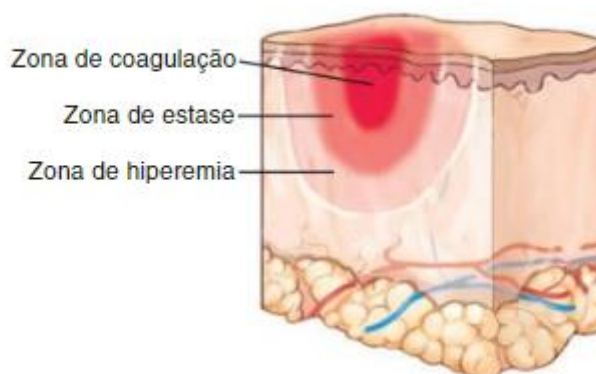


Figure 5- Imagem representativa das três zonas da lesão por queimaduras. Fonte: Naemt (2011).

A resposta inflamatória se inicia no local imediatamente após a queimadura. Em lesões térmicas graves com uma grande área de pele queimada, passa a ocorrer uma sucessão de eventos em todo o organismo, mais acentuadamente na área queimada. A resposta vascular ocorre com vasodilatação, atividade osmótica extravascular e aumento da permeabilidade microvascular provocando um extravasamento excessivo de fluidos e aumento de edema. Em queimaduras extensas, esse aumento da permeabilidade pode levar a um extravasamento de plasma, com choque hipovolêmico (TIWARI, 2012; ROWAN, 2015). A resposta celular ocorre por monócitos e macrófagos, que produzem aumento na liberação de citocinas pró-inflamatórias, o fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 6 (IL-6), agindo como mediadores de inúmeras respostas ao estresse pela IL-8 e uma atividade oxidativa aumentada, resultando na hiperdegradação proteica. O aumento nos hormônios catabólicos endógenos, como o cortisol e catecolaminas, e a diminuição na atividade endógena levam a uma grande perda na rede proteica do organismo (MÉLEGA, 2002).

Sobrepondo-se à resposta inflamatória, inicia-se a fase proliferativa, caracterizada pela ativação dos fibroblastos e queratinócitos que migram sobre a ferida para auxiliar no fechamento e restauração da rede vascular. A última fase é a remodelação ocorrendo a maturação tecidual com a deposição de colágeno e elastina. Nessa etapa, os fibroblastos, tornando-se miofibroblastos, são responsáveis pela contração da cicatriz (TIWARI, 2012; ROWAN, 2015).

A cicatrização da área queimada consome grande taxa de energia pela alta densidade celular inflamatória e pelos fibroblastos responsáveis pela produção de colágeno na matriz. Assim, o gasto calórico e o catabolismo proteico são maiores em queimaduras do que em qualquer outro estado de estresse fisiológico. A área queimada, idade, composição física e resposta pessoal são fatores que influenciam a gama de anormalidades que podem ser observadas após uma lesão térmica (MÉLEGA, 2002).

O dano da pele, após uma queimadura, interrompe a barreira imunológica e aumenta a suscetibilidade de infecções que resultam em estadias hospitalares longas, custos elevados e atraso na cicatrização de feridas. As queimaduras superficiais de segundo grau apresentam bolhas, devido à coleta de plasma entre derme e epiderme morta. O líquido da bolha é uma proteína rica em plasma e um meio de cultivo para bactérias e outros microrganismos. O gerenciamento de infecção e o fechamento das lesões, o mais precoce possível, são primordiais no tratamento de pacientes queimados (TIWARI, 2012; ROWAN, 2015).

3.4.1 Tratamentos de Queimaduras

A definição do melhor tratamento é baseada na avaliação de múltiplas variáveis como profundidade, extensão, localização, idade, meio causador e doenças pré-existentes (NÍMIA *et al.*, 2018). O fechamento primário de queimaduras envolve o fechamento direto da ferida após a excisão do tecido desvitalizado, geralmente realizado em queimaduras pequenas. Para lesões mais profundas, o procedimento cirúrgico pode ser realizado, com a excisão da ferida cobrindo-a com enxertos de pele, que, quando colhidos de local doador não lesionado no paciente, é considerado padrão ouro para o reparo. Substitutos de pele também vêm sendo usados em prática clínica, em sua maioria são biossintéticos e seu uso ainda é investigado. Mais recentemente, tem sido usada a bioimpressão de pele para tratar feridas profundas de queimadura (VARKEY *et al.*, 2019).

No manejo das infecções, os antibióticos sistêmicos são usados na sepse, enquanto seu uso profilático é limitado, não atingindo o local onde esses microrganismos se multiplicam. O tecido morto atua como cultura e ajuda no crescimento bacteriano que pode invadir tecidos mais profundos. Portanto, é necessário agentes microbianos tópicos que são absorvidos e penetram na ferida com

efeitos colaterais mínimos na absorção sistêmica. O creme de sulfadiazina de prata 1% é um dos mais usados (TIWARI, 2012; ROWAN, 2015).

A sulfadiazina de prata tem sido usada desde a década de 1970 nas lesões por queimadura (ROWAN, 2015) e ainda é o medicamento mais aplicado em razão de seu baixo custo e alto nível de disponibilidade. Embora existam evidências sobre seu efeito antimicrobiano, os efeitos da prata podem ser tóxicos para as células retardando o crescimento dos queratinócitos, e o fechamento da lesão (NÍMIA *et al.* 2018).

A associação da sulfadiazina de prata com outras substâncias como o nitrato cério também tem sido usada no tratamento de queimaduras. Cremes contendo essa substância transformam a úlcera em uma crosta flexível e protetora, que não desaloja espontaneamente até que a pele abaixo seja reepitelizada. Entretanto, esse processo pode interferir na verificação se a ferida já foi curada (OEN *et al.*, 2012). O nitrato cério demonstrou prevenção da ativação dos fagócitos, diminuindo a secreção de citocinas, que induzem a resposta inflamatória e se acredita que ocorra a interação com o cálcio, contribuindo para a hemostasia, proliferação e maturação de células epidérmicas (ESKI *et al.*, 2012; SCHOLTEN-JAEGERS *et al.*, 2017).

Em estudo clínico para o tratamento de queimaduras faciais, incluindo 179 pacientes divididos em dois grupos, um tratado com sulfadiazina de prata 10mg/g e o outro com nitrato cério 22mg/g com sulfadiazina de prata 10mg/g, revelou que os dois tratamentos levaram a um resultado satisfatório, não apresentando diferenças no tempo de cicatrização (OEN *et al.*, 2012).

Como agente antimicrobiano tópico, a formulação de pomadas com prata tem sua atividade pela ação dos íons, que são citotóxicos para bactérias, vírus, leveduras e fungos. O íon de prata se liga ao DNA, RNA e várias proteínas levando à morte celular (KHANSA *et al.*, 2019). Quando comparada a pomada de sulfadiazina de prata com outros curativos que contém prata, o veículo usado para entregar a prata à ferida mostrou influência. Acredita-se que, na pomada, ocorra a liberação rápida e em grande quantidade de íons, enquanto, nos outros tipos de curativos, ocorra de forma lenta e em pequenas quantidades, apresentando menos toxicidade e menor tempo de cura. Devido ao seu efeito citotóxico, o amplo uso da pomada sulfadiazina de prata deve ser questionado, já que curativos que aceleram o processo de reepitelização e reduzem o tempo em que a ferida fica aberta (e conseqüentemente diminuem o tempo de invasão bacteriana) podem ser indicados (NÍMIA *et al.*, 2018).

Os curativos à base de prata, por apresentarem liberação prolongada e controlada de íons de prata, exigem menos trocas de curativos, traumatizando menos o leito da ferida, o que contribui para a redução na dor do paciente e também deixa a ferida menos tempo exposta, diminuindo o risco de contaminação (STONE *et al.*, 2018). O curativo Aquacel Ag® apresenta essas características, combinando em sua composição carboximetilcelulose de sódio com 1,2% de prata que é lentamente liberada na ferida por até duas semanas. Sua indicação é destinada para feridas agudas como as queimaduras, como também para feridas crônicas, com o objetivo de reduzir a carga bacteriana (BARNEA; WEISS; GUR, 2010).

O Aquacel Ag® é um curativo que retém umidade, formando um gel quando em contato com a superfície da ferida, promovendo um ambiente úmido que retém exsudatos por uma absorção vertical. A fibrina depositada entre a ferida e o curativo serve de adesivo, proporcionando melhor aderência e fixação (BARNEA; WEISS; GUR, 2010).

Estudo realizado por Loahna e Potokar (2006), com 22 crianças, evidenciou que o Aquacel Ag® forneceu propriedades antimicrobianas adequadas e se mostrou eficaz e de fácil aplicação para queimaduras com profundidade superficial e média, além de ter um papel importante no controle da dor. O controle do quadro algico é uma característica importante de um curativo eficaz, que, além disso, deve ser de fácil manuseio, permitindo a mobilização do paciente de forma fácil e precoce e não causar nenhuma toxicidade ou reação alérgica (KRUCHEVSKY *et al.*, 2020). Dessa forma, o uso de curativos com prata para o tratamento de feridas deve ser criterioso (KHANSA *et al.*, 2019).

Outros tipos de tratamentos para queimaduras e feridas são com produtos naturais, como a *Aloe vera*, também conhecida por babosa, planta suculenta do gênero *Aloe*, utilizada desde a antiguidade. Seus componentes bioativos possuem ação antifúngica, antisséptica, antiviral, antibacteriana e propriedades cicatrizantes por promoverem migração e proliferação celular. No entanto, seu uso vem sendo investigado, principalmente pelos efeitos adversos, interação com medicamentos, efeitos tóxicos, causando alterações hematológicas e hepatológica, além de efeitos carcinogênicos em alguns componentes da folha da planta (RAHMAN; CARTER; BHATTARAI, 2017; GUO; MEI, 2016).

O uso do mel demonstrou atividade anti-inflamatória, garantindo esterilidade da ferida, reduzindo a necessidade de desbridamento e boa epitelização, acelerando

a cicatrização de feridas presas da fase inflamatória, por meio de eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROS). Apesar do sucesso do mel observado em vários estudos, ainda existe a necessidade de evidências melhores definidas, como o tipo de mel mais indicado. Outra limitação é quanto à forma de aplicação. A maior parte dos estudos envolve a aplicação do mel direto na ferida, esse método demonstrou ser ineficiente pelo excesso de trocas de curativos e para manter o mel no local (HIXON *et al.*, 2019).

Tratamentos com uso de materiais naturais vêm despertando grande interesse, como uma forma alternativa, principalmente devido ao aumento da resistência aos antibióticos (RAHMAN; CARTER; BHATTARAI, 2017).

3.5 SERICINA

Sericina é uma proteína produzida pelas lagartas do bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), responsável pela adesão de filamentos de seda para aumentar a rigidez do casulo ao longo de sua formação. Juntamente à fibroína, forma o fio da seda. O núcleo do fio é constituído pela fibroína que é envolto por camadas de sericina. Quando o casulo é processado pela indústria têxtil, a sericina é removida e normalmente descartada. Quando é recuperada e reciclada, pode trazer muitos benefícios por suas propriedades biológicas (KUNZ *et al.*, 2016; AHSAN *et al.*, 2018).

A remoção da goma de sericina é baseada na solubilidade em água. Com o objetivo de extrair e utilizar a sericina do casulo, quatro métodos podem ser usados. Essas condições de preparo, juntamente à origem e variedade de casulos, podem fornecer tamanhos diferentes para a proteína, o que pode ser observado pela alteração na composição dos aminoácidos e peso molecular refletindo nas suas propriedades biológicas. A molécula de sericina é altamente hidrofílica, com um peso molecular que varia de 20 a 400 kDa. É constituída por 18 aminoácidos e corresponde de 25 a 30% do peso do casulo. Sua composição orgânica é dada por 46,5% de carbono, 31% de oxigênio, 16,5% de nitrogênio e 6% de hidrogênio. As características bioquímicas lhe conferem atividade antibacteriana, antioxidante, hidratante, cicatrizante, entre outros (KUNZ *et al.*, 2016).

Estudo *in vitro* relatou atividade antibacteriana das moléculas Gram-negativas (*E. coli*) e Gram-positivas (*S. aureus*), e as zonas de inibição aumentaram com a maior

concentração de sericina. Apesar disso, os mecanismos, por trás de seus efeitos bactericidas, não estão completamente elucidados (BAKHSHESHI-RAD *et al.*, 2020).

Efeitos antioxidantes da sericina têm sido observados, por sua de capacidade de redução de EROS e indicam produção de enzimas como a glutathiona peroxidase, superóxido dismutase e catalase, que são importantes na defesa antioxidante (ERSEL *et al.*, 2016). Essas propriedades podem estar relacionadas ao seu alto teor de serina e treonina (KUNZ *et al.*, 2016).

A característica hidratante da sericina se relaciona com sua estrutura de aminoácidos semelhante à filagrina, presente no estrato córneo e responsável pela hidratação natural da pele. A sericina compreende 30% de serina que é o principal aminoácido hidratante característico na pele humana. Essa semelhança evita a perda excessiva de água trans-epidérmica e faz dela uma alternativa potencial para uso em cosméticos e tratamentos de doenças de pele como a dermatite atópica (KUNZ *et al.*, 2016; AHSAN *et al.*, 2018). A metionina é outro aminoácido presente na sericina, mostra um efeito no crescimento de fibroblastos e não apresenta toxicidade (ARAMWIT *et al.*, 2009).

Com sua biocompatibilidade e baixa toxicidade, a sericina tem se mostrado efetiva na adesão e crescimento celular, aumento de migração e/ou proliferação celular de fibroblastos em estudos *in vivo* e *in situ*, fornecendo evidências de suas propriedades curativas cicatrizantes (SAPRU *et al.*, 2019). O uso da sericina pura forma filmes frágeis, para isso diferentes estratégias podem ser usadas para aumentar as propriedades físicas podendo garantir sua incorporação nos reparos de pele e de cicatrização. Uma base creme formulada com vaselina branca, óleo mineral, lanolina, glicerina, bisabolol, estearato de trietanolamina, propilparabeno e metilparabeno recebeu a adição de 8% de sericina e foi usada em estudos para prurido (ARAMWIT *et al.*, 2012), cicatrização de feridas (ARAMWIT; SAGNCAKUL, 2007) e queimaduras (ARAMWIT *et al.*, 2013). As características cicatrizantes da sericina estão relacionadas à sua natureza hidrofílica (SAPRU *et al.*, 2019), e a semelhança de aminoácidos aos da pele (AHSAN *et al.*, 2018).

Apesar disso, poucos estudos foram encontrados com aplicabilidade de sericina em queimaduras. Um deles foi realizado no tratamento de 29 pacientes que totalizaram 65 queimaduras de segundo grau. Foram tratadas com uma base creme para ambos grupos. O grupo controle recebeu adição de sulfadiazina de prata e zinco e outro recebeu sulfadiazina de prata e sericina 8%. Os resultados indicaram que houve

diferenças significativas no período de reepitelização, em torno de cinco a sete dias mais rápido no grupo tratado com sericina. A coleta de sangue dos pacientes, a partir da data de admissão até o dia 28, não encontrou diferenças significativas nas funções renais, hepáticas, entre pacientes de ambos os grupos. No entanto, o nível de albumina dos pacientes do grupo tratado com sericina, 21 dias após a admissão, foi significativamente maior do que nos pacientes do grupo controle (ARAMWIT *et al.*, 2013).

Em estudo experimental, 20 camundongos machos com queimaduras de segundo grau induzidas, divididos em 3 grupos, aplicou-se, como protocolo de tratamento curativo elaborado pelos pesquisadores, álcool polivinílico, quitosana, tetraglina e sericina a 2%, após sete dias os animais foram eutanasiados. No grupo tratado com sericina, os resultados indicaram uma diminuição no número de macrófagos e células inflamatórias nos vasos sanguíneos, também observaram um aumento de vasos recém-formados. Pela espessura da epiderme, acredita-se que a epitelização tenha iniciado mais cedo. O tecido apresentava fibras de colágeno grossas e compactas. Também encontraram a presença de células foliculares juntamente a glândulas sebáceas. Os animais tratados demonstraram cicatrização quase completa. Esse mesmo estudo avaliou culturas de fibroblastos com o mesmo curativo, e concentrações de sericina diferentes 0,5%, 1%, 2%, 3% e 5%. A hidrofobicidade do curativo aumentou com o aumento da concentração de sericina. As culturas de fibroblastos se proliferaram consideravelmente mesmo com baixo teor de sericina após sete dias de incubação (BAKHSHESHI-RAD *et al.*, 2020).

O levantamento bibliográfico realizado evidencia a necessidade de se pesquisar novas técnicas no tratamento de queimaduras que possam acelerar o processo de cicatrização. O uso da sericina em queimaduras tem mostrado potencial. Apesar disso, novos estudos devem ser realizados, sendo necessário elucidar melhor sua aplicabilidade. Por esse motivo, inicialmente foi realizada uma revisão sistemática com ensaios clínicos que utilizaram sericina tanto para tratamento de queimaduras como para outros tipos de feridas e, na sequência, foi realizado um ensaio experimental com a utilização de um biocurativo de sericina para tratamento de queimaduras.

4 METODOLOGIA

4.1 REVISÃO SISTEMÁTICA: DELINEAMENTO

A revisão sistemática foi realizada de acordo com as recomendações do *checklist* Prisma (MOHER *et al.*, 2015) no qual a seleção dos artigos pertinentes para a análise ocorreu nas bases de dados *PubMed*, *Science Direct*, *Lilacs*, *Scopus* e *Web of Science* e Google Acadêmico, utilizando os descritores na língua inglesa *sericin*, *wound healing* e *clinical trial*. Os descritores foram combinados por meio de operadores booleanos *AND* e *OR*, somados a símbolos de truncagem enquadrados de acordo com cada base de dados.

Foram incluídos ensaios clínicos randomizados, sem restrição de linguagem que utilizaram a proteína sericina na composição de curativos, membranas ou pomadas, para o tratamento de feridas de pele, independentemente do tipo de ferida, etiologia, local, idade ou sexo dos participantes. Foram excluídos estudos com metodologias diferentes do ensaio clínico, que não utilizaram a sericina no tratamento das feridas ou que não especificaram o uso da sericina.

A seleção ocorreu em fevereiro de 2022, na qual, dois revisores, de forma independente, leram os títulos e resumos dos artigos encontrados. Na sequência, os ensaios clínicos selecionados foram lidos integralmente para a inclusão ou exclusão de cada estudo. Para a extração de dados, foi realizado um formulário no Excel com o objetivo de sintetizar as informações. A avaliação de concordância foi realizada em todas as etapas.

Para avaliar a qualidade metodológica dos artigos, foi aplicada a escala de qualidade de Jadad *et al.* (1996), que consiste em cinco critérios com pontuações de zero a cinco. Pesquisas com pontuações abaixo de três pontos indicam um alto risco de viés e são consideradas com baixo padrão metodológico (anexo II).

4.2 ESTUDO EXPERIMENTAL: DELINEAMENTO

Os procedimentos experimentais foram realizados com 40 ratos *Wistar* com idade aproximada de três meses, provenientes do Biotério Central da UNIOESTE e mantidos no Biotério Setorial de Estudos das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF). Os animais passaram por uma semana de adaptação/aclimatação e depois foram randomizados aleatoriamente em quatro grupos: G1, grupo controle, sem lesão e sem tratamento; G2, grupo de lesão por queimadura e sem tratamento; G3, grupo de queimadura e tratamento com curativo comercial Aquacel Ag®; e G4, grupo de queimadura e tratamento com biocurativo de sericina (Tabela I).

O estudo teve duração de 13 dias. Durante esse período, os animais permaneceram em um ambiente com temperatura controlada, com dieta e água livre e ciclos de 12h claro e 12h escuro. Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes éticas da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 1983). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética animal da UNIOESTE – CEUA sob protocolo de número 19/20 (Anexo I).

