



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

# **Nanotecnologia aplicada à regeneração de feridas**

Ana Rita Martins Amaro

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:

**Professor Doutor Pedro Ricardo Martins Lopes da Fonte**

2023





UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

# **Nanotecnologia aplicada à regeneração de feridas**

Ana Rita Martins Amaro

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho realizado sob a orientação:

**Professor Doutor Pedro Ricardo Martins Lopes da Fonte**

2023



# DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

[Ana Rita Martins Amaro]

**Copyright© 2023 Ana Rita Martins Amaro**

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## Resumo

As feridas representam um problema global em saúde, afetando pessoas em todo o mundo, independentemente da idade, género, raça ou localização geográfica, sendo um problema crescente devido à sua alta morbidade e custo, a *National Pressure Ulcer Advisory Panel* estimou os custos diretamente associados ao tratamento de úlceras, sendo estas as feridas crónicas mais comuns e verificou que os gastos são significativos, com valores entre 400 e 56 mil euros.

Os métodos atuais mais usados para o tratamento de feridas são: sutura cirúrgica, que apresenta limitações uma vez que pode causar danos à pele e tecidos moles, os pensos que são propensos a promover erupções cutâneas ou anormalidades na pele após o uso, a engenharia de tecidos, embora a estrutura seja mais simples do que a pele real e por fim, fisioterapia, que apesar de não invasiva e sem complicações geralmente é apenas usada como meio auxiliar de outras terapias para promover a reparação de feridas.

Devido aos problemas e desafios da terapêutica convencional surgiu a necessidade de desenvolver novos métodos para acelerar e melhorar a regeneração de feridas para que estas não evoluam para feridas crónicas, pelo que a nanotecnologia farmacêutica veio ajudar através do desenvolvimento de nanopartículas para administração tópica de fármacos.

Algumas das vantagens importantes em relação aos tratamentos convencionais, são a sua maior área de superfície, a possível libertação prolongada de fármacos, boa biocompatibilidade e propriedades antimicrobianas em alguns tipos de nanopartículas.

Apesar do enorme potencial destes novos métodos e de estarmos num bom caminho para o seu desenvolvimento é necessário um maior desenvolvimento científico para substituir a terapêutica convencional, uma vez que são necessários mais produtos nanotecnológicos com custo-benefício relevante no mercado.

O objetivo desta dissertação é então explorar as estratégias nanotecnológicas para o tratamento de vários tipos de ferida.

**Palavras-chave:** Ferida; Morbidade; Custo de tratamento; Nanotecnologia; Regeneração de tecidos; Nanopartícula.



## **Abstract**

Wounds represent a global health problem, affecting people around the world, regardless of age, gender, race or geographic location, being a growing problem due to their high morbidity and cost, the National Pressure Ulcer Advisory Panel estimated the directly associated costs to the treatment of ulcers, these being the most common chronic wounds and found that the costs are significant, with amounts between 400 and 56 thousand euros.

The most commonly used current methods for treating wounds are: surgical suturing, which has limitations as it can cause damage to the skin and soft tissues, dressings that are prone to promoting rashes or skin abnormalities after use, engineering tissues, although the structure is simpler than real skin and finally, physiotherapy, which despite being non-invasive and without complications is generally only used as an auxiliary means of other therapies to promote wound repair.

Due to the problems and challenges of conventional therapy, there was a need to develop new methods to accelerate and improve wound regeneration so that they do not evolve into chronic wounds, which is why pharmaceutical nanotechnology has come to help through the development of nanoparticles for topical drug administration.

Some of the important advantages in relation to conventional treatments are their greater surface area, the possible prolonged release of drugs, good biocompatibility and antimicrobial properties in some types of nanoparticles.

Despite the enormous potential of these new methods and the fact that we are on a good path towards their development, further scientific development is necessary to replace conventional therapy, as more nanotechnological products with relevant cost-benefit are needed on the market.

The objective of this dissertation is to explore nanotechnological strategies for the treatment of various types of wounds.

**Keywords:** Wound; Morbidity; Treatment cost; Nanotechnology; Tissue regeneration; Nanoparticle.



# Índice Geral

<b>Resumo .....</b>	<b>v</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>vii</b>
<b>Índice de figuras.....</b>	<b>xi</b>
<b>Índice de tabelas.....</b>	<b>xiii</b>
<b>Lista de abreviaturas.....</b>	<b>xv</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Anatomofisiologia da pele.....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Funções da pele.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Variabilidade das características da pele .....</b>	<b>6</b>
<b>3. Fisiopatologia das feridas.....</b>	<b>8</b>
<b>3.1. Processo de cicatrização.....</b>	<b>8</b>
<b>3.2. Tipo de feridas .....</b>	<b>11</b>
<b>3.3. Fatores que influenciam a cicatrização de feridas .....</b>	<b>13</b>
<b>3.4. Aspeto económico e social.....</b>	<b>14</b>
<b>4. Tratamento convencional de feridas.....</b>	<b>16</b>
<b>5. Nanotecnologia farmacêutica .....</b>	<b>20</b>
<b>5.1. Nanomedicina para a regeneração de feridas.....</b>	<b>22</b>
<b>6. Sistemas de administração nanotecnológicos.....</b>	<b>24</b>
<b>6.1. Nanopartículas lipídicas.....</b>	<b>25</b>
<b>6.2. Nanopartículas poliméricas.....</b>	<b>29</b>
<b>6.3. Nanopartículas inorgânicas .....</b>	<b>32</b>
<b>6.4. Nanofibras.....</b>	<b>35</b>
<b>6.5. Nanohidrogéis .....</b>	<b>36</b>