Tabela 1- DIVISÃO DOS GRUPOS

Grupos	Número de animais	Queimadura	Tratamento
G1	10	Não	Sem tratamento
G2	10	Sim	Sem tratamento
G3	10	Sim	Aquacel Ag®
G4	10	Sim	Biocurativo de sericina

4.2.1 Indução da Queimadura

Na indução da lesão por queimadura, os animais foram anestesiados com uma diluição de água de injeção, cloridrato de cetamina (75 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/Kg) (NEVES; FILHO; MENEZES, 2013). Posteriormente, foram posicionados em mesa operatória apropriada, onde a região interescapular foi tricotomizada e higienizada com soro fisiológico 0,9%.

A indução da queimadura foi realizada com um instrumento adaptado, no qual uma placa metálica medindo 1,5 x 1,5 cm, foi soltada a um parafuso fixado em um bloco de madeira, para facilitar o manuseio (Figura 6). O instrumento foi aquecido com o auxílio da chama do bico de Bunsen que ficou em contato com a placa metálica durante um minuto, sendo que, nos últimos trinta segundos, o lado da placa aquecida foi o oposto ao inicial, com intuito de fazer um aquecimento uniforme (MEYER, 1999; CHIAROTTO *et al.*, 2014; CAI *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2019).

Instrumento adaptado

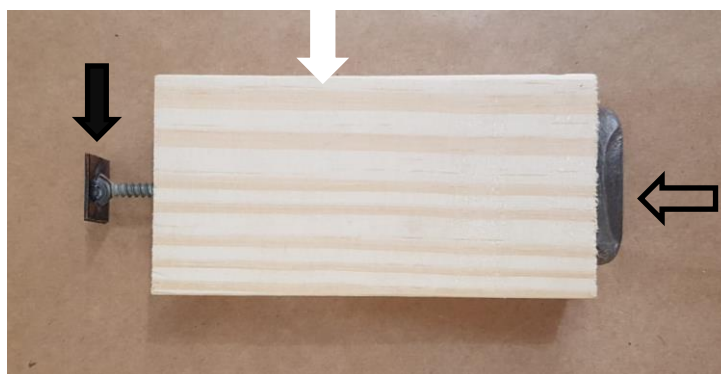


Figura 6 -Fotografia do instrumento utilizado para a indução das queimaduras. Em seta preta, região aquecida. Em seta branca, região para manuseio. Em seta preta vazada, peso fixado. Fonte: Autor (2021)

Após o aquecimento, o instrumento foi imediatamente colocado no dorso do animal durante 15 segundos, sem nenhuma pressão, para que não houvesse alteração de profundidade. Todas as queimaduras foram induzidas por um mesmo pesquisador. Um total de sete instrumentos foram projetados, com o intuito de que, durante o processo de indução, ocorresse um rodízio e um esfriamento das placas, até que fossem utilizadas novamente, a fim de que não houvesse a somatização de calor.

4.2.2 Tratamentos

Os tratamentos foram aplicados seis horas após a indução da queimadura. No G2, houve a proteção da ferida com gaze, fixada com esparadrapo e foi trocada diariamente. No G3, as queimaduras foram tratadas com curativo comercial Aquacel Ag®. Por se tratar de um curativo com liberação lenta, a troca foi realizada apenas quando o curativo descolasse da ferida, o mesmo foi adquirido pelos pesquisadores. No G4, as feridas por queimaduras foram tratadas com biocurativo de sericina (Figura 7), com trocas a cada 24h. O período de trocas foi norteador por Sone *et al.* (2021) que, em pesquisa anterior, desenvolveram um biocurativo combinando sericina, sulfadiazina de prata e glicerol na formulação, sendo os responsáveis pelo fornecimento do biocurativo para a presente pesquisa.

Biocurativo de sericina

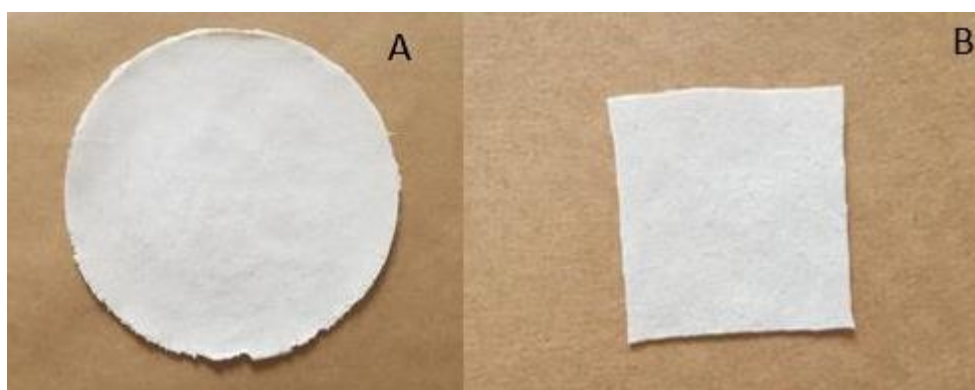


Figura 7 - Fotografias do biocurativo de sericina. Em A, inteiro medindo 15 cm de diâmetro, e em B após o corte a 3 x 3cm. Fonte: Autor (2021).

Os curativos Aquacel Ag® e sericina foram cuidadosamente recortados em quadrados de 3 cm, tamanho que equivale ao dobro da lesão. Na troca, os curativos foram posicionados no local da lesão, cobertos com gaze e fixados ao dorso dos animais com esparadrapo. Os animais dos grupos G2, G3 e G4 foram vestidos com um colete de tecido previamente projetado para impedir que retirassem os curativos da queimadura (Figura 8).

Animais com o colete



Figura 8 - Fotografia de Ratos Wistar vestidos com colete de tecido, projetado para impedir que retirassem os curativos da queimadura. Fonte: Autor (2021).

Ao término do experimento, os animais foram eutanasiados, por meio de sobredosagem três vezes maior que a dose requerida para anestesia geral com a associação de anestésico cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina, administrados pela via intraperitoneal.

4.2.2 Análise Macroscópica

Após a indução da lesão, nos grupos G2, G3 e G4, nos dias experimentais 1°, 4°, 7° 11° e 13°, as queimaduras foram avaliadas macroscopicamente, fotografadas e com o auxílio de um paquímetro digital da marca Digimess® foram realizadas as mensurações das lesões. Para isso, os animais foram imobilizados, e realizaram-se três medidas, sendo utilizada uma média das três aferições (FRANCK *et al.*, 2018).

4.2.3 Morfologia Microscópica

Ao término dos 13 dias de experimento, os animais foram eutanasiados, procedendo-se a coleta do material biológico, abrangendo o segmento da pele na

região testada, com as camadas da epiderme, derme e hipoderme. Esse segmento, foi lavado com solução salina 0,9%, fixado em formol tamponado e devidamente identificado. Posteriormente, cada segmento do órgão coletado foi desidratado e em série ascendente de álcool, (80%, 90%, 95%, 100% I, 100% II, 100% III) por cerca de 1h cada, e, em seguida, diafanizado em álcool n-butílico I, II e III, por 1h30 cada, infiltrado em parafina histológica I e II por 1h seguindo-se o emblocamento na parafina. Os blocos foram seccionados em micrótomo Olympus RCUT 4055®, com cortes perpendiculares a cinco μm de espessura. Cada lâmina continha três cortes, que sequencialmente foram coradas com Hematoxilina-eosina (HE) e Tricrômico de Masson seguindo para análises em microscópio de luz (Olympus® DP71). Os campos de interesse na imagem foram capturados, com o auxílio de uma câmera acoplada, e as imagens foram enviadas a um computador para que pudessem serem analisadas e comparadas.

4.2.4 Espessura da epiderme

Para a análise da espessura da epiderme, foi realizada uma fotomicrografia para cada corte da lâmina, em um aumento de 40x. As imagens foram enviadas para o programa *Image-Pro Plus*®. Em cada imagem, foram realizadas oito medidas equidistantes, totalizando 24 medidas para cada animal, possibilitando uma média de maior confiança (Figura 9).

Espessura da epiderme

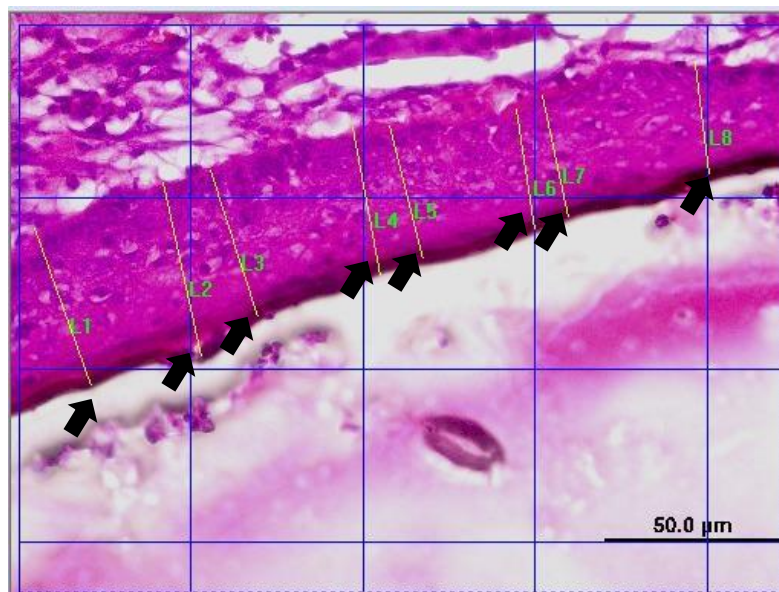


Figura 9 - Fotomicrografia da epiderme de rato *Wistar* corado com HE em aumento de 40x. Em setas pretas indicam oito medidas para espessura da epiderme.

4.2.5 Quantificação de vasos e infiltrado inflamatório

Para a contagem de vasos e infiltrado inflamatório foram realizadas duas capturas de imagens em cada corte das lâminas, sendo uma localizada na porção papilar e outra na porção reticular da derme de cada animal, totalizando seis imagens por lâmina em um aumento de 40x. A contagem dos vasos sanguíneos e infiltrado foi realizada no programa de análise *Image-Pro Plus*®. Para isso, cada fotomicrografia foi dividida em nove quadrantes coincidentes. A contagem foi realizada nos cinco quadrantes não-coincidentes, sendo dois superiores, um central e dois inferiores, no intuito de não ocorrer contagem repetida. Após a contagem, foi realizada a média de vasos e infiltrado de cada animal.

Contagem de vasos e infiltrado inflamatório

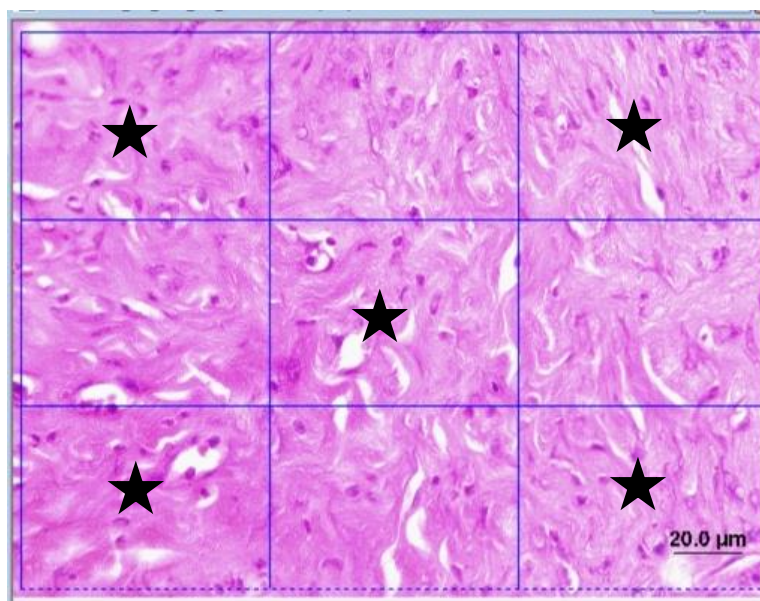


Figura 10 - Fotomicrografia da camada papilar da derme de rato wistas coradas com HE em um aumento de 400x dividida em nove quadrantes. Nos quadrantes não coincidentes com estrelas pretas foram realizadas as contagens de vasos e infiltrado inflamatório.

4.2.6 Avaliação da Formação de Colágeno

O estudo histomorfométrico foi realizado para medir a formação de colágeno. Em cada lâmina, os três cortes corados com tricrômico de Masson foram fotografados, sendo capturado um campo na camada papilar e outro na reticular em um aumento de 40x. As imagens foram inseridas no programa Gimp (versão 2.10.30) para se quantificar os pixels de cada imagem. Após isso, foi realizada a média de cada animal e grupo.

4.2.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS 20.0®. Os dados foram expressos em média \pm desvio-padrão. As variáveis foram analisadas por Modelos Lineares Generalizados, com pós-teste LSD. A diferença foi considerada significativa quando o $p < 0,05$.

Os Resultados serão apresentados em formato de artigo científico.

5 ARTIGO 1

Submetido e aceito na Brazilian Journal of Development (Anexo 3)

Ensaio Clínicos do Uso de Sericina na Cicatrização de Feridas na Pele

Clinical Trials on the Use of Sericin in Skin Wound Healing

RESUMO: Feridas de diferentes etiologias comprometem a estrutura da pele e ocasionam transtornos para o indivíduo acometido, sendo importante buscas por novos tratamentos que otimizem o processo de cicatrização. O biopolímero sericina vem sendo utilizado em várias pesquisas e os resultados têm evidenciando boas propriedades curativas. Este trabalho teve como objetivo agrupar evidências do uso clínico da sericina na cicatrização de feridas por meio de uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados. Para isso, foi realizada uma busca nas bases de dados *PubMed*, *Science Direct*, *Lilacs*, *Scopus*, *Web of Science* e *Google Scholar* em fevereiro de 2022, utilizando os descritores *wound healing*, *sericin* e *clinical trial*. Foram incluídos ensaios clínicos randomizados que utilizaram a proteína sericina na composição de curativos, membranas ou pomadas, para o tratamento de feridas de pele. Foram identificados 955 artigos, sendo 13 lidos integralmente e quatro incluídos para análises. Totalizaram três artigos com feridas de áreas doadoras de enxerto de pele e um de queimadura. A sericina se mostrou eficiente na repitelização e, em alguns trabalhos, a proteína da seda apresentou melhor índices nas escalas de dor, quando comparadas aos tratamentos controle. De acordo com os resultados encontrados, pode-se concluir que ainda existe uma carência de estudos clínicos usando a sericina, mas, com base nos estudos existentes, o biopolímero da seda apresenta boa segurança e biocompatibilidade, podendo ser utilizada com eficácia e segurança no tratamento de feridas.

Palavras-chave: Sericina, feridas, cicatrização

ABSTRACT Wounds of different etiologies compromise the structure of the skin and cause disorders to the affected individual, and it is important to search for new treatments that optimize the healing process. The biopolymer sericin has been used in several studies and the results have shown good healing properties. This paper aimed to gather evidence on the clinical use of sericin in wound healing through a

systematic review of randomized clinical trials. To this end, a search was conducted in PubMed, Science Direct, Lilacs, Scopus, Web of Science and Google Scholar databases in February 2022 using the descriptors wound healing, sericin and clinical trial. Randomized clinical trials that used the protein sericin in the composition of dressings, membranes or ointments, for the treatment of skin wounds were included. A total of 955 articles were identified, 13 were read in full and 4 were included for analysis. There were three articles with wounds from skin graft donor areas and one from burns. Sericin was efficient in reepithelialization and, in some papers, silk protein showed better indices in pain scales, when compared to control treatments. According to the results found, it can be concluded that there is still a lack of clinical studies using sericin, but based on existing studies silk biopolymer presents good safety and biocompatibility and can be used effectively and safely in wound treatment.

Keywords: Sericin, wounds, healing

1 INTRODUÇÃO

A pele é um órgão dinâmico que reveste o corpo e desempenha funções múltiplas relacionadas à proteção mecânica, fisiológica e microbiológica, à termorregulação, à sensorial e à produção de Vitamina D. A integridade da pele é de vital importância à saúde e bem-estar geral do organismo (LAWTON, 2019). Fatores externos diversos, como físicos, mecânicos, térmicos, químicos e elétricos, e, mesmo certos distúrbios fisiológicos (por exemplo, diabetes e obesidade), podem comprometer a estrutura e funcionalidade da pele e levar ao surgimento de feridas (TUDOROIU *et al.*, 2021; NICULESCU; GRUMEZESCU, 2022). O corpo reage com uma resposta que busca reparar os tecidos danificados e restaurar a integridade da pele. Para isso, inicia-se um processo fisiológico multifásico e multifatorial complexo, a cicatrização da ferida, que independente de sua causa, abrange os estágios de hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação tecidual (EL AYADI *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2019; ZHANG; ZHAO, 2020).

Enquanto esses processos estão em andamento para reparar os tecidos danificados e alcançar uma reepitelização completa, o indivíduo passa por uma série de desconfortos, como dor e presença de edema. Nesse período, dependendo da extensão, profundidade e localização da ferida, caso não seja devidamente tratada, pode ser infectada por microrganismos, aumentando ainda mais o tempo de cura e,

consequentemente, estendendo o período de desconfortos para o indivíduo. Para evitar que isso ocorra, a utilização de tratamentos adequados é essencial, uma vez que buscam promover um ambiente ideal para a cicatrização (OSWALD *et al.*, 2018).

Medicamentos tópicos constituem o tratamento principal dos distúrbios da pele, e a qualidade no tratamento se relaciona a características relativas à boa absorção de exsudato e fixação na ferida, ausência de agentes com toxicidade celular, propriedades bactericidas e termorregulação (OBAGI *et al.*, 2019). Os preparados tópicos com essa finalidade apresentam diferentes composições e reações quando em contato com a pele. Entre os tipos mais utilizados, estão as pomadas, cremes, curativos e os biocurativos, que utilizam biomateriais em suas formulações (ROWAN, 2015; OBAGI *et al.*, 2019). O uso de materiais naturais na composição dos tratamentos para feridas tem despertado o interesse de pesquisadores nos últimos anos, principalmente devido ao aumento da resistência aos antibióticos (RAHMAN; CARTER; BHATTARAI, 2017).

O biopolímero da seda sericina, extraído de casulos do bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), tem sido utilizado em inúmeras pesquisas com aplicações em biomedicina, devido às propriedades físico-químicas da molécula (KUNZ *et al.*, 2016). A proteína sericina constitui cerca de 20 a 30% do peso do casulo e forma sucessivas camadas ao redor de outra proteína, a fibroína, que compreende 70% a 80% de seu peso, garantindo a adesão do casulo, além de proteger o casulo contra a radiação UV, vento, chuva e baixa temperatura (CAO; ZHANG, 2016). As proteínas da seda são sintetizadas pelas glândulas da seda das lagartas de *B. mori* e no processamento industrial do casulo. Para a extração do fio de seda, a sericina é, em grande parte, removida e descartada em um processo conhecido como degomagem, podendo levar à contaminação ambiental. Enquanto a fibroína é transformada em seda crua (MIGUEL; ÁLVAREZ-LÓPEZ, 2020).

Estudos experimentais evidenciaram que a sericina apresenta biocompatibilidade, atividade antibacteriana (ARAMWIT *et al.*, 2012), efeito na migração e na proliferação de fibroblastos (ARAMWIT *et al.*, 2009a; SAPRU *et al.*, 2019), baixa toxicidade (ARAMWIT *et al.*, 2009), capacidade antioxidante (ERSEL *et al.*, 2016), indução à produção de colágeno (ARAMWIT *et al.*, 2009a; ARAMWIT *et al.*, 2010) característica sem a ativação de citocinas pró-inflamatórias (ARAMWIT *et al.*,

2009b), capacidade hidratante e antirrugas (AHSAN *et al.*, 2018; ZÜGE *et al.*, 2017). Na pele, a sericina apresenta biocompatibilidade, imunogenicidade insignificante (MacIntosh *et al.*, 2008) e atua na redução do estresse oxidativo nas células da epiderme, revelando seu efeito como molécula supressora da tumorigênese (DASH *et al.*, 2008; ZHAORIGETU *et al.*, 2003). Tariq *et al.* (2021) verificaram que um formulado preparado a base de sericina e extrato vegetal (*Aloe vera*) acelera o processo de cicatrização de feridas em camundongos diabéticos. Essas características possibilitam a aplicação potencial da sericina como agente terapêutico em feridas, estimulando a proliferação celular, a proteção contra a radiação ultravioleta e sua utilização na formulação de cremes (KUNZ *et al.*, 2016; MIGUEL; ÁLVAREZ-LÓPEZ, 2020) e biocurativos (SONE *et al.*, 2021).

Diante das evidências crescentes que as pesquisas pré-clínicas têm demonstrado do uso do biopolímero sericina na cicatrização de feridas (SHAILENDRA; DAS, 2019), esta revisão sistemática fornece uma visão geral atualizada do uso clínico da sericina para o tratamento tópico de feridas na pele.

2 MÉTODOS

Este estudo trata de uma revisão sistemática, realizada de acordo com as recomendações do *checklist Prisma* (PAGE *et al.*, 2020) no qual a seleção dos artigos pertinentes para a análise ocorreu nas bases de dados *PubMed*, *Science Direct*, *Lilacs*, *Scopus* e *Web of Science*. A busca também foi realizada na literatura cinzenta no Google Acadêmico. Para a realização das buscas, foram utilizados descritores na língua inglesa “*sericin*, *wound healing* e *clinical trial*”, combinados por meio de operadores booleanos *AND*, *OR*, somados aos símbolos de truncagem enquadrados de acordo com cada base de dados.

Foram incluídos ensaios clínicos randomizados, sem restrição de linguagem que utilizaram a proteína sericina na composição de curativos, membranas ou pomadas, para o tratamento de feridas de pele (independentemente do tipo de ferida, etiologia, local, idade ou sexo dos participantes). Foram excluídos estudos com metodologias diferentes do ensaio clínico, que não utilizaram a sericina no tratamento das feridas ou que não especificaram o uso da sericina.

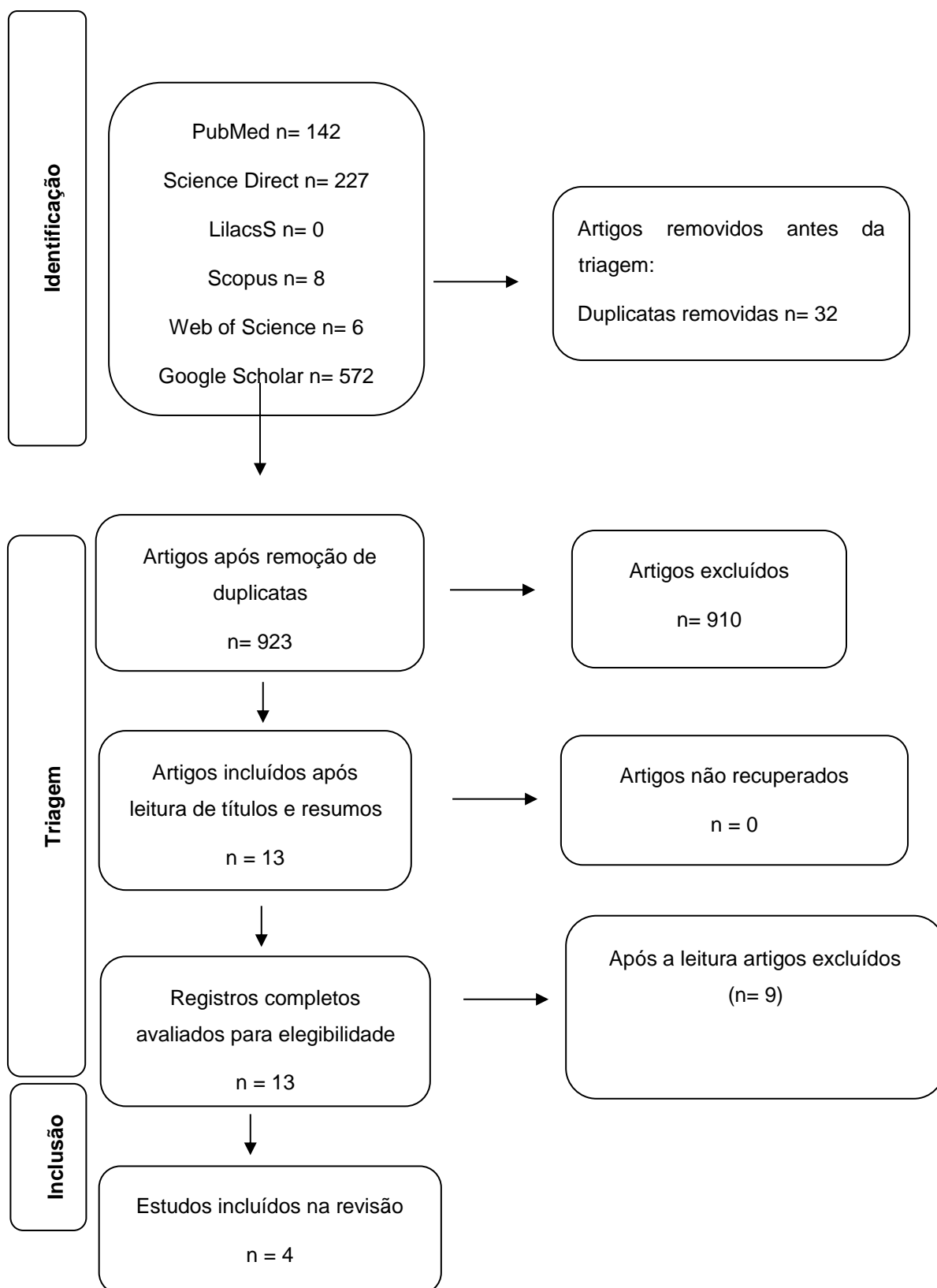
A seleção ocorreu em fevereiro de 2022, na qual, dois revisores, de forma independente, leram os títulos e resumos dos artigos encontrados. Na sequência, os

ensaios clínicos selecionados foram lidos integralmente para a inclusão ou exclusão de cada estudo. Para a extração de dados, foi realizado um formulário no Excel com o objetivo de sintetizar as informações, a avaliação de concordância foi realizada em todas as etapas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a estratégia de busca, foram recuperados 955 artigos. Desse montante, após a leitura de títulos e resumos, 13 foram selecionados e lidos integralmente. Após a leitura, nove ensaios clínicos que não utilizaram a sericina na formulação dos tratamentos para feridas foram excluídos, por não se enquadrarem nos critérios de inclusão (Figura 01). Dessa forma, quatro estudos foram incluídos nesta revisão, todos realizados na cidade de Bangkok, Tailândia.

Figura 01- Diagrama de Fluxo da pesquisa bibliográfica e critérios de seleção



Os participantes dos estudos selecionados, totalizaram 110 pessoas, sendo 48 mulheres e 62 homens. Apenas um ensaio clínico relatou a necessidade de realocação de três participantes, tendo como justificativa um ajuste na conduta terapêutica, sendo necessário alterar curativo usado, por isso esses participantes foram excluídos do estudo (ARAMWIT *et al.*, 2013). Os demais estudos não citaram situações semelhantes, desistências ou abandonos ao tratamento. A idade dos participantes foi heterogênea e esse fato foi uma das limitações encontradas, sendo que pelas jovens e maduras apresentam diferenças na espessura, atividade dos fibroblastos e na rede vascular, o que pode interferir nos processos de cicatrização da ferida (ORTOLAN *et al.*, 2013).

Além disso, para a aplicação dos tratamentos nos participantes, todos os estudos citaram a randomização. No entanto, houve uma carência no detalhamento do processo de seleção e mascaramento dos tratamentos utilizados, tanto para os aplicadores, como para os pacientes em quatro estudos. Na escala metodológica de Jadad, apenas um estudo apresentou pontuação máxima (Tabela 01). Esse é um processo importante nos ensaios clínicos, para ocultar do paciente (e, às vezes, do próprio aplicador), a identidade do tratamento, proporcionando verificar a eficácia e segurança da terapêutica utilizada, minimizando as chances de resultados tendenciosos (LIM; EM, 2019).

Tabela 01- Escala de Jadad

<i>ID estudo (autor e ano)</i>	<i>Escala Jadad</i>
Napavichayanun <i>et al.</i> , 2018	2
Hasatsri <i>et al.</i> , 2015	2
Siritientong <i>et al.</i> , 2013	2
Aramwit <i>et al.</i> , 2013	5

Fonte: Elaborado pelo autor

Todos os autores relataram que, anteriormente à aplicação dos tratamentos propostos em feridas nos ensaios clínicos, foram realizados testes *in vitro* e *in vivo* (ARAMWIT *et al.*, 2013; HASATSRI; ANGSPATT; ARAMWIT, 2015; NAPAVICHAYANUN *et al.*, 2018; SIRITIENTONG *et al.*, 2014). Os resultados evidenciaram que os curativos à base de sericina não apresentaram toxicidade celular

e se mostraram seguros ao serem aplicados em pele íntegra por voluntários saudáveis (NAPAVICHAYANUN; YAMDECH; ARAMWIT, 2016). Esse achado foi importante, uma vez que efeitos colaterais ou adversos não foram evidenciados, o que permitiu que os pesquisadores compreendessem a resposta biológica dos tratamentos, dando continuidade para ensaios clínicos (ANDERSON; RODRIGUEZ; CHANG, 2008).

Em três estudos selecionados, as feridas estavam localizadas na superfície lateral da coxa, relacionadas a áreas doadoras de enxerto que foram tratadas com curativos que continham sericina na composição. Hasatsri *et al.*, (2014) combinaram sericina, fibroína e glutamaldeído/gelatina; Napavichayanun *et al.*, (2018) utilizaram sericina, celulose bacteriana e Polihexametileno biguanida; Siritientong *et al.*, (2014) desenvolveram seu curativo com sericina e álcool polivinílico. O trabalho publicado por Aramwit *et al.*, (2013) tratou feridas por queimadura e não especificou os locais das lesões. Nesse caso, o tratamento utilizado foi pomada de sulfadiazina de prata com a adição de sericina (Tabela 02).

Esses tipos de tratamentos, que apresentam a entrega de seus agentes terapêuticos diretamente no local das feridas, têm como objetivos a prevenção de infecções, o controle da inflamação, a redução no tempo de cicatrização e o controle da dor para proporcionar melhor bem-estar ao indivíduo (SAGHAZADEH S, RINOLDI C, SCHOT M, *et al.*, 2019). Os estudos que usaram curativos com sericina nas áreas doadoras evidenciaram que houve uma redução significativa nos escores de dor principalmente do primeiro ao quinto dia comparados com os tratamentos do grupo controle. No entanto, o estudo que adicionou sericina ao creme de sulfadiazina de prata observou diminuição nos escores de dor, comparado ao estudo com pomada padrão sem sericina. Esse achado pode estar relacionado à composição e ao veículo utilizado, já que a sulfadiazina de prata em pomada apresenta uma liberação rápida de grandes quantidades da prata, que pode causar toxicidade celular gerando desconforto ao paciente, podendo comprometer o tempo de cicatrização (NÍMIA *et al.*, 2018; MACIEL *et al.*, 2019).

Tabela 02- Resumo dos estudos incluídos

<i>ID estudo (autor e ano)</i>	<i>Amostra</i>	<i>Tipo de lesão / Local do tratamento</i>	<i>Tipo de tratamento</i>	<i>Avaliações realizadas</i>	<i>Resultados</i>
Napavichayan un <i>et al.</i> , 2018	21	Áreas doadoras de enxerto Coxa	Curativo de celulose bacteriana, com sericina e Polyhexam ethylene biguanide (PHMB). Bactigras®	Dor Tempo de cicatrização Qualidade da cicatriz Desidratação Infecção Inflamação	Dor e desidratação transepidérmica foram significativamente menores no tratamento com curativo sericina. Sem diferença significativa no tempo de cicatrização entre os tratamentos. Melhor qualidade de cicatriz com o curativo de sericina.
Hasatsri, <i>et al.</i> , 2015	30	Áreas doadoras de enxerto Coxa	Curativo de duas camadas com sericina e fibroína Bactigras®	Dor Tempo de cicatrização Desidratação Infecção ou reações Nitrogênio ureico no sangue Creatinina sérica aspartato Aminotransferase alanina Aminotransferase fosfatase alcalina	Escore de dor, tempo de cicatrização, desidratação transepidérmica foram significativamente menores com o curativo de sericina. Não houve sinais de infecção em ambos os curativos. Análises bioquímicas do sangue dentro da faixa de normalidade do 1 ao 3 dia.
Siritientong, <i>et al.</i> , 2013	30	Áreas doadoras de enxerto Coxa	Curativo de sericina com álcool polivinílico (PVA) e álcool etílico Bactigras®	Dor Tempo de Cicatrização Pigmentação	Escore de dor e tempo de cicatrização significativamente menores com o curativo de sericina. Área tratada com Bactigras® ligeiramente mais escura que a tratada com curativo de sericina.
Aramwit <i>et al.</i> , 2013	32	Queimaduras de segundo grau	Creme de sulfadiazina de prata e zinco com sericina Creme de Sulfadiazina de prata e zinco sem sericina	Dor Tempo de Cicatrização Tempo de internação Infecção Função hepática, renal, glicemia, eletrólitos, hemograma e albumina.	Sem diferença significativa na escala de dor e no tempo de internação entre os grupos. Tempo de cicatrização significativamente menor com o creme que adicionou sericina. Sem presença de infecção. Níveis de albumina sérica significativamente maiores no grupo tratado com sericina, outros resultados de sangue sem diferença significativa.

Fonte: Elaborado pelo autor

As queimaduras tratadas com sulfadiazina de prata com adição de sericina obtiveram uma porcentagem de cicatrização significativamente maior, a partir do 14º dia em comparação com a pomada sem sericina. Essa diferença ainda foi encontrada após 42 dias de tratamento. Os outros estudos selecionados evidenciaram resultados semelhantes, em que os curativos com de sericina proporcionaram uma redução significativa do tempo de cura das feridas de áreas doadoras de enxerto. Esses resultados positivos no processo de cicatrização podem estar relacionados ao fato da sericina aumentar a migração e/ou proliferação de queratinócitos e fibroblastos, aumentando a produção de colágeno e reduzindo o tempo de cura (ARAMWIT *et al.*, 2009; SIRITIENTONG *et al.*, 2013).

Outro fator que interfere na cicatrização é o processo infeccioso. O tempo que uma ferida leva para cicatrizar por completo e o tipo de tratamento utilizado influenciam nos riscos de infecção, visto que feridas com uma cicatrização lenta ou que precisam de passar por muitas trocas de curativos ficam expostas por um período maior, aumentando as chances de contaminação (NAPAVICHAYANUN *et al.*, 2018; BAKHSHESHI-RAD *et al.*, 2020). Essa informação vem ao encontro de achados de um dos ensaios clínicos, cuja forma de tratamento foi por meio de pomada. Devido a algumas características das feridas que podem ter ocorrido pela necessidade da troca diária dos curativos para a aplicação da pomada, ocorreram sete suspeitas de infecção, encontradas tanto no grupo controle como no tratamento. Essas feridas passaram por avaliações de especialistas e foram melhor investigadas, e, posteriormente, as suspeitas descartadas (ARAMWIT *et al.*, 2013). Fatos como esse têm gerado maior interesse pelos curativos de liberação sustentável (NAPAVICHAYANUN *et al.*, 2018).

Nos estudos que utilizaram curativos como forma de tratamento, as trocas foram propostas somente em casos de excesso de exsudato, sinais de infecção ou quando o curativo soltasse espontaneamente da ferida. Em nenhum destes estudos, houve relatos de processos infecciosos (HASATSRI *et al.*, 2015; NAPAVICHAYANUN *et al.*, 2018; SIRITIENTONG *et al.*, 2013). Esses achados sugerem boas propriedades bactericida da sericina.

Pesquisa realizada por Bakhsheshi-rad *et al.*, (2020), evidenciou que maiores concentrações de sericina foram mais eficazes na inibição de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Segundo os autores para essa inibição, podem existir

duas possibilidades de interação. A primeira é que ocorra a adesão direta de moléculas de sericina na superfície da célula bacteriana, comprometendo sua estrutura. Já a segunda é que a sericina pode favorecer a formação de bolhas nas membranas bacterianas, assim alterando a pressão interna e comprometendo sua integridade. Apesar disso, esses mecanismos ainda não foram completamente elucidados.

Além das propriedades bactericidas, a sericina apresenta propriedades hidratantes relacionadas com sua estrutura de aminoácidos, que se assemelha com a filagrina, principal responsável pela hidratação no estrato córneo. Nesse sentido, o uso da sericina pode proporcionar uma melhor hidratação intrínseca da pele devido à restauração de aminoácidos (KUNZ et al., 2016). Além das propriedades dos componentes da fórmula utilizadas no tratamento, o tipo de curativo também pode ter influência na hidratação, já que curativos oclusivos evitam a perda de água no estrato córneo (PADAMWAR et al., 2005). Essa propriedade de hidratação foi evidenciada em dois artigos, ocorrendo menor perda de água transepidermica durante o tratamento nas feridas de áreas doadoras tratadas com curativos que continham sericina. Quando comparadas ao tratamento padrão, essa diferença foi significativa (HASATSRI; ANGSPATT; ARAMWIT, 2015; NAPAICHAYANUN *et al.*, 2018).

Com base nos resultados encontrados nessa revisão, a sericina apresenta um grande potencial no uso clínico em processos cicatriciais. Apesar disso, a heterogeneidade na forma de apresentação dos dados foi uma limitação encontrada nos artigos levantados, impossibilitando cálculos estatísticos para a realização de uma revisão sistemática com metanálise. Outra limitação foi quanto à região da realização dos estudos, todos na Tailândia, pois esse fato deve considerar a linhagem do bicho-da-seda, sua alimentação, entre outros fatores que podem influenciar na expressão gênica da proteína e alterar o peso molecular da sericina, assim como sua composição de aminoácidos e suas propriedades cicatrizantes (SAHU *et al.*, 2016). Ainda, é importante analisar o método de extração da molécula da seda, já que o mesmo influencia em suas propriedades e aplicações biomédicas (KUNZ et al., 2016).

4 CONCLUSÃO

Esse estudo evidenciou que, apesar da sericina apresentar biocompatibilidade e segurança, ainda são poucos os ensaios clínicos randomizados encontrados que cumpram todos os critérios de qualidade que reduzem o risco de viés das análises.

Apesar disso, nos resultados encontrados, a proteína da seda demonstrou bom potencial cicatrizante, proporcionando uma melhor hidratação intrínseca da pele devido à restauração de aminoácidos, assim como efeitos na reepitelização e na redução dos escores de dor.

REFERÊNCIAS:

AHSAN, F.; ANSARI T. M.; USMANI, S.; BAGGA, P. An Insight on Silk Protein Sericin: From Processing to Biomedical Application. **Drug Research**, v. 68, n. 6, p. 317-327, Nov. 2017.

ANDERSON, J. M.; RODRIGUEZ, A.; CHANG, D. T. Foreign body reaction to biomaterials. **Seminars in Immunology**, v. 20, n. 2, p. 86–100, 2008.

ARAMWIT, P.; KANOKPANONT, S.; DE-EKNAMKUL, W.; KAMEI, K.; SRICHANA, T. The effect of sericin with variable amino-acid content from different silk strains on the production of collagen and nitric oxide. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 20, n. 9, p. 1295–1306, 2009a.

ARAMWIT, P.; KANOKPANONT, S.; DE-EKNAMKUL, W.; SRICHANA, T. Monitoring of inflammatory mediators induced by silk sericin. **J Biosci Bioeng** 107(5):556–561, 2009b.

ARAMWIT, P.; KANOKPANONT, S.; NAKPHENG, T.; SRICHANA, T. The effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. **Int J Mol Sci** 11(5):2200–221, 2010.