<b>7. Desafios e perspectivas futuras do uso de sistemas nanotecnológicos para a regeneração de feridas.....</b>	<b>38</b>
<b>8. Conclusão .....</b>	<b>40</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>41</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Estrutura anatómica da pele .....	3
<b>Figura 2.</b> Fases na cicatrização da pele .....	8
<b>Figura 3.</b> Sistemas de administração de nanotecnológicos no tratamento de feridas....	24
<b>Figura 4.</b> As taxas de encerramento de feridas para os cinco tipos de tratamento .....	26
<b>Figura 5.</b> Áreas de feridas por queimadura, no momento inicial e 8, 18 e 30 dias após a lesão, nos três grupos experimentais. ....	27
<b>Figura 6.</b> Área da ferida ao longo de 11 dias.....	28
<b>Figura 7.</b> Taxa de encerramento de feridas .....	29
<b>Figura 8.</b> Área da ferida no dia 5 e dia 10. ....	31
<b>Figura 9.</b> Tempo necessário para a cicatrização de queimaduras em animais tratados com nanopartículas de prata (ND), sulfadiazina de prata (SSD) e sem tratamento (NT) .....	33
<b>Figura 10.</b> Medição da área da ferida (cm <sup>2</sup> ) nos dias 3, 7, 14 e 21 após tratamento com Ctrl: água desionizada, 40nm: CuNP 10 mM (40 nm) e 80nm: CuNP 1 mM (80 nm)...	34
<b>Figura 11.</b> Percentagem de encerramento da ferida .....	36



## **Índice de tabelas**

**Tabela 1.** Fatores locais e sistémicos que influenciam a cicatrização de feridas ..... 13

**Tabela 2.** Espécies de microrganismos instituídas em feridas agudas e crónicas. .... 17



## Lista de abreviaturas

**AA** – Ácido acrílico

**ADN** – Ácido desoxirribonucleico

**ALA** – Ácido alfa- lipóico, do inglês *Alpha lipoic acid*

**AS** – Astragalosídeo IV

**BNC** – Nanocelulose bacteriana, do inglês *Bacterial nanocellulose*

**CS**- Quitosano, do inglês *chitosan*

**CUR** – Curcumina

**EGCG** – Galato epigallocatequina, do inglês *Epigallocatechin gallate*

**EGF** – Fator de crescimento epidérmico, do inglês *Epidermal growth factor*

**ERO** – Espécies reativas de oxigénio

**FGF** – Fator de crescimento de fibroblastos, do inglês *Fibroblast growth factor*

**GT** – Gelatina

**HA** – Ácido hialurónico, do inglês *Hyaluronic acid*

**IGF-I** – Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I, do inglês *Insulin-like growth factor*

**IL-6** – Interleucina 6

**LMWP** – Protamina de baixo peso molecular, do inglês *Low molecular weight protamine*

**MDR** – Resistência a múltiplos medicamentos

**MEC** – Matriz extracelular

**NLC** – Transportadores lipídicos nanoestruturados, do inglês *Nanostructured lipid carriers*

**NP** – Nanopartículas

**OCDE** – Organização para a cooperação e desenvolvimento económico

**PDGF** – Fator de crescimento derivado de plaquetas, do inglês *Platelet-derived growth factor*

**PLGA** – Poli (ácido láctico-co-glicólico), do inglês *Poly (lactic-co-glycolic acid)*

**REV** – Resveratrol

**SF** – Fibroína de seda, do inglês *Silk fibroin*

**SLN** – Nanopartículas lipídicas sólidas, do inglês *Solid lipid nanoparticles*

**TGF- $\alpha$**  – Fator de crescimento transformador alfa, do inglês *Transforming growth factor alpha*

**TGF- $\beta$**  – Fator de crescimento transformador beta, do inglês *Transforming growth factor beta*

**VEGF** – Fator de crescimento endotelial vascular, do inglês *Vascular endothelial growth factor*



## 1. Introdução

As feridas são lesões na pele ou em outros tecidos que resultam da interrupção da integridade tecidual, representando um problema global em saúde, afetando pessoas em todo o mundo, independentemente da idade, género, raça ou localização geográfica (1).

As feridas podem ter um impacto significativo na qualidade de vida dos doentes e podem levar a complicações sérias se não forem tratadas adequadamente e, para além do impacto físico, as feridas podem ter implicações emocionais e sociais. A dor, a perda de mobilidade e a dificuldade em executar atividades quotidianas podem afetar o bem-estar emocional e a interação social dos doentes (2).

Devido à sua natureza complexa, o tratamento de feridas muitas vezes exige uma abordagem multidisciplinar, nas quais estão envolvidos diversos profissionais de saúde como farmacêuticos, médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, nutricionistas, entre outros. Para além do tratamento também é importante considerar fatores como a prevenção, tais como a educação do paciente e de todos os envolventes e o controlo de riscos para minimizar a ocorrência de feridas (2).

Devido à sua associação com outras doenças, as feridas foram subestimadas como uma complicação inevitável de doenças subjacentes, em vez de serem tratadas como um problema de saúde sério por si só, sendo que as feridas crónicas constituem um importante problema de saúde pública devido ao gasto considerável quer de recursos humanos e materiais, como também a nível financeiro (3).

A nível mundial, a prevalência de feridas crónicas, como úlceras por pressão em ambiente hospitalar, apresenta grandes variações. Entre os países membros da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE), as taxas de prevalência de úlceras por pressão em instituições de longa permanência são de 5,35. Notavelmente, as maiores taxas são observadas em Espanha, Itália e Portugal, chegando a quase o dobro da média da OCDE (3).

Estas discrepâncias na prevalência refletem a complexidade e a importância das úlceras por pressão como uma preocupação de saúde pública global. Apesar de vários esforços, é necessário mais trabalho para aumentar a consciencialização e implementar abordagens eficazes de prevenção e tratamento