ARAMWIT, P.; SIRINOOT, P.; SRICHANA, T.; CHOTTANAPUND, S.; MUANGMAN B.B. . Silk sericin ameliorates wound healing and its clinical efficacy in burn wounds. **Archives of Dermatological Research**, v. 305, n. 7, p. 585–594, 2013.

BAKHSHESHI-RAD, H. R.; ISMAIL, A. F.; AZIZ, M.; AKBARI, Z. H.; OMIDI, M.; CHEN, X. Development of the PVA/CS nanofibers containing silk protein sericin as a wound dressing: In vitro and in vivo. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 513–521, 2020.

BETTS, J.G.; YOUNG, K.A.; WISE, J.A.; JOHNSON, E.; POE, B.; KRUSE, D. H.; KOROL, O.; JOHNSON, J. E.; WOMBLE, M.; DESAIX, P. *Anatomy and Physiology. The integumentary system 5.3 Functions of the Integumentary System*, 2019.
Disponível em: <https://open.oregonstate.edu/aandp/chapter/5-3-functions-of-the-integumentary-system/>. Acesso em: 01 mar. 2022.

ERSEL, M.; UYANIKGIL, Y.; KARBEB AKARCA, F.; OZCETE, E.; ALTUNCI, Y. A.; KARABEY, F.; OYKU CETIN, E. Effects of Silk Sericin on Incision Wound Healing in a Dorsal Skin Flap Wound Healing Rat Model. **Medical Science Monitor**, v. 22, p. 1064–1078, Apr. 2016,
<https://www.eucerin.com.br/sobre-pele/conhecimentos-basicos-sobre-a-pele/estrutura-e-funcoes-da-pele>

HASATSRI, S.; ANGSPATT, A.; ARAMWIT, P. Randomized Clinical Trial of the Innovative Bilayered Wound Dressing Made of Silk and Gelatin: Safety and Efficacy Tests Using a Split-Thickness Skin Graft Model. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

KUNZ, R. I.; BRANCALHÃO, R. M. C.; RIBEIRO, L. F. C.; NATALI, M. R. M.; Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.

LAWTON S. Skin 1: the structure and functions of the skin. *Nursing Times* [online]; 115, 12, 30-33, 2019.

LIM C. Y.; EM, J. Randomization in clinics studies. **Korean J Anesthesiol**. 2019; 72 (3): 221-232. <https://ekja.org/journal/view.php?doi=10.4097/kja.19049>

MACIEL, A. B. D. S.; ORTIZ, J. F.; SIQUEIRA, B. S. ZANETTE, G.F. Eficácia na cura de tecidos em pacientes queimados tratados com sulfadiazina de prata a 1% versus outros tratamentos: uma revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados. **An. Bras Dermatol**. 94 (2): 204-210, 2019.

MIGUEL, G. A.; ÁLVAREZ-LÓPEZ, C. Extraction and antioxidant activity of sericin, a protein from silk. *Braz. J. Food Technol*. 23, 2020. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.05819>.

MOHER, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN D. G. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 335-342, jun. 2015. <https://www.scielo.br/j/ress/a/TL99XM6YPx3Z4rxn5WmCNCf/?format=pdf&lang=pt>

NICULESCU, A. G.; GRUMEZESCU, A. M. An Up-to-Date Review of Biomaterials Application in Wound Management. **Polymers**,14(3), 421, 2022. <https://doi.org/10.3390/polym14030421>

NAPAVICHAYANUN, S. AMPAWONG, S.; HARNSILPONG, T.; ANGSPATT, A.; ARAMWIT, P. Inflammatory reaction, clinical efficacy, and safety of bacterial cellulose wound dressing containing silk sericin and polyhexamethylene biguanide for wound treatment. **Archives of Dermatological Research**, v. 310, n. 10, p. 795–805, 2018. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00403-018-1871-3>

NAPAVICHAYANUN, S.; YAMDECH, R.; ARAMWIT, P. The safety and efficacy of bacterial nanocellulose wound dressing incorporating sericin and polyhexamethylene biguanide: in vitro, in vivo and clinical studies. **Archives of Dermatological Research**, v. 308, n. 2, p. 123–132, 2016. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00403-016-1621-3>

NÍMIA, H. H. CARVALHO, V. F.; ISAAC, C.; SOUZA, F. A.; GEMPERLI, R.; PAGGIARO, A. O. Comparative study of Silver Sulfadiazine with other materials for healing and infection prevention in burns: A systematic review and meta-analysis. *Burns*, 45(2), 282-292, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2018.05.014>

OBAGI, Z.; DAMIANI, G.; GRADA, A.; FALANGA, V. Principles of Wound Dressings: A Review. *Surg Technol Int.* 35:50-57, 2019.

<https://europepmc.org/article/med/31480092>

ORTOLAN B. M. C. A.; BIONDO-SIMÕES, M. L. P.; BARONI, E. R. V.; AUERSVALD, A.; AUERSVALD, L. A.; NETTO, M.R.M.; BIONDO-SIMÕES, M. N. R. Influência do envelhecimento na qualidade da pele de mulheres brancas: o papel do colágeno, da densidade de material elástico e da vascularização. *Rev. Bras. Cir. Plást.* 28(1): p. 41-48, 2013

OSWALD, A. V.; MCGINNIS, E.; STUBBS, N.; ARUNDEL, C.; BUCKLEY, H.; BELL, K.; DUMVILLE, J. C.; CULLUM, N. A.; SOARES, M. O.; SARAMAGO, P. Patients with surgical wounds healing by secondary intention: a prospective, cohort study. *International Journal of Nursing Studies.* v.89 p.62-71, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2018.09.011>

PADAMWAR, M. N.; PAWAR, A.; DAITHANKAR, A. V.; MAHADIK, K.R. Silk sericin as a moisturizer: an in vivo study. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 4, n. 4, p. 250–257, 2005.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1473-2165.2005.00200.x>

PAGE, M. J.; MCKENZIE, J.E.; BOSSUYT P.M.; BOUTRON, I.; HOFFMANN, T. C.; MULROW, C.D.; SHAMSEER, L.; TETZLAFF, J. M.; AKL, E. A.; BRENNAN, S.E.; CHOU, R.; GLANVILLE, J.; GRIMSHAW, J. M.; HRÓBJARTSSON, A.; LALU, M. M.; LI, T.; LODER, E. W.; MAYO-WILSON, E.; MCDONALD, S.; MCGUINNESS, L. A.; STEWART LA, THOMAS, J.; TRICCO, A. C.; WELCH, V.A.; WHITING, P.; MOHER, D.; The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *PLoS Med.* 29;18(3) 2021.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33780438/>

RAHMAN, S.; CARTER, P.; BHATTARAI, N. Aloe Vera for Tissue Engineering Applications. *Journal of Functional Biomaterials*, v. 8, n. 1, p. 6, Feb. 2017.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5371879/>.

ROWAN, M. P.; CANCIO, L. C.; ELSTER, E. A.; BURMEISTER, D. M.; ROSE, L. F.; NATESAN, S.; CHAN, R. K.; CHRISTY, R. J.; CHUNG, K. K. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical care*, London, v. 19, n. 243, p. 2-12, Jun. 2015.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464872/>.

SAGHAZADEH, S.; RINOLDI, C.; SCHOT, M.; KASHAF, S. S.; SHARIFI, F.; JALILIAN, E.; NUUTILA, K.; GIATSIDIS, G.; MOSTAFALI, P.; DERAKHSHANDEH, H.; YUE, K.; SWIESZKOWSKI, W.; MEMIC, A.; TAMAYOL, A.; KHADEHOSSEINI, A. Drug delivery systems and materials for wound healing applications. *Adv Drug Deliv Rev.*127:138-166, 2018.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29626550/>

SAHU, N.; AMIGO, S.; SAPRU, S.; KUNDU, J.; TALUKDAR, S.; SINGH, N. I.; YAO, J.; KUNDU, S. C. Non-Mulberry and Mulberry Silk Protein Sericins as Potential Media Supplement for Animal Cell Culture. *BioMed Research International*, v. 2016, 2016.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969515/>

SAPRU, S.; DAS, S.; MANDAI, M.; GHOSH, A. K.; KUNDU, S. C. Nonmulberry silk protein sericin blend hydrogels for skin tissue regeneration - in vitro and in vivo. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 15, n. 137, p. 545-553

SIRITIENTONG, T. RATANAVARAPORN, J.; SRICHANA, T.; ARAMWIT, P. Preliminary characterization of genipin-cross-linked silk sericin/poly (vinyl alcohol) films as two-dimensional wound dressings for the healing of superficial wounds. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3784068/>

SIRITIENTONG, T.; ANGSPATT, A.; RATANAVARAPORN, J; ARAMWIT, P. Clinical potential of a silk sericin-releasing bioactive wound dressing for the treatment of split-thickness skin graft donor sites. **Pharmaceutical Research**, v. 31, n. 1, p. 104–116, 2014.

<https://link.springer.com/article/10.1007/s11095-013-1136-y>

SONE, A.P; GIMENES, M. L.; TIUMAN, T. S.; HOSCHEID, J.; TOMINC, G. C.; DALMAGRO, M.; LIED, E. B.; MOREJON, C. F. M.. Sericin Biofilm Endowed with Silver Sulfadiazine for Treatment of Burns. **Journal Of Pharmaceutical Innovation**, p. 1-10, 22 set. 2021. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1007/s12247-021-09583-0>.

TARIQ, M., TAHIR, H. M., BUTT, S. A., ALI, S., AHMAD, A. B., RAZA, C., SUMMER, M., HASSAN, A., & NADEEM, J. Silk derived formulations for accelerated wound healing in diabetic mice. **PeerJ**, 9, e10232, 2021. <https://doi.org/10.7717/peerj.10232>

6 ARTIGO 2

Será submetido no *BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*

Biocurativo de sericina não sofre rejeição em modelo experimental de queimadura

Resumo: O biopolímero proteico sericina é produzido pelas lagartas do bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), na construção do casulo de seda, e não é utilizado na indústria têxtil, sendo descartado como resíduo de produção e potencial poluidor ambiental. A sericina é uma molécula que apresenta uma constituição de aminoácidos semelhante às proteínas do extrato córneo da pele humana, com propriedades hidratantes, de biocompatibilidade, capacidade de auxiliar em processos de migração e proliferação celular, além de potencial aplicação no tratamento de lesões de pele, incluindo as causadas por queimaduras. Diante do exposto, esta pesquisa objetivou analisar o potencial cicatrizante de um biocurativo de sericina, anteriormente desenvolvido, comparando seu efeito ao do curativo comercial Aquacel Ag® no tratamento de feridas na pele por queimaduras. O estudo experimental foi desenvolvido com 40 ratos *Wistar*, divididos aleatoriamente em quatro grupos: grupo controle (que possui a pele íntegra); grupo queimado (que recebeu a indução pelo calor e não foi tratado); grupo tratado com Aquacel Ag®; e grupo tratado com biocurativo de sericina. Após 13 dias de experimento, houve a eutanásia dos animais, além da retirada do segmento de pele em estudo, na região interescapular, que seguiu o processamento histológico de rotina e colorações pela hematoxilina e eosina e tricrômico de Masson para as avaliações microscópicas. O biocurativo de sericina apresentou resultados similares ao curativo comercial Aquacel Ag®, e, mesmo não havendo a completa reepitelização da área da ferida por queimadura, foi verificada uma maior proliferação dos queratinócitos da epiderme nas áreas periféricas da queimadura. Na derme subjacente, houve aumento no tecido conjuntivo comparados aos grupos controle e lesão sem tratamento. O biocurativo de sericina aumentou o infiltrado inflamatório, o que pode ter interferido na neoangiogênese e no próprio processo cicatricial, fato possivelmente relacionado à profundidade da lesão experimental provocada, uma vez que essas características foram constatadas nos três grupos em que foram induzidas as lesões/feridas por queimadura. O biocurativo de sericina apresentou potencial aplicação na cicatrização de feridas por queimadura, fato verificado pela ação na replicação dos queratinócitos e aumento no conjuntivo, sendo necessários estudos adicionais com lesões menos profundas.

Palavras chaves: Sericina, biocurativo, queimadura, tratamento.

Introdução

A sericina é uma proteína produzida pelo bicho-da-seda, *Bombyx mori* (Lepidoptera, Bombycidae), a qual compõe cerca de 20 a 30% do casulo e é responsável por envolver e unir os filamentos de fibroína. Durante o processo de

degomagem, a fibroína forma os fios de seda e a sericina é removida, sendo descartada como um resíduo da indústria têxtil (KUNZ *et al.*, 2016; DAS *et al.*, 2021). O reaproveitamento da sericina confere, assim, maior valor agregado ao casulo de seda e apresenta impacto relevante ao ambiente, uma vez que minimiza seu descarte, como poluente nas águas, conferindo benefícios econômicos, sociais e ambientais (SAHU *et al.*, 2016).

Estudos têm evidenciado múltiplas aplicações biomédicas da sericina, devido às características físico-químicas da molécula, que conferem propriedades antioxidante, hidratante e de biocompatibilidade (QIN *et al.*, 2020), que, somadas à capacidade em promover adesão, disseminação e proliferação celular (NAYAK *et al.*, 2013), baixa toxicidade (CHOLLAKUP *et al.*, 2020) e efeito bactericida (BAKHSHESHI-RAD *et al.*, 2020), indicam potencialidades da sericina no tratamento de lesões de pele.

Ersel *et al.* (2016) desenvolveram um gel de sericina e utilizaram para tratamento de feridas. Análises bioquímicas, indicaram enzimas de defesa antioxidante como a glutatona e peroxidase, superóxido dismutase e catalase. Estudos experimentais, *in vitro* e *in vivo*, com modelo de queimadura, em que foi utilizado biocurativo com sericina, evidenciaram seu desempenho bactericida, com redução de células inflamatórias, melhorando deposição de fibras de colágeno e menor tempo de cicatrização (BAKHSHESHI-RAD *et al.*, 2020).

Benefícios desse gel no uso de curativos, ao invés de pomadas ou cremes, são relatados por exigirem um menor número de trocas diárias, proporcionando menor trauma no leito da ferida e reduzindo o tempo de exposição (ROWAN *et al.*, 2015). Nesse sentido, Sone *et al.* (2020) desenvolveram um biocurativo com sericina e sulfadiazina de prata para tratamento de queimaduras. Pela baixa elasticidade da proteína, foi necessária a adição do glicerol conferindo flexibilidade ao biocurativo. Os resultados evidenciaram boa maleabilidade, indicando ser um facilitador para a remoção e troca de curativos, mostrando também ser efetivo contra colônias de microrganismos.

Mesmo considerando os estudos que evidenciaram características cicatrizantes e curativas da sericina em modelos clínicos (NAPAVICHAYANUN *et al.* 2018), ainda são escassos estudos que abordam o uso no tratamento de queimaduras, tonando-se necessário ampliar evidências de sua utilização nesse tipo

de tratamento. Ainda, as propriedades físico-químicas da sericina, respondem por sua funcionalidade e são diretamente influenciadas pela linhagem de *B. mori*, qualidade das folhas da amoreira que as lagartas são alimentadas, clima e pelos métodos de extração da molécula (KUNZ *et al.*, 2016; RUTH *et al.*, 2019). Por esse motivo, essa pesquisa teve como objetivo analisar propriedades cicatrizantes do biocurativo de sericina formulado por Sone *et al.* (2021) de linhagens de *B. mori* no Brasil.

Materiais e Métodos

Grupos experimentais

Os procedimentos experimentais foram realizados com 40 ratos *Wistar* com idade aproximada de três meses, provenientes do Biotério Central da UNIOESTE e mantidos no Biotério Setorial de Estudos das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos (LELRF). Os animais passaram por uma semana de adaptação e aclimação e depois foram randomizados aleatoriamente em quatro grupos: G1, grupo controle, sem lesão e sem tratamento; G2, com lesão por queimadura e sem tratamento; G3, com lesão por queimadura e tratamento com curativo comercial Aquacel Ag®; G4, com lesão por queimadura e tratamento com biocurativo de sericina.

Como o objetivo do estudo foi analisar as propriedades do biocurativo de sericina no processo de cicatrização, o experimento teve duração de 13 dias, e esse período de tempo foi baseado em estudo de Aramwit e Sagncakul (2007), no qual 70% das feridas por excisão, produzidas experimentalmente na pele de ratos, tiveram cura completa no 15º dia. Durante esse período, os animais permaneceram em um ambiente com temperatura controlada, com dieta e água livre e com ciclos de 12h em ambiente claro e 12h em ambiente escuro. Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes éticas da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 1983). O projeto foi aprovado pelo comitê de ética animal da UNIOESTE – CEUA sob protocolo de número 19/20.

Indução da Queimadura

Na indução da lesão por queimadura, os animais foram anestesiados com uma diluição de água de injeção, cloridrato de cetamina (75 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/Kg) (NEVES; FILHO; MENEZES, 2013), posteriormente, foram posicionados em mesa operatória apropriada, na qual a região interescapular foi tricotomizada e higienizada com soro fisiológico 0,9%.

A indução da lesão por queimadura foi realizada com um instrumento adaptado, no qual uma placa metálica medindo 1,5 x 1,5 cm foi soltada a um parafuso fixado em um bloco de madeira, para facilitar o manuseio. O instrumento foi aquecido com o auxílio da chama do bico de Bunsen que ficou em contato com a placa metálica durante um minuto, sendo que, nos últimos trinta segundos, o lado da placa aquecida foi o oposto ao inicial, com intuito de fazer um aquecimento uniforme (MEYER, 1999; CHIAROTTO *et al.*, 2014; CAI *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2019).

Após o aquecimento, o instrumento foi imediatamente colocado no dorso do animal durante 15 segundos, sem nenhuma pressão, para que não houvesse alteração de profundidade. Todas as queimaduras foram induzidas por um mesmo pesquisador. Um total de sete instrumentos foram projetados, com o intuito de que, durante o processo de indução, ocorresse um rodízio e um esfriamento das placas até que fossem utilizadas novamente, a fim de que não houvesse a somatização de calor. Os animais receberam analgésico Tramadol a cada 12 horas, após a lesão provocada (SANTOS *et al.*, 2019).

Tratamentos

No G2, houve a proteção da ferida com gaze, fixada com esparadrapo e trocada diariamente. No G3, as queimaduras foram tratadas com curativo comercial Aquacel Ag® que combina hidrofibra de carboximetilcelulose e, por se tratar de um curativo com liberação lenta prata, a troca foi realizada apenas quando o curativo descolasse da ferida (SILVA *et al.*, 2020). No G4, as feridas por queimaduras foram tratadas com biocurativo de sericina, com trocas a cada 24h. O período de trocas foi norteado por Sone *et al.* (2021) que, em pesquisa anterior, desenvolveram um biocurativo combinando sericina, sulfadiazina de prata e glicerol na formulação, sendo os responsáveis pelo fornecimento do biocurativo para a pesquisa atual.

Os curativos Aquacel Ag® e sericina foram cuidadosamente recortados em quadrados de três centímetros, tamanho que equivale ao dobro da lesão, e foram

aplicados seis horas após a indução da queimadura. Na troca, os curativos foram posicionados no local da lesão, cobertos com gaze e fixados ao dorso dos animais com esparadrapo. Os animais dos grupos G2, G3 e G4 foram vestidos com um colete de tecido previamente projetado para impedir que retirassem os curativos da queimadura.

Ao término do experimento, os animais foram eutanasiados, por meio de sobredosagem três vezes maior que a dose requerida para anestesia geral com a associação de anestésico cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina, administrados pela via intraperitoneal.

Análise macroscópica

Após a indução da lesão, os grupos G2, G3 e G4, nos dias experimentais 1°, 4°, 7°, 11° e 13°, as queimaduras foram avaliadas macroscopicamente, fotografadas e, com o auxílio de um paquímetro digital da marca Digimess®, foram realizadas as mensurações das lesões, em 5mm. Para isso, os animais foram imobilizados, e realizadas três medidas, sendo utilizada uma média das três aferições (Franck *et al.*, 2018).

Análise microscópica

A coleta do material biológico abrangeu o segmento da pele na região da lesão por queimadura, com as camadas da epiderme, derme e hipoderme. Esse segmento foi lavado com solução salina 0,9%, fixado em formol tamponado e devidamente identificado. Posteriormente, cada segmento do órgão coletado foi desidratado, em série ascendente de álcool, (80%, 90%, 95%, 100% I, 100% II, 100% III) por cerca de 1h cada, e, em seguida, diafanizado em álcool n-butílico I, II e III, por 1h30 min cada, infiltrado em parafina histológica I e II por 1 hora, seguindo-se o emblocamento na parafina.

Os blocos foram seccionados em micrótomo Olympus RCUT 4055®, com cortes perpendiculares a 5 µm de espessura, sendo cada lâmina composta por três cortes. Na sequência, as lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e tricrômico de masson. Para as análises, foi utilizado o microscópio de luz Olympus® DP71. Os campos de interesse na imagem foram capturados com o auxílio de uma câmera acoplada e as imagens foram enviadas a um computador.

Espessura da epiderme

Na análise da espessura da epiderme, foi realizada uma fotomicrografia para cada um dos três cortes da lâmina, com um aumento de 40x. As imagens foram enviadas para o programa *Image-Pro Plus®* e, em cada imagem, foram realizadas oito medidas equidistantes, totalizando 24 medidas para cada animal, possibilitando uma média de maior confiança.

Quantificação de vasos e infiltrado inflamatório

Para a contagem de vasos e infiltrado inflamatório, foram realizadas duas capturas de imagens em cada corte das lâminas, sendo uma localizada na porção papilar e outra na porção reticular da derme de cada animal, assim, totalizando seis imagens por lâmina em um aumento de 40x. A contagem dos vasos sanguíneos e infiltrado foi realizada no programa de análise *Image-Pro Plus®*. Cada fotomicrografia foi dividida em nove quadrantes coincidentes. A contagem foi realizada nos cinco quadrantes não-coincidentes, sendo dois superiores, um central e dois inferiores, no intuito de não ocorrer contagem repetida. Após a contagem, foi realizada a média de vasos e infiltrado de cada animal.

Avaliação da formação de colágeno

O estudo histomorfométrico foi realizado para medir a formação de colágeno. Três cortes corados com tricrômio de Masson foram fotomicrografados. Para cada corte, foi capturado um campo na camada papilar e outro na reticular em um aumento de 400x. As imagens foram inseridas no programa Gimp (versão 2.10.30) para se quantificar os pixels de cada imagem. Após esse procedimento, foi realizada a média de cada animal e grupo.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS 20.0®. Os dados foram expressos em média \pm desvio-padrão. As variáveis foram analisadas por Modelos Lineares Generalizados, com pós-teste LSD. A diferença será considerada significativa quando o $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Os animais dos diferentes grupos, que foram induzidos à lesão por queimadura, iniciaram com medidas de tamanho similares (Tabela 1). Nos dias

subsequentes, houve uma exacerbação da lesão no 7º dia para todos os grupos e ao final do experimento, 13º dia, houve uma redução do tamanho da lesão; entretanto, não se verificou o fechamento completo da lesão.

Mensuração das dimensões das feridas

Dias das avaliações	1 °	4 °	7 °	11 °	13 °
Sem tratamento	15,7 ± 0,61 Aa	17,8 ± 2,36 Ab	19 ± 2,41 Ab	18,7 ± 2,25 Ab	18,3 ± 2,34 Ab
Aquacel®	15,5 ± 0,67 Aa	20,4 ± 2,20 Bb	22,8 ± 2,48 Bc	19,7 ± 1,12 ABb	17,4 ± 2,11 Ad
Sericina	15,7 ± 0,55 Aa	17,7 ± 0,72 Ab	23,1 ± 1,61 Bc	21 ± 1,16 Bd	18,5 ± 1,29 Ab

Tabela 1- Os valores expressos são em média ± desvio padrão da média. As letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes e letras iguais apresentam semelhança estatisticamente. Sendo letras maiúsculas a comparação entre os grupos e letras minúscula para comparação dentro do mesmo grupo.

Nas feridas por queimadura, ocorre um comprometimento ao entorno da lesão, desencadeando eventos que comprometem a integridade, como necrose tecidual e trombose progressiva dos vasos adjacentes, o que pode levar a um aumento nas dimensões da lesão (MIRANDA *et al.*, 2021). Divididas em três zonas, na parte central da queimadura, está a zona de coagulação, que sofre mais danos. Ao redor, está a zona de estase ou zona de isquemia, caracterizada pela diminuição da perfusão podendo sofrer necrose tecidual. Localizada nas regiões mais periféricas, está a zona de hiperemia que recebe aumento do fluxo sanguíneo por vasodilatação inflamatória (TIWARI, 2012; ROWAN, 2015).

INFILTRADO INFLAMATÓRIO

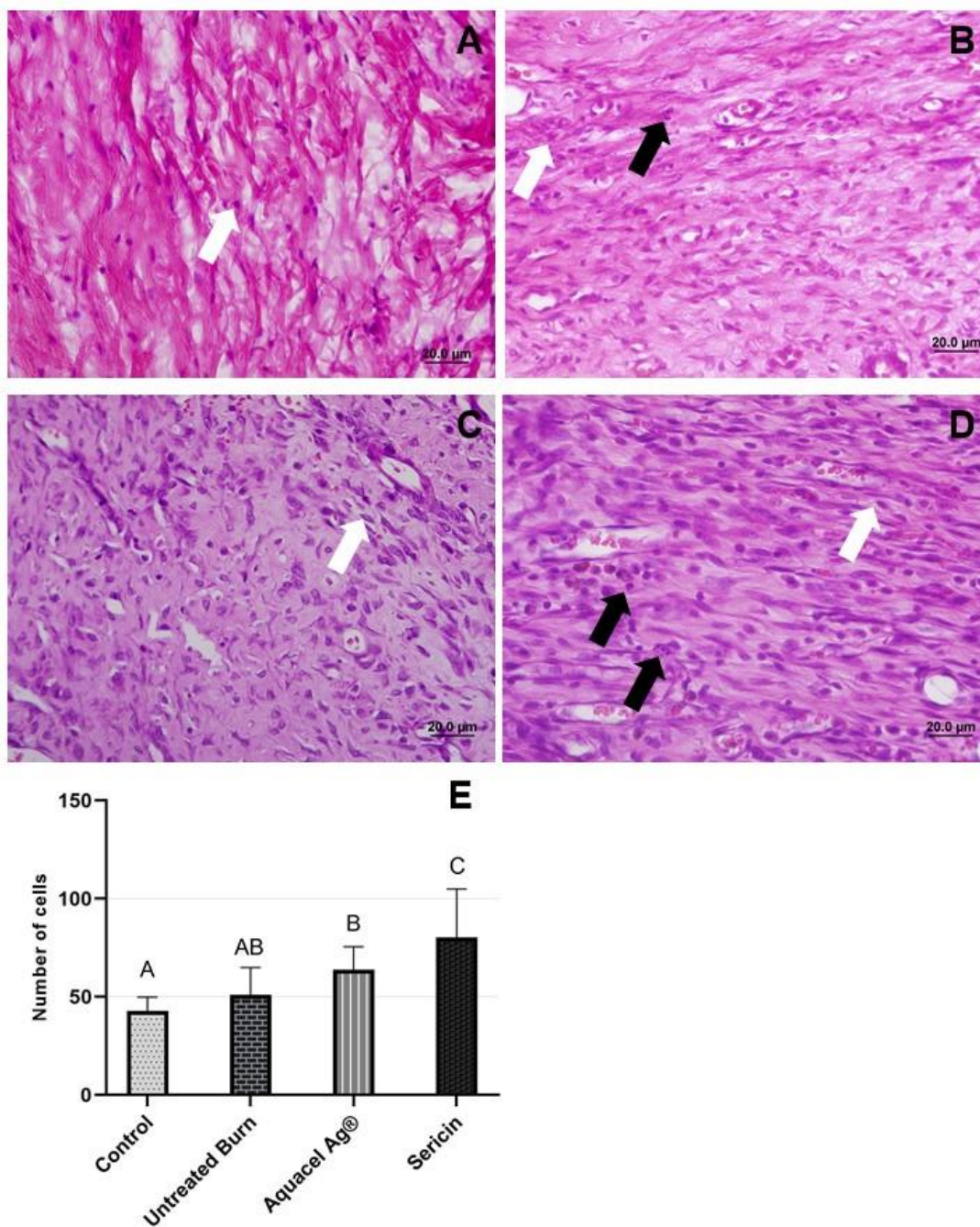


Figura 1 Fotomicrografias da camada reticular da derme de rato Wistar, no 13^o dia após lesão por queimadura, coloração hematoxilina e eosina, 400x. Em A, grupo controle; em B, grupo com lesão sem tratamento; em C, grupo tratado com Aquacel Ag®; e em D, grupo tratado com biocurativo de sericina. Setas pretas indicam neutrófilos e setas brancas indicam infiltrado polimorfonuclear. Em E, gráfico do número de células do infiltrado inflamatório para comparação entre os grupos, em que letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes e letras iguais apresentam semelhança estatística.

Nas primeiras 24h, a vasodilatação local inicia a fase inflamatória caracterizada pela presença de neutrófilos e macrófagos que liberam citocinas, quimocinas e removem detritos e patógenos do local da lesão. Em casos de feridas por queimadura, a resposta inflamatória pode ser desregulada e essa cascata ocorre repetidamente ou pode permanecer descontrolada. Dessa forma, é necessário um equilíbrio entre mediadores pro-inflamatório e anti-inflamatório (JESCHKE *et al.*, 2020).

No presente estudo, um estado inflamatório prolongado pode ser observado durante as análises morfológicas (figura 1), por meio da identificação da presença de neutrófilos especialmente nos grupos sem tratamento e sericina. Apesar da importância dos neutrófilos, quando persistentes, aumentam a produção de enzimas proteolíticas, prejudicando processos vasculares e afetando a angiogênese (RODRIGUES *et al.*, 2019). Esse comprometimento na formação de novos vasos foi observado após as análises quantitativas. Os resultados confirmaram que o grupo lesão sem tratamento e o grupo sericina foram os grupos que apresentaram a menor quantidade de vasos dos grupos induzidos com a queimadura. Apesar disso, não houve diferenças quando comparados ao tratamento padrão.

Contagem de Vasos

Controle	Queimadura sem tratamento	Queimadura Aquacel Ag®	Queimadura Sericina
5,79 ± 1,62	13,08 ± 5,56	16,41 ± 7,03	15,50 ± 6,18
A	B	B	B

Tabela 2- Valores expressos em média ± desvio padrão da média. Comparação entre os grupos em que letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes e letras iguais apresentam semelhança estatística.

Na quantificação de infiltrado inflamatório, as lesões por queimaduras tratadas com biocurativo de sericina apresentaram quantidade significativamente maior, quando comparadas aos demais grupos com lesão (Figura 3). Esse efeito inflamatório exacerbado, foi anteriormente relatado em processo de reparo, quando houve exposição à proteína sericina (DEBASTIANI *et al.*, 2019). Achado semelhante foi

encontrado por Aramwit et al. (2016), ao utilizar curativo que continha sericina na formulação para tratar feridas induzidas com espessura total, havendo aumento da resposta inflamatória até o 14º dia.

Analises *in vitro* e *in vivo*, Sapru et al (2019), mostraram que hidrogel à base de sericina não foi inflamatório e auxiliou a promover a reconstrução do tecido cutâneo. Outro estudo experimental que utilizou pomada com sericina para tratar feridas por excisão, ao término dos sete dias de experimento, evidenciou os resultados em que os níveis dos mediadores inflamatórios TNF- α e IL-1 β foram significativamente menores do que os outros grupos. No entanto, os autores relataram uso de anti-inflamatório injetável no subcutâneo nos primeiros cinco dias de experimento (ARAMWIT *et al.*, 2009). O uso da medicação pode ter influenciado na resposta inflamatória. Deve-se considerar, também, o tipo de ferida utilizada, pois as queimaduras profundas se diferem de outros tipos de feridas traumáticas, pela sua natureza e pelos seus efeitos (Lang *et al.*, 2019).

No processo de cicatrização usando biocurativo de sericina, houve um aumento do processo inflamatório. Como a cicatrização de roedores é por contração rápida, a sericina possivelmente interferiu no fechamento da ferida (MASSON-MEYERS *et al.*, 2020). Isso indica que a queimadura profunda associada aos efeitos pro-inflamatórios da sericina podem ter influenciado no retardo dos processos cicatriciais (JESCHKE *et al.*, 2020).

Os queratinócitos são células que desempenham um importante papel no processo de reepitelização, principalmente com aumento da sua proliferação e migração nas camadas basais durante a fase proliferativa (PASTAR *et al.*, 2014; DAS *et al.*, 2023). Nas regiões adjacentes à queimadura, os resultados evidenciaram, nos grupos tratados com Sericina ($141,3 \pm 142,5$) e Aquacel Ag® ($139,4 \pm 120,8$), uma epiderme significativamente mais espessa (Figura 2) comparada aos grupos controle ($29,6 \pm 6,4$) e grupo sem tratamento ($52,6 \pm 19,3$).

O biocurativo de sericina demonstrou potencial de proliferação para queratinócitos, o achado pode estar relacionado à capacidade de indução que a sericina apresenta sob vias de sinalização importantes para a regulação e migração celular (Martínez-Mora *et al.*, 2012). Essa potencialidade também foi observada em estudo *in vitro* com fibroblastos (ARAMWIT *et al.*, 2013), aumentando a produção de colágeno tipo I (Aramwit *et al.*, 2010) e com outras linhagens celulares de mamíferos,

indicando que a sericina proporcionou uma divisão mais precoce do que linhagens sem sericina (TERADA *et al.*, 2002).

Mesmo considerando serem formulações diferentes, tendo em comum a sericina, Ersel *et al.* (2013) corroboram com esses achados e, após o tratamento de feridas experimentais no dorso de ratos com gel contendo 1% de sericina, os resultados também evidenciaram uma epiderme significativamente mais espessa.

ESPESSURA DA EPIDERME

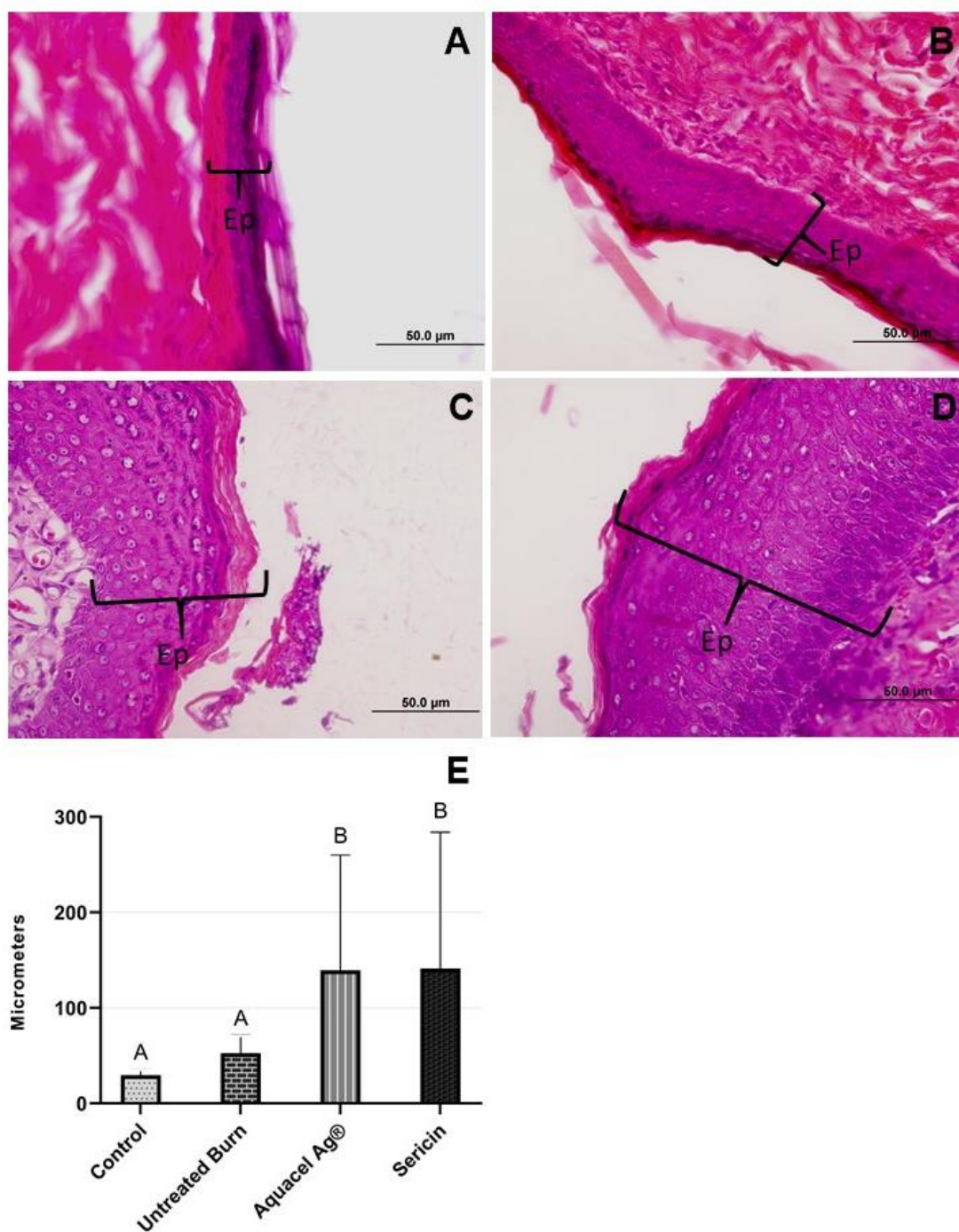


Figura 2- Fotomicrografias da epiderme de rato Wistar, no 13º dia após lesão por queimadura, coloração hematoxilina e eosina, aumento de 400x. Em A, grupo controle; em B, grupo com lesão sem tratamento; em C, grupo tratado com Aquacel Ag®; e em D, grupo tratado com biocurativo de sericina. Em E, gráfico comparativo da espessura da epiderme nos grupos, letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes e letras iguais apresentam semelhança estatística.

Existe uma interação dependente entre queratinócitos e fibroblastos durante os processos cicatriciais. Os queratinócitos estimulam os fibroblastos a sintetizar fatores de crescimento, que estimulam a proliferação de queratinócitos de maneira parácrina (NAYAK *et al.*, 2013). Os fibroblastos são células difundidas no tecido conjuntivo no qual depositam e remodelam a matriz extracelular. Quando recrutados, convertem-se em miofibroblastos e aumentam a deposição de colágeno em feridas (RODRIGUES *et al.*, 2019). Os resultados indicaram que, nos grupos que receberam a indução da queimadura os com maior espessura na epiderme, ou seja, os tratados com Aquacel Ag® e Sericina, foram os que apresentaram maior quantidade de tecido conjuntivo, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os dois grupos (Figura 3). Isso confirma essa relação entre queratinócitos e fibroblastos, evidenciando um efeito positivo do biocurativo de sericina também no tecido conjuntivo.

TECIDO CONJUNTIVO

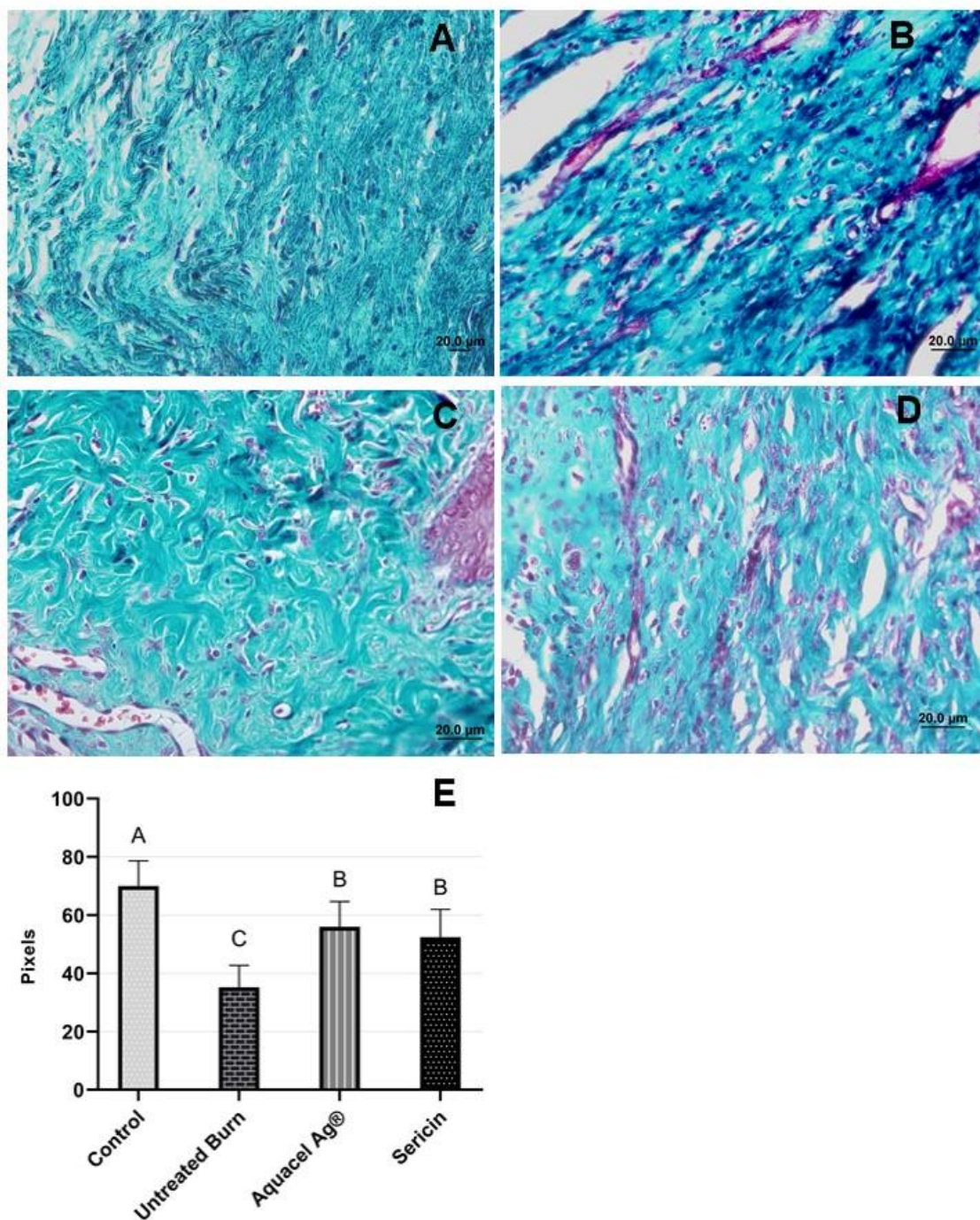


Figura 3- Fotomicrografias da região da derme, camada papilar, de rato Wistar, no 13º dia após lesão por queimadura, coloração tricrômico de Masson, 400x. Em A, grupo controle; em B, grupo com lesão sem tratamento; em C, grupo tratado com Aquacel Ag®; e em D, grupo tratado com biocurativo de sericina. Em E, gráfico quantitativo de colágeno, em pixels da marcação do corante, para comparação entre os grupos. Letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes e letras iguais apresentam semelhança estatística.

CONCLUSÃO

O uso do biocurativo de sericina aumentou a espessura epitelial, quantidade de tecido conjuntivo e número de vasos com resultados semelhantes ao tratamento padrão. Isso indica que o biocurativo de sericina apresenta potencialidades cicatrizantes para o tratamento de queimaduras. Uma exacerbação da resposta inflamatória foi observada com o uso do biocurativo de sericina. Sugere-se que pesquisas futuras incluam queimaduras mais superficiais para observar esse efeito.

Referencias

- Aramwit P, Kanokpanont S, De-Eknamkul W, Srichana T. Monitoring of inflammatory mediators induced by silk sericin. *Journal of Bioscience and Bioengineering. J Biosci Bioeng.* 2009 May; 107(5):556-61.
- Aramwit P, Kanokpanont S, Nakpheng T, Srichana T. The effect of sericin from various extraction methods on cell viability and collagen production. *Int J Mol Sci.* 2010 May 20;11(5):2200-11
- Aramwit P, Palapinyo S, Srichana T, Chottanapund S, Muangman P. Silk sericin ameliorates wound healing and its clinical efficacy in burn wounds. *Arch Dermatol Res.* 2013 Sep;305(7):585-94.
- Aramwit P, Yamdech R, Ampawong S. Controlled Release of Chitosan and Sericin from the Microspheres-Embedded Wound Dressing for the Prolonged Anti-microbial and Wound Healing Efficacy. *AAPS J.* 2016 May;18(3):647-58.
- Bakhsheshi-Rad HR, Ismail AF, Aziz M, Akbari M, Hadisi Z, Omid M, et al. Development of the PVA/CS nanofibers containing silk protein sericin as a wound dressing: In vitro and in vivo assessment. *Int J Biol Macromol.* 2020 Apr 15;149:513-521.
- Chollakup R, Uttayarat P, Chworos A, Smitthipong W. Noncovalent Sericin-Chitosan Scaffold: Physical Properties and Low Cytotoxicity Effect. *International journal of molecular sciences.* 2020; 21(3), 775.
- Das G, Seo S, Yang IJ, Nguyen LTH, Shin HS, Patra JK. Synthesis of Biogenic Gold Nanoparticles by Using Sericin Protein from *Bombyx mori* Silk Cocoon and Investigation of Its Wound Healing, Antioxidant, and Antibacterial Potentials. *Int J Nanomedicine.* 2023 Jan 4;18:17-34.
- Das G, Shin H, Campos EVR, Fraceto LF, Torres MDPR, Mariano KFC, Araújo DR, Luqueño FF, Grillo R, Patra JK. Sericin based nanoformulations: a comprehensive review on molecular mechanisms of interaction with organisms to biological applications. *Jornal of Nanobiotechnology.* 2021 Jan; 19 (1); 2-22.
- Debastiani JC, Santana AJ, Ribeiro LFC, Brancalhão RMC, Bertolini GRF. Sericin silk protein in peripheral nervous repair associated with the physical exercise of swimming in Wistar rats. *Neurol Res.* 2019 Apr;41(4):326-334.
- Ersel M, Uyanikgil Y, Karbek Akarca F, Ozcete E, Altunci YA, Karabey F, et al. Effects of Silk Sericin on Incision Wound Healing in a Dorsal Skin Flap Wound Healing Rat Model. *Med Sci Monit.* 2016 Apr 1;22:1064-78.
- Franck LC, Senegaglia AC, Leite LMB, Ribas-Filho JM. Padronização de queimaduras térmicas em ratos por contato direto com a superfície cutânea. *Revista Brasileira de Queimaduras.* 2018; 17,14-9.
- Jeschke MG, Van Baar ME, Choudhry MA, ChunG KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. *Nat Rev Dis Primers.* 2020 Feb 13;6(1):11.

Lang TC, Zhao R, Kim A, Wijewardena A, Vandervord J, Xue M, Jackson CJ. A Critical Update of the Assessment and Acute Management of Patients with Severe Burns. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2019 Dec 1;8(12):607-633.

Martínez-Mora C, Mrowiec A, García-Vizcaíno EM, Alcaraz A, Cenis JL, Nicolás FJ. Fibroin and sericin from *Bombyx mori* silk stimulate cell migration through upregulation and phosphorylation of c-Jun. *PLoS One*. 2012;7(7):e42271

Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GF, Guimaraes FR, Leite MN, Leite SN, Frade MAC. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *Int J Exp Pathol*. 2020 Feb;101(1-2):21-37.

Miranda HPF, Camargo IN, Cunha IA, Freitas JB, Silva JM, Mota MR. Queimaduras: fisiopatologia das complicações sistêmicas e manejo clínico. *Brazilian Journal of Development*. Jun. 2021; 7 (6): 64377-64393.

Napavichayanun S, Yamdech R, Aramwit P. The safety and efficacy of bacterial nanocellulose wound dressing incorporating sericin and polyhexamethylene biguanide: in vitro, in vivo and clinical studies. *Arch Dermatol Res*. 2016 Mar;308(2):123-32.

Nayak S, Dey S, Kundu SC. Skin equivalent tissue-engineered construct: co-cultured fibroblasts/ keratinocytes on 3D matrices of sericin hope cocoons. *PLoS One*. 2013 Sep 13;8(9):e74779.

Neves SMO, Filho JM, Menezes EW. Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do biotério de produção e experimentação da FCF-IQ/USP. USP; São Paulo, 2013.

Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, et al. Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2014 Jul 1;3(7):445-464.

Qin, H., Zhang, J., Yang, H., Yao, S., He, L., Liang, H., Wang, Y., Chen, H., Zhao, P., & Qin, G. Safety Assessment of Water-Extract Sericin from Silkworm (*Bombyx mori*) Cocoons Using Different Model Approaches. *BioMed research international*. 2020, 1-13.

Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019 Jan 1;99(1):665-706.

Rowan MP, Cancio LC, Elster EA, Burmeister DM, Rose LF, Natesan S, Chan RK, Christy RJ, Chung KK. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Crit Care*. 2015 Jun 12;19:243.

Sapru S, DAS S, Mandal M, Ghosh A K, Kundu SC. Nonmulberry silk protein sericin blend hydrogels for skin tissue regeneration - in vitro and in vivo. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019 Sep v. 15, n. 137, p. 545-553.

Siritientong T, Angspatt A, Ratanavaraporn J, Aramwit P. Clinical potential of a silk sericin-releasing bioactive wound dressing for the treatment of split-thickness skin graft donor sites. *Pharm Res*. 2014 Jan;31(1):104-16.

Siritientong T, Srichana T, Aramwit P. The effect of sterilization methods on the physical properties of silk sericin scaffolds. *AAPS PharmSciTech*. 2011 Jun;12(2):771-81.

Sahu N, Pal S, Sapru S, Kundu J, Talukdar S, Singh NI, et al. Non-Mulberry and Mulberry Silk Protein Sericins as Potential Media Supplement for Animal Cell Culture. *Biomed Res Int*. 2016, 2016:7461041.

Sone AP, Gimenes ML, Tiunan TS, Hoscheid J, Tominc GC, Dalmagro M, et al. Sericin biofilm endowed with silver sulfadiazine for treatment of burs. *J Pharm innov*, Sep. 2021.

Terada S, Nishimura T, Sasaki M, Yamada H, Miki M. Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology*. 2002 Nov;40(1-3):3-12.

7 CONCLUSÕES FINAIS

São poucos os ensaios clínicos que usam a sericina para tratamentos de queimaduras e outros tipos de feridas. Os poucos estudos encontrados demonstram bons efeitos da sericina na reepitelização e nos escores de dor sendo também um bom hidratante.

O biocurativo de sericina apresentou potencialidades na cicatrização principalmente influenciando na espessura do epitélio e tecido conjuntivo de forma semelhante ao tratamento controle. No entanto, a sericina demonstrou um efeito inflamatório que pode ter influenciado especialmente na neoangiogenese e reepitelização

REFERÊNCIAS GERAIS

AHSAN, F.; ANSARI T. M.; USMANI, S.; BAGGA, P. An Insight on Silk Protein Sericin: From Processing to Biomedical Application. **Drug Research**, v. 68, n. 6, p. 317-327, Nov. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29132177/>. Acesso em: 20 Mai. 2020.

ARAMWIT, P.; KEONGAMAROON, O.; SIRITIENTONG, T.; BANG, N.; SUPASYNDH, O. Sericin cream reduces pruritus in hemodialysis patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled experimental study. **BMC Nephrol.** v. 13, n. 119, p. 1-11, Sep. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3472272/pdf/1471-2369-13-119.pdf>. Acesso em: 20 Fev. 2020.

ARAMWIT, P.; SAGNCAKUL, A. The effects of sericin cream on wound healing in rats. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** v. 71, n. 10, p. 2473–2477, Oct. 2007. Disponível em: <https://academic.oup.com/bbb/article/71/10/2473/5940417?login=true>. Acesso em: 20 de Fev. 2020.

ARAMWIT, P.; KANOKPANONT, S.; DE-EKNAMKUL, W.; KAMEI, K.; SRICHANA, T.; The effect of sericin with variable amino-acid content from different silk strains on the production of collagen and nitric oxide. **J Biomater Sci Polym**, v. 20, n. 9, p. 1295-1306, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19520013/>. Acesso em: 20 mai. 2020.

ARAMWIT, P.; PALAPINYO, S.; SRICHANA, T.; CHOTTANAPUND, S.; MUANGMAN, P. Silk sericin ameliorates wound healing and its clinical efficacy in burn wounds. **Arch Dermatol Res.** v.7, n. 94, Sep. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23748948/>. Acesso em: 23 Fev. 2020.

ARAMWIT, P., et al. Silk sericin ameliorates wound healing and its clinical efficacy in burn wounds. *Archives of Dermatological Research*, 305(7), 585–59, 2013.

AZULAY, R. D; AZULAY, D. R.; ABULAFIA, A. A.; **Dermatologia.** 7 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2017.

BAKHSHESHI-RAD, H. R.; ISMAIL, A. F.; AZIZ, M.; AKBARI, M.; HADISI, Z.; OMIDI, M.; CHEN, X. Development of the PVA/CS nanofibers containing silk protein sericin as a wound dressing: In vitro and in vivo assessment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 513–521, Apr. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813019349657> . Acesso em: 21 nov. 2020.

BARNEA, Y.; WEISS, J.; GUR, E. A review of the applications of the hydrofiber dressing with silver (Aquacel Ag®) in wound care. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 6, n. 1, p. 21–27, Feb. 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2817785/>. Acesso em: 18 Dez. 2020.

BÄSLER, K.; BRANDNER, J. M. Tight junctions in skin inflammation. *Pflügers Archiv-Europen Journal of Physiology*, v. 469, n.1, Nov. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00424-016-1903-9>. Acesso em: 30 Jun. 2020.

BIANCONI, E.; PIOVESAN, A.; FACCHIN, F.; BERAUDI, A.; CASADEI, R.; FRABETTI, F.; VITALE, L.; PELLER, M. C.; TASSANI, S.; PIVA, F.; EREZ-AMODIO, S.; STRIPPOLI, P.; CANAIDER, S. An estimation of the number of cells in the human body. *Annals of Human Biology*, v. 40, n. 6, p. 463-471, Jul. 2013. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/03014460.2013.807878>. Acesso em: 30 jun. 2020.

BRANDNER, J. M.; SCHULZE, J. D.; Hereditary barrier-related diseases involving the tight junction: lessons from skin and intestine. *Cell and Tissue Research*, v. 3, n. 360 p. 723-748, Feb. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6855288/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Queimados. 2017. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/component/content/article/842-queimados/40990-queimados>. Acesso em: 22 mar. 2020.

CAI, E. Z.; ANG, C. H.; RAJU, A.; TAN, K. B.; HING, E. C. H.; LOO, Y.; LIM, T. C. Creation of Consistent Burn Wounds: A Rat Model. *Archives of Plastic Surgery*, v. 41, n. 4, p. 317-324, Jul. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4113688/pdf/aps-41-317.pdf>. Acesso em: 16 Ago. 2020.

CHIAROTTO, G. B.; NEVES, L. M. G.; ESQUISATTO, M. A. M.; DO AMARAL, M. E. C.; DOS SANTOS, G. M. T.; MENDONÇA, F. A. S. Effects of laser irradiation (670-nm InGaP and 830-nm GaAlAs) on burn of second-degree in rats. *Lasers in Medical Science*, v. 29, n. 5, p. 1685–1693, Sep. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24729046/>. Acesso em: 30 Mar. 2020.

COUTRO. P.S. Qualidade de Vida do Paciente queimado. Ver. Bras. Queimaduras. V.19. n.1. p.1. 2020. Disponível em: <file:///D:/Users/Usuario/Downloads/Editorialv19n1.pdf>. Acesso em nov. 2021.

DE CAMPOS, E. P.; TROMBINI, L. N.; RODRIGUES, R.; PORTELLA, D. L.; WERNER, A. C.; FERRAZ, M. C.; DE OLIVEIRA, R. V.; COGO, J. C.; OSHIMA-FRANCO, Y.; ARANHA, N.; GERENUTTI, M. Healing activity of *Casearia sylvestris* Sw. in second-degree scald burns in rodents. *BMC Res Notes*. v. 26, n. 8, p. 1-8, 269. Jun. 2015. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4482163/pdf/13104_2015_Article_1251.pdf. Acesso em: 20 Jan. 2021.

ERSEL, M.; UYANIKGIL, Y.; KARBEK AKARCA, F.; OZCETE, E.; ALTUNCI, Y. A.; KARABEY, F.; OYKU CETIN, E. Effects of Silk Sericin on Incision Wound Healing in a Dorsal Skin Flap Wound Healing Rat Model. *Medical Science Monitor*, v. 22, p. 1064–1078, Apr. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822939/>. Acesso em: 20 Mai. 2020.

ESKI, M.; OZER, F.; FIRAT, C.; ALHAN, D.; ARSLAN, N.; SENTURK, T.; IŞIK, S. Cerium nitrate treatment prevents progressive tissue necrosis in the zone of stasis following burn. **Burns**, v. 38, n. 2, p. 283–289, Mar. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22015201/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

FRANCK, L.C.; SENEGAGLIA, A. C.; LEITE, L. M. B.; RIBAS-FILHO, J. M. Padronização de queimaduras térmicas em ratos por contato direto com a superfície cutânea. **Rev Bras Queimaduras**. v.17, n. 1, p. 9-14. 2018.

FORTUNA, T.; GONZALEZ, A. C.; SÁ, M. F.; ANDRADE, Z. DE A.; REIS, S. R. A.; MEDRADO, A. R. A. P. Effect of 670 nm laser photobiomodulation on vascular density and fibroplasia in late stages of tissue repair. **International Wound Journal**, v. 15, n. 2, p. 274–282, Apr. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29239111/>. Acesso em: 30 Jun. 2020.

Gartner, L. P. **Tratado de histologia**. 4 ed. Rio de Janeiro. Guanabara saúde didático. 2017.

GOVELA, E.; BERDYSHEV, E.; LEUNG, D. Y .M. Epithelial barrier repair and prevention of allergy. **J. Clin. Invest.** v. 129, n. 4, p. 1463-1474, Apr. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6436854/>. Acesso em: 4 abr. 2020.

GUO, X.; MEI, N. Aloe vera: A review of toxicity and adverse clinical effects. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 34, n. 2, p. 77–96, Apr. 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6349368/>. Acesso em: 5 abr. 2020.

HIXON, K. R.; KLEIN, R. C.; EBERLIN, C. T.; LINDER, H. R.; ONA, W. J.; GONZALEZ, H.; SELL, S. A. A Critical Review and Perspective of Honey in Tissue Engineering and Clinical Wound Healing. **Advances in Wound Care**, New Rochelle, v. 8, n. 8, p. 403–415, Jul. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6855288/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HU, M. S.; BORRELLI, M. R.; HONG, W. X.; MALHOTRA, S.; CHEUNG, A.; RANSOM, R. C.; RENNERT, R. C.; MORRISON, S. D.; LORENZ, H. P.; LONGAKER, M. T. Embryonic skin development and repair. **Organogenesis**, v. 14 n. 1, p. 46–63, Feb, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6150059/>. Acesso em: 4 abr. 2020.

IHEOZOR-EJIOFOR Z, NEWTON K, DUMVILLE JC, COSTA ML, NORMAN G, BRUCE J. Negative pressure wound therapy for open traumatic wounds. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Jul 3;7(7):CD012522. doi: 10.1002/14651858.CD012522.pub2. PMID: 29969521; PMCID: PMC6513538.

INOUE, R.; YOSHIHISA, Y.; TOJO, Y.; OKAMURA, C.; YOSHIDA, Y.; KISHIMOTO, J.; MORI, H. Localization of Serine Racemase and Its Role in the Skin. **Journal of**

Investigative Dermatology, v. 134, n. 6, p. 1618–1626, Jun. 2014.

JADAD, A. R.; MOORE, R. A.; CARROL, D.; JENKINSON, C.; REYNOLDS, D. M.; GAVAGHAN, D. J.; MCQUAY, H. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? **Control Clin Trials**. 1996; 17:1-12. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0197245695001344>. Acesso em: Ago. 2021.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; ABRAHAMSOHN, P. **Histologia básica**: texto e atlas. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

LIU, C.; CUI, Y.; PI, F.; CHENG, Y.; GUO, Y.; QIAN, H. Extraction, Purification, Structural Characteristics, Biological Activities and Pharmacological Applications of Acemannan, a Polysaccharide from Aloe vera: A Review. **Molecules**, v. 24, n. 1554, p. 1-22, Apr. 2019. Disponível em: file:///D:/Users/Usuario/Downloads/molecules-24-01554.pdf. Acesso em: 25 mar. 2020.

LOSQUADRO, W. D. Anatomy of the skin and the pathogenesis of nonmelanoma skin cancer. **Facial plastic Surgery Clinics of North America**, v. 25, n. 3, p. 283-289, May. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28676156/>. Acesso em: 22 mar. 2020.

KANITAKIS, J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. **European Journal of Dermatology**, v. 12, n. 4, p. 390–401, Jul-Aug. 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12095893/>. Acesso em: 4 abr. 2020.

KHANSA, I.; SCHOENBRUNNER, A. R.; KRAFT, C. T.; JANIS, J. E. Silver in Wound Care—Friend or Foe? **Global Open**, v. 7, n. 8, p. 1-10, Aug. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6756674/>. Acesso em: 4 abr. 2020.

KEMPF, M.; KIMBLE, R. M.; CUTTLE, L. Cytotoxicity testing of burn wound dressings, ointments and creams: A method using polycarbonate cell culture inserts on a cell culture system. **Burns**, v. 37, n. 6, p. 994–1000, Mar. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417911000994?via%3DiHub>. Acesso em: 25 mar. 2020.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular**: uma introdução à patologia, 2 ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2008

KUNZ, R.I.; BRANCALHÃO, R.M.; RIBEIRO, L.F.; NATALI, M.R. Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. **Biomed Res Int**. v. 2016, n. , p. 1-19 Nov. 2016.

KRUCHEVSKY, D.; PIKKEL, Y.; MATTAR, S.; RAMON, Y.; ULLMANN, Y.; Optimizing the use of Aquacel Ag® for pediatric burns - When to start? **Ann Burns Fire Disasters**. v. 31, n. 1, p. 33-37, Mar. 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7263723/#:~:text=To%20optimize%20its%20use%20and,topical%20preparation%20should%20be%20used>. Acesso em: 27 Feb. 2021.

LOHANA, P.; POTOKAR, T. S. Aquacel ag® in paediatric burns - a prospective audit. **Annals of burns and fire disasters**, v. 19, n. 3, p. 144–147, Sep. 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3188096/>. Acesso em: 18 Dez. 2020.

MOHAR, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN D. G.; The PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. Tradução: GAUVÃO, T. F.; PANSINI, T. S. A.; HARRAD, D. **Epidemiol. Serv. Saúde**. v. 24, n. 2, p. 335-342. Abr-Jun. 2015. Disponível em: <http://prisma-statement.org/documents/PRISMA%20Portuguese%20Statement.pdf>. Acesso em: agosto de 2020.

NAPAVICHAYANUN, S.; AMPAWONG, S.; HARNSILPONG, T.; ANGSPATT, A.; ARAMWIT, P. Inflammatory reaction, clinical efficacy, and safety of bacterial cellulose wound dressing containing silk sericin and polyhexamethylene biguanide for wound treatment. **Archives of Dermatological Research**, v. 310, p. 795-805, Oct. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30302557/>. Acesso em: 30 mar. 2020.

NEVES, S.M.O.; FILHO, J. M.; MENEZES, E.W.; Manual de cuidados e procedimentos com animais de de laboratório do biotério de produção e experimentação da FCF-IQ/USP. USP; São Paulo, 2013.

MANSORES, M. L.; SZPALHER, A. S.; SOUZA, A. P.; ABREU, A. M. Diagnóstico de enfermagem em pacientes hospitalizados com queimaduras: revisão integrativa. **Rer. Bras. Queimaduras**. v. 19, n 1. P. 1-9, 2020. Disponível em: file:///D:/Users/Usuario/Downloads/1901a09.pdf . Acesso em: novembro 2021.

MATSUI, T.; AMAGAI, M. Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum. **International Immunology**, v. 27, n. 6, p. 269–280, Mar. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25813515/>. Acesso em: 4 abr. 2020.

MCGUINNESS, W.; VELLA, E.; HARRISON, D. Influence of dressing changes on wound temperature. **Journal of Wound Care**, v. 13, n. 9, p. 383–385, 2004

MÉLEGA, J. M. **Cirurgia plástica fundamentos e arte**: Princípios gerais 1 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002.

MEYER, T.N.; SILVA, A.L. A standard burn model using rats. **Acta Cir. Bras**. v..14. n. 4, São Paulo, Oct-Dec. 1999.

NÍMIA, H. H.; CARVALHO, V. F.; ISAAC, C.; SOUZA, F. Á.; GEMPERLI, R.; PAGGIARO, A. O. Comparative study of Silver Sulfadiazine with other materials for healing and infection prevention in burns: A systematic review and meta-analysis. **Burns**, v. 45, n. 2, p. 293-302, May. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0305417918303991>. Acesso em: 19 mar. 2020.

NONG, X.; RAJBANSHI, G.; CHEN, L.; LI, J.; LI, Z.; LIU, T.; CHEN, S.; WEI, G.; LI, J. Effect of artesunate and relation with TGF-β1 and SMAD3 signaling on

experimental hypertrophic scar model in rabbit ear. **Archives of dermatological research**, v. 311, n. 10, p. 761–772, Aug. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6815271>. Acesso em: 30 Jun. 2020.

OEN, I. M. M. H.; VAN BAAR, M. E.; MIDDELKOOP, E.; NIEUWENHUIS, M. K. Effectiveness of Cerium Nitrate–Silver Sulfadiazine in the Treatment of Facial Burns. **Plastic and Reconstructive Surgery**. v. 130 n. 2, p. 274–283, Aug. 2012. Disponível em: 4 abr. 2020.

RAHMAN, S.; CARTER, P.; BHATTARAI, N. Aloe Vera for Tissue Engineering Applications. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 8, n. 1, p. 6, Feb. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5371879/>. Acesso em: 25 mar. 2020.

ROWAN, M. P.; CANCIO, L. C.; ELSTER, E. A.; BURMEISTER, D. M.; ROSE, L. F.; NATESAN, S.; CHAN, R. K.; CHRISTY, R. J.; CHUNG, K. K. Burn wound healing and treatment: review and advancements. **Critical care**, London, v. 19, n. 243, p. 2–12, Jun. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464872/>. Acesso em: 22 mar. 2020.

RUTH, L.; GHATAK, S.; SUBBARAYAN, S.; CHOUDHURY, B.N.; GURUSUBRAMANIAN, G.; KUMAR. N.S.; BIN, T. Influence of micronutrients on the food consumption rate and silk production of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) reared on mulberry plants grown in a mountainous agro-ecological condition. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. 878, p. 1–11, Jul. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6634293/>. Acesso em: 30 mar. 2020.

SCHOLTEN-JAEGERS, S. M. H. J.; NIEUWENHUIS, M. K.; VAN BAAR, M. E.; NIEMEIJER, A. S.; HIDDINGH, J.; BEERTHUIZEN, G. I. J. M. Epidemiology and Outcome of Patients With Burns Treated With Cerium Nitrate Silversulfadiazine. **Journal of Burn Care & Research**, v. 38, n. 1, p. 432–442, Jan-Fer. 2017. Disponível em: <https://academic.oup.com/jbcr/article/38/1/e432/4568959>. Acesso em: 4 Abr. 2020.

SANTOS, K. M. M. G.; CORDEIRO, M. E. R.; SILVA, P.; BARBOSA, D.; PEZZINI, A. A.; KERPPERS, I. I. Comparative study in photodynamic therapy using the same photosensitizer in tissue repair after second-degree burns in an experimental model. **Laser Dent Sci**, v. 4, p. 17–24, Dec. 2020.

SAPRU, S.; DAS, S.; MANDAI, M.; GHOSH, A. K.; KUNDU, S. C. Nonmulberry silk protein sericin blend hydrogels for skin tissue regeneration - in vitro and in vivo. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 15, n. 137, p. 545-553, Sep. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31220499/>. Acesso em: 22 mai. 2020.

SILVEIRA, P. C. L.; FERREIRA, K. B.; DA ROCHA, F. R.; PIERI, B. L. S.; PEDROSO, G. S.; DE SOUZA, C. T.; PINHO, R. A. Effect of Low-Power Laser (LPL) and Light-Emitting Diode (LED) on Inflammatory Response in Burn Wound Healing. **Inflammation**, v. 39, n. 4 p. 1395–1404, 2016.

SONE, A.P; GIMENES, M.L.; TIUMAN, T.S.; HOSCHEID, J.; TOMINC, G. C.; DALMAGRO, M.; LIED, B.E.; MOREJON, C.F.M. Sericin biofilm endowed with silver sulfadiazine for treatment of burs. **J Pharm innov**, Sep. 2021. Acesso em: 17 de out. 2021.

SONE, Ana Paula. UTILIZAÇÃO DA SERICINA EM BIOMATERIAIS. 2017. 152f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2017.

SIRITIENTONG, T.; ANGSPATT, A.; RATANAVARAPORN, J.; ARAMWIT, P. Clinical potential of a silk sericin-releasing bioactive wound dressing for the treatment of split-thickness skin graft donor sites. **Pharm Res**, v. 31, n. 1, New York, Jun. 2013. Disponível em: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900888/#:~:text=When%20tested%20in%20patients%20with,%C3%97%2010\(%2D4\)\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23900888/#:~:text=When%20tested%20in%20patients%20with,%C3%97%2010(%2D4))). Acesso em: 30 Jun. 2020.

STONE II, R.; NATESAN, S.; KOWALCZEWSKI, C. J.; MANGUM, L. H.; CLAY, N. E.; CLOHESSY, R. M.; CARLSSON, A. H.; TASSIN, D. H.; CHAN, R. K.; RIZZO, J. A.; CHRISTY, R. J. (2018). Advancements in Regenerative Strategies Through the Continuum of Burn Care. **Frontiers in pharmacology**, v. 9, n. 672, Jul. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6046385/>. Acesso em: 30 jun. 2020.

TIWARI, V. K. Burn wound: How it differs from other wounds? **Indian Journal of Plastic Surgery**, Índia, v. 45, n. 2, p. 364-373, May./Aug. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3495387/>. Acesso em: 22 mar. 2020.

VARKEY, M.; VISSCHER, D. O.; ZUIJLEN, P. P. M. V.; ATALA, A.; YOO, J. J. Skin bioprinting: the future of burn wound reconstruction? **Burns & Trauma**, v. 7, n. 4, p. 1-12, Feb. 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/burnstrauma/article/doi/10.1186/s41038-019-0142-7/5685906?login=true>. Acesso em: 30 Jun. 2020.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 12 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2010.

WONG, D. J.; CHANG, H. Y. Skin tissue engineering in: stem book. Cambridge: edited by the stem cell research community, **StemBook**, Cambridge, Mar. 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27029/>. Acesso em: 15 jun. de 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Burs. 6 Mar. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/burns>. Acesso em: 22 mar. 2020.

YE, H.; DE, S. Thermal injury of skin and subcutaneous tissues: A review of experimental approaches and numerical models. **Burns**, v. 43, n. 5, p. 909–932, Aug. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5459687/pdf/nihms834498.pdf>. Acesso em: Ago. 2020.

ZOMER, H. D.; TRENTIN, A. G. Skin wound healing in humans and mice: Challengers in translational research. **Jornal of Dermatological Science**, v.90, n. 1, p. 3-12, Apr. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923181117310137>. Acesso em: 22 mai. 2020.

ANEXO 1

**Autorização**

O Protocolo nº 19-20 intitulado "Efeito da sericina tópica sobre a cicatrização de queimaduras.", sob a responsabilidade de **Gladson Ricardo Flor Bertolini** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, está de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE em reunião de 04/09/2020. Essa Autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do encaminhamento do Relatório Final de execução do Projeto para sua emissão.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/12/2020 a 05/03/2022
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogêneo Wistar
N. de animais	65
Peso/idade	250 – 350 g – 3 meses
Sexo	Masculino
Origem	Procedência do Biotério Central da UNIOESTE, campus de Cascavel

Cascavel, 10/09/2020

Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
 Coordenadora do CEUA
 Portaria nº 3126/2018-GRE

ANEXO 2

Escala de Jadad para avaliação de qualidade de Ensaio Clínico		
1. Estudo descrito como randomizado?	Sim	+1
	Não	0
2. Estudo descrito como duplo-cego?	Sim	+1
	Não	0
3. Houve descrição das perdas?	Sim	+1
	Não	0
4. Randomização apropriada?	Sim	+1
	Não	-1
	Não descrito	0
5. Cegamento apropriado?	Sim	+1
	Não	-1
	Não descrito	0
Total		

Resultado:

< 3 – alto risco de viés

≥ 3 – baixo risco de viés

Não deve demorar mais de 10 minutos para classificar um relato e não há respostas certas ou erradas.

Por favor, leia o artigo e tente responder as seguintes perguntas:

1. O estudo foi descrito como randomizado (isso inclui o uso de palavras como aleatoriamente, aleatório e randomização)?
2. O estudo foi descrito como duplo-cego?
3. Houve uma descrição das perdas e abandonos?

Dê uma pontuação de 1 ponto para cada "sim" e 0 ponto para cada "não". Não há meio ponto.

Dê 1 ponto adicional se	Na questão 1, o método de randomização foi descrito e foi apropriado (tabela de números aleatórios, gerado por computador, jogando moeda, etc.)
e / ou	Se na questão 2 o método de duplo cegamento foi descrito e foi adequado (placebo idêntico, placebo ativo, manequim, etc.)
Deduzir um ponto se	Na questão 1, o método de randomização foi descrito e foi inadequado (pacientes foram alocados em alternativa, ou de acordo com a data de nascimento, número de prontuário, etc.)
e / ou	Na questão 2, o estudo foi descrito como duplo-cego, mas o método de mascaramento foi inadequado (por exemplo, a comparação de comprimido com injeção sem dupla simulação)

Orientações sobre a utilização da escala

1. Randomização:

Se a palavra randomizado ou quaisquer outras palavras relacionadas, tais como aleatório, randômico, ou aleatorização são utilizadas no relatório, mas o método de randomização não é descrito, dá-se apenas um ponto para este item. Um método de randomização será considerado adequado se ele permitiu que cada paciente tivesse a mesma chance de receber cada tratamento e os investigadores não pudessem prever qual tratamento seria o próximo. Portanto, os métodos de alocação com data de nascimento, data de admissão, números de prontuário ou alternância não devem ser considerados adequados.

2. Duplo cegamento:

Um estudo deve ser considerado como duplo-cego, se o termo duplo-cego é usado. O método será classificado como apropriado se foi afirmado que nem o avaliador, nem o participante do estudo puderam identificar a intervenção que está sendo avaliada, ou, na ausência de tal afirmativa, o uso de placebos ativos, placebos idênticos ou simulação foram mencionados. Se houve uso do termo duplo-cego, mas o método não está descrito, dá-se apenas um ponto para este item.

3. As perdas e desistências:

Os pacientes que foram incluídos no estudo, mas não completaram o período de observação ou que não foram incluídos na análise devem ser descritos. O número e as razões da retirada devem estar indicados. Se não houver retiradas, deve ser indicado no artigo. Se não houver nenhuma declaração sobre as retiradas, esse item deve receber 0 ponto.

ANEXO 3

Decisão Editorial

5 mensagens

Brazilian Journal of Development <editor.bjd@brazilianjournals.com.br>

7 de abril de 2022 10:53

Para: edicleiade Freitas@gmail.com, mariazancan@gmail.com, andreia.sanches@unioeste.br, rosecb@gmail.com

Prezado(s) autor(es), tudo bem?

Após análise pelos pareceristas externos, foi tomada uma decisão sobre o artigo submetido à revista Brazilian Journal of Development.

Ensaios Clínicos do Uso de Sericina na Cicatrização de Feridas na Pele

A decisão é: Aceitar.

Neste momento será necessário efetuar o pagamento da taxa de publicação no valor de R\$ 590,00. Pedimos que nos avise, respondendo este e-mail, informando se prefere o pagamento por meio de depósito bancário ou cartão de crédito via paypal, que enviamos as informações na sequência.

Lembrando que terá que enviar novamente o artigo em word juntamente com o comprovante de pagamento da taxa de publicação.

Estamos à disposição caso tenha dúvidas, por e-mail ou pelo telefone/WhatsApp: (41) 3534-7401.

Abraços.

Prof. Dr. Edilson Antonio Catapan

ANEXO 4 ONLINE SUBMISSION

The **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences (BJPS)** is a peer-reviewed electronic journal published quarterly by the School of Pharmaceutical Sciences of the University of São Paulo.

The purpose of the **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** is to publish manuscripts that significantly contribute to knowledge in all areas of Pharmaceutical Sciences, including Medicines and Drugs, Pharmaceutical and Health Care, Food and Experimental Nutrition, Clinical Chemistry, Toxicology, Medicinal Chemistry, Pharmaceutical Technology, Biotechnology among others.

The following papers will not be accepted for publication:

- Studies on human subjects not approved by an accredited Ethics Committee or without written informed consent from the subject or legal guardian.
- Studies on animals not approved by an accredited Ethics and Animal Care Committee.
- Manuscripts describing plant extract activity that do not identify quali and quantitative markers of the extract

Preparation of the manuscripts

Manuscripts that do not agree to the Instructions will be refused prior to peer review. Manuscripts must be submitted in English.

Submission of a manuscript to BJPS implies that the data have not been published previously and will not be submitted for publication elsewhere while the manuscript is under review. Co-authors should be individuals who have contributed substantially to the content of the paper.

Manuscripts in accordance to the “Preparing your manuscript section” will be submitted for peer review to at least two independent, anonymous referees indicated by the Associated Editors. Based on peer review, the Associate Editors will suggest manuscript acceptance or not to the Editor-in-Chief, who is responsible for the final decision.

In the case revision is suggested, the authors are asked to resubmit the manuscript incorporating the suggestions and recommendations of the referees within 15 calendar

days. If the revised version is not received within the time specified from the date of notice, the manuscript process will be canceled. All revisions must be accompanied with a letter detailing the changes made to the original document and answering all the reviewer comments, on a point-by-point basis. All alterations must be identified in the revised manuscript.

Manuscripts must have their copyright assigned to the BJPS before submitting to the Journal.

The dates of receipt and acceptance will be published for each article. Authors are expected to return reviewed manuscripts to the Journal within 15 calendar days, and to return galley proofs of accepted manuscripts within 72 hours. The total number of "late" days will be added to the submission date at the time of publication.

Authors are required to suggest 4 potential reviewers with information of institutional and e-mail address. At least 2 of the potential reviewers suggested should be from a different country to the corresponding authors. The Editors reserve the right to indicate these or other reviewers for manuscript evaluation.

Manuscript categories

The authors should state in the cover letter that the manuscript is intended to be Full-length Original Paper, Short Communication, Review Article, Mini-review article, Concepts and Comments and Book Reviews. The Journal will also publish Thematic or Congress Abstracts Supplements under invitation by the Editors or previous approval of the Editorial Board. BJPS will publish the following type of articles:

Full-length Original Paper

Each manuscript should clearly state its objective or hypothesis; the experimental design and methods used; the essential features of any interventions; the main outcome measures; the main results of the study; and a discussion placing the results in the context of published literature. The manuscript should contain:

- abstract of no more than 250 words
- no more than 6 key words
- a running title to be used as a page heading, which should not exceed 60 letters and spaces

- manuscript main body divided into separate sections (Introduction, Material and Methods, Results and Discussion).
- no more than 40 references (without exceptions)
- Supplementary data can be submitted as *Supplementary information* session.

Short Communication

A short communication is **a report on a single subject**, which should be concise but definitive. The scope of this section is intended to be wide and to encompass methodology and experimental data on subjects of interest to the readers of the Journal. The manuscript should contain:

- abstract of no more than 250 words
- no more than 6 key words
- a running title to be used as a page heading, which should not exceed 60 letters and spaces
- manuscript main body divided into separate sections (Introduction, Material and Methods, Results and Discussion), without a separate section for conclusions
- no more than 20 references (without exceptions)
- no more than three illustrations (figures and/or tables)

Review Article

A review article should provide a synthetic and critical analysis of a relevant area and should not be merely a chronological description of the literature. A review article by investigators who have made substantial contributions to a specific area of Pharmaceutical Sciences will be published by invitation of the Editors. However, an outline of a review article may be submitted to the Editors without prior consultation. If it is judged appropriate for the Journal, the author(s) will be invited to prepare the article for peer review. The manuscript should contain:

- abstract of no more than 250 words
- no more than 6 key words
- a running title to be used as a page heading, which should not exceed 60 letters and spaces

- manuscript main body divided into sections with appropriate titles and subtitles
- no more than 90 references (without exceptions)

Mini-review Article

A mini-review is focused on a restricted part of a subject normally covered in a review article. The structure of the mini-review follows the same rules as the review.

Concepts and Comments

The Concepts and Comments section provides a platform for readers to present ideas, theories and views.

The manuscript should contain:

- abstract of no more than 250 words
- no more than 6 key words
- a running title to be used as a page heading, which should not exceed 60 letters and spaces
- manuscript main body divided into sections with appropriate titles and subtitles
- no more than 40 references (without exceptions)

Book Reviews

Written by experts indicated by the Editors or written by the authors.

Preparing your manuscript

Cover Letter

It is important that you include a cover letter with your manuscript. Take the time to consider why this manuscript is suitable for publication in the *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Why will your paper inspire other members of your field, and how will it drive research forward? Please explain this in your cover letter. The cover letter should also contain the following information:

- Title of article.
- Name(s) of all author(s).

- Information of Corresponding Author (name, full address, telephone number and e-mail)

Authorship requirements

Only people who directly contributed to the intellectual content of the paper should be listed as authors. All manuscripts must be, submitted, only, by electronic way. The confirmation of submission is sent by email for all the authors, for their agreement. Authors should meet all of the following criteria, thereby taking public responsibility for the content of the paper:

- Conceived, planned and carried out the experiments presented in the manuscript or interpreted the data, or both.
- Wrote the paper, or reviewed successive versions.
- Approved the final version.
- Holding positions of administrative leadership, contributing patients, and collecting and assembling data, however important to the research, are not by themselves criteria for authorship. Any person who has made substantial, direct contribution to the work but cannot be considered an author should be cited in the Acknowledgment section, with permission and a description of his/her specific contribution to the research.

Text format

- The text of a manuscript can only be accepted as a Microsoft Word file created with MS Word as a ".doc", ".docx" or ".rtf" document.
- Manuscripts should be sent in 30-36 lines, 1,5 spaced,
- Each page should contain the page number in the upper right-hand corner starting with the title page as page 1.
- Report all measurements in Système International, SI (<http://physics.nist.gov/cuu/Units>) and standard units where applicable
- Names of plants, animals and chemicals should be mentioned according to International Rules available.
- Names of drugs can follow the International rules (DCI) or current Brazilian rules (DCB)

- Trademarks may be mentioned only once in the text (between parenthesis and initial in capital letter)
- Do not use abbreviations in the title and limit their use in the abstract and text.
- The length of the manuscript and the number of tables and figures must be kept to a minimum.
- Ensure that all references are cited in the text.
- Generic names must be used for all drugs. Instruments may be referred to by proprietary name; the name and country of the manufacturer should be given in parenthesis.

Organization of the Manuscript

Most articles published in BJPS will be organized into the following sections:

Title, Authors, Abstract, Key words, Running Title, Author for Correspondence and email address

Introduction

Material and Methods

Results and Discussion

Acknowledgments

References

Tables with a descriptive title and footnote legends

Figures with a descriptive title, descriptive legends and uniformity in format

Continuous page numbers are required for all pages including figures. There are no specific length restrictions for the overall manuscript or individual sections. However, we urge authors to present and discuss their findings concisely. We recognize that some articles will not be best presented in our research article format. If you have a manuscript that would benefit from a different format, please contact the editors to discuss this further.

Title Page

Title - The title should be as short and informative as possible, should not contain non-standard acronyms or abbreviations, and should not exceed two printed lines.

Examples:

Freeze-drying of ampicillin solid lipid nanoparticles using mannitol as cryoprotectant
 A fully validated microbiological assay for daptomycin injection and comparison to HPLC method
 Pharmacokinetics, safety and tolerability of L-3-n-butylphthalide tablet after single and multiple oral administrations in healthy Chinese volunteers.

Authors and Affiliations

Full name (matched with superscript numbers identifying affiliation). Institution(s) (Department, Faculty, University, City, State, Country) of each author (in English).

Examples:

Hongmei Xia¹ * , **Yongfeng Cheng²** , **Yinxiang Xu³** , **Zhiqing Cheng¹**

1College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, People's Republic of China.

2School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei, People's Republic of China.

3Zhaoke (Hefei) Pharmaceutical Co. Ltd., Hefei, People's Republic of China.

Abstract

Since abstracts are published separately by Information Services, they should contain sufficient hard data to be appreciated by the reader. The abstract should not exceed 250 words and should be prepared in a single paragraph. The abstract should briefly and clearly present the objective, experimental approach, new results as quantitative data if possible, and conclusions. It should mention the techniques used without going into methodological detail and mention the most important results. Abbreviations should be kept to a minimum and should be defined in both the Abstract and text. Please do not include any reference citations in the abstract. If the use of a reference is unavoidable, the full citation should be given within the abstract.

Key Words

A list of key words or indexing terms (no more than 6) should be included avoiding generic terms.

Running title

This short title, to be used as a page heading, should not exceed 60 letters and spaces.

Corresponding author

One of the authors should be designated as the corresponding author. It is the corresponding author's responsibility to ensure that the author list is accurate and complete. If the article has been submitted on behalf of a consortium, all consortium members and affiliations should be listed in the Acknowledgments section. Provide the name and email address of the author to whom correspondence should be sent identified with an asterisk.

Introduction

The Introduction should put the focus of the manuscript into a broader context and reflects the present state-of-art of the subject. This should state briefly and clearly the objectives of the investigation with reference to previous works. Extensive review of the literature should be avoided and substituted for references of recent review publications.

Material and Methods

These should be described in sufficient detail that the work can be reproduced. Well-established procedures and techniques require only a citation of the original source, except when they are substantially modified. Reports of experimental studies on humans and animals must certify that the research received prior approval by the appropriate institutional review Ethics Committee.

Results and Discussion

Results must be presented clearly and concisely and in logical order. This section should provide results of all of experiments required to support the conclusions of the paper. When possible, use figures or tables to present data rather than text. Large datasets, including raw data, should be submitted as supplementary files; these are published online linked to the article. Discussion should interpret the results and assess their significance in relation to existing knowledge. Speculation not warranted by actual data should be avoided. The Discussion should spell out the major

conclusions and interpretations of the work including some explanation of the significance of these conclusions.

Acknowledgments

When appropriate, briefly acknowledge technical assistance, advice and contributions from colleagues. People who contributed to the work but do not fit the criteria for authors should be listed in the Acknowledgments section, along with their contributions. Donations of animals, cells, or reagents should also be acknowledged. You must also ensure that anyone named in the Acknowledgments agrees to being so named. Financial support for the research and fellowships should be acknowledged in this section (agency and grant number).

Figures

Figures must be submitted in high-resolution version (600 dpi).

Preparing figure files for submission

BJPS encourages authors to use figures where this will increase the clarity of an article. The use of color figures in articles is free of charge. The following guidelines must be observed when preparing figures. Failure to do so is likely to delay acceptance and publication of the article.

- Each figure of a manuscript should be submitted as a single file.
- Figures should be numbered in the order they are first mentioned in the text, and uploaded in this order.
- Figure titles and legends should be provided in the main manuscript as a List of Figures, not in the graphic file.
- The aim of the figure legend should be to describe the key messages of the figure, but the figure should also be discussed in the text.
- An enlarged version of the figure and its full legend will often be viewed in a separate window online, and it should be possible for a reader to understand the figure without moving back and forth between this window and the relevant parts of the text.

- The legend itself should be succinct, while still explaining all symbols and abbreviations. Avoid lengthy descriptions of methods. Statistical information should be given as well as the statistical tests used.
- Arrows or letters should be used in the figure and explained in the legend to identify important structures.
- Figures with multiple panels should use capital letters A, B, C, etc. to identify the panels.
- Each figure should be closely cropped to minimize the amount of white space surrounding the illustration. Cropping figures improves accuracy when placing the figure in combination with other elements, when the accepted manuscript is prepared for publication.
- Individual figure files should not exceed 5 MB. If a suitable format is chosen, this file size is adequate for extremely high quality figures.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures (or tables) that have previously been published elsewhere. In order for all figures to be open-access, authors must have permission from the rights holder if they wish to include images that have been published elsewhere in non-open-access journals. Permission should be indicated in the figure legend, and the original source included in the reference list;

Supported file type

The following file format can be accepted: TIFF (suitable for images) or JPEG with 600 dpi, and Word file for the manuscript.

Tables

- Tables must be submitted in Word (.doc) or Excel (.xls), not as an image.
- Tables must be numbered consecutively with Roman numerals in the text.
- Tables must have a concise and descriptive title.
- All explanatory information should be given in a footnote below the table. Footnotes should be used to explain abbreviations and provide statistical information, including statistical tests used.

- All abbreviations must be defined in this footnote, even if they are explained in the text.
- Tables must be understandable without referring to the text.
- Tables occupying more than one printed page should be avoided, if possible.
- Vertical and diagonal lines should not be used in tables; instead, indentation and vertical or horizontal space should be used to group data.

References

References should be prepared and listed according to Vancouver standard reference style. Entries should be arranged in alphabetical order by author at the end of the paper. All authors' names should be given. Accuracy and completeness of reference data is the responsibility of the authors. Only published references should be included in the reference list. Meeting abstracts, conference talks, or papers that have been submitted but not yet accepted should not be cited. Limited citation of unpublished work should be included in the body of the text only. All personal communications should be supported by a letter from the relevant authors. References should be cited in the text by the authors' names, with only the first letter in capital letter followed by the year of publication. For more than three authors, the first has to be cited followed by the expression *et al.* (in italic). Small letters close to the year must differentiate references of the same authors and year of publication.

Examples:

(Fujisawa, Atsumi, Kadoma, 1989)

(Aviral *et al.*, 2009)

(Dodu, Rotari, Vazques, 2012)

(Liu *et al.*, 2011a)

(Liu *et al.*, 2011b)

Please use the following style for the reference list:

Published Papers. First 6 authors followed by *et al.*, Title, Journal (abbreviation in italic), Year, Volume, Complete Pages.

Abe T, Fukushima N, Brune K, Boehm C, Sato N, Matsubayashi H, et al. Genome-

Wide allelotypes of familial pancreatic adenocarcinomas and familial and sporadic intraductal papillary mucinous neoplasms. *Clin Cancer Res.* 2007;13(20):6019-25.

Ali A, Iqbal F, Taj A, Iqbal Z, Amin MJ, Iqbal QZ. Prevalence of microvascular complications in newly diagnosed patients with Type 2 diabetes. *Pak J Med Sci.* 2013,29(4): 899-902.

Calvo A, Gimenez MJ. Ex Vivo Serum Activity (Killing Rates) After Gemifloxacin 320 mg Versus Trovafloxacin 200 mg Single Doses Against Ciprofloxacin-Susceptible and -Resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Int J Antimicrob Ag.* 2007;20:144-6.

Lammers AE, Hislop AA, Flynn Y, Haworth SG. The 6-minute walk test: normal values for children of 4-11 years of age. *Arch Dis Child.* 2008;93:464-468.

Zhang Q, Malik P, Pandey D, Gupta S, Jagnandan D, Belin de CE, et al. Paradoxical activation of endothelial nitric oxide synthase by NADPH oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1627-1633.

Article accepted for publication but not yet published. First 6 authors followed by *et al.*, Title, Journal (abbreviation in italic), Year of expected publication, (in press) at the end of the citation.

Janiszewski M, Lopes LR, Carmo AO, Pedro MA, Brandes RP, Santos CXC, et al. Regulation of NAD(P)H oxidase by associated protein disulfide isomerase in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 2005 (in press).

Internet Communication. Ensure that URLs are active and available. Provide DOI, if available.

Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose visceral

grave: normas e condutas [Internet]. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2006. [citado 2008 Jan 7]. 60 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/06_0072_M.pdf

CAPES Statistics. [citad 2006 Mar 16]. Available from: <http://www.capes.gov.br/capes/portal>.

Developmental toxicology. [citad 2015 Apr 10]. Available from:

<http://www.devtox.org/nomenclature/organ.php>.

Book, Whole. Authors, Book title, Edition, City, Publisher, Year.

Hewitt W. Microbiological assay for pharmaceutical analysis: a rational approach.

Boca Raton: CRC Press; 2003.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.

Milech A, et al., Oliveira JEP, Vencio S, organizadores. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. São Paulo: A.C. Farmacêutica;2016.

Book, Chapter. Authors, Chapter Title, Editors, Book title, Edition, City, Publisher, Year, Pages of citation.

Beizer JL, Timiras ML. Pharmacology and drug management in the elderly. In:

Timiras PS, editor. Physiological basis of aging and geriatrics. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 1994. p. 279-84.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, editor. The cat: diseases and clinical management. New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229-332.

Report

World Health Organization. WHO. Department of Mental Health and Substance Abuse. Mental health atlas 2005. Geneva: World Health Organization; 2005. 409 p.

World Health Organization. WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases, First WHO report on neglected tropical diseases. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2010.

Thesis and Dissertations

Joselevitch C. Visão no ultravioleta em *Carassius auratus* (Ostariophysi, Cypriformes, Cyprinidae): estudo eletrofisiológico do sistema cone - células horizontais. [Master's dissertation]. São Paulo: Instituto de Psicologia, USP; 1999.

Marcolongo R. Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 2003.

Laws

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução nº. 259, de 20 de setembro de 2002. Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União 23 set 2002; Seção 1.

Conference, Symposium Proceedings. Cite papers only from published proceedings.

Hejzlar RM, Diogo PA. The use of water quality modelling for optimizing operation of a drinking water reservoir. In: Proceedings of the International Conference Fluid Mechanics and Hydrology. 1999 Jun 23-26; Prague. Prague: Institute of Hydrodynamics AS CR; 1999. p 475-482.

Proceedings of the 10th annual meeting of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences. J Pharm Pharm Sci. 2007 Dec 3;10(4):1s-186s.

Audiovisual Material

Physician's Desk Reference (PDR). Release 2003.1AX. [CD-ROM]. Montvale: Thomson PDR; 2003.

Computer Program

Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, et al. *Epi info, version 6.04: a word processing database and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers*. [Computer program]. Atlanta: Centers of Disease Control and Prevention; 1998.

Patent

Larsen CE, Trip R, Johnson CR. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. Patent No. 5.529.067. Novoste Corporation; 1995.

"Unpublished results" and "Personal communication". Reference should appear in the text with the individual name(s) and initials and not in the reference list.

(Santos CS, da-Silva GB, Martins LT, unpublished results).

It is assumed that the author has obtained permission from the source when "personal communication" is cited.

Submitting manuscripts

Submission should be sent electronically through the ScholarOne system (mc04.manuscriptcentral.com/bjps-scielo).

If you need further assistance, please contact the Journal Staff (bjps@usp.br).

There is no charges for article's submissions, evaluations and publication.

Additional informations:

Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas/USP

Serviço de Publicações e Circulação

Av. Prof. Lineu Prestes, 950

05508-000 - São Paulo - SP - Brasil

Tel: +55 11 3091.2314

E-mail: bjps@usp.br

ANEXO 5

Envios on-line Brazilian Journal of Development.

DIRETRIZES DO AUTOR

O BJD aceita apenas artigos originais, não publicados em outros periódicos. Aceitamos desde artigos apresentados em eventos que são disponibilizados pelos autores.

As normas para formatação e preparação de originais são:

- Máximo de 20 páginas;
- Máximo de 8 autores;
- Fonte Times New Roman tamanho 12, espaçamento entre linhas 1,5;
- Figuras, Tabelas e Tabelas devem aparecer junto ao texto, editáveis, em fonte 10, tanto para o conteúdo quanto para o título (que deve vir logo acima dos elementos) e fonte (que deve vir logo abaixo do elemento gráfico).
- Título em português e inglês, no início do arquivo, com fonte 14;
- Resumo e resumo do título, com palavras-chave e palavras-chave, com espaçamento, logo abaixo do título;
- O arquivo seguro não deve conter uma identificação dos autores

Esta revista adota como política editorial como diretrizes de boas práticas de publicação científica da Associação Nacional de Pesquisa e Pós-Graduação em Administração (ANPAD), disponível em: http://www.anpad.org.br/diversos/boas_praticas.pdf.

Como processo de submissão, os autores devem controlar a submissão em relação a todos os itens de cumprimento da parte. As submissões que não estão de acordo com as normas devolvidas aos autores.

- A contribuição é original e publicada por outro periódico; Caso contrário, deverá ser justificado em "Comentários ao editor".

- O arquivo de submissão não está no formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF.
- Os URLs para referências foram informados quando possível.
- O texto está em espaço simples; Usa uma fonte de 12 pontos; Usa itálico de sublinhado (exceto cuidados em vez de URL); As figuras e tabelas são anexadas no texto, não no documento na forma de anexos.
- O texto segue os padrões de requisitos e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes de estilo, na página Sobre a Revista.
- No caso de submissão a uma seção revisada por pares (por exemplo, artigos), conforme instruções de submissão em Assegurar avaliação pares foram seguidas

Taxa de publicação:

- Esta revista não cobra taxa de submissão;
- Esta revista cobra a publicação de artigos, no valor de:
- R\$ 590,00 por artigo a ser publicado - Brasileiros.
- \$ 150,00 (dólares americanos) por artigo a ser publicado - Outras nacionalidades.

DECLARAÇÃO DE PRIVACIDADE

- O conteúdo dos artigos é de responsabilidade exclusiva dos autores.
- É permitida a reprodução total ou parcial do conteúdo dos artigos, desde que citada a fonte.
- Artigos com plágio serão recusados, e o autor do plágio perderá o direito de publicar nesta revista.
- Os nomes e endereços informados nesta revista serão utilizados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação e não estão disponíveis para outros fins ou para terceiros.
- Depois de enviar os artigos, os autores cedem os direitos autorais de seus artigos ao BJD. Caso se arrependa da submissão, o autor tem o direito de solicitar ao BJD que não publique seu artigo. No entanto, essa solicitação deve ocorrer em até dois meses antes da divulgação do número em que o artigo será publicado.

- O BJD usa a licença Creative Commons CC BY. Informações sobre esta licença podem ser encontradas em: <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/br/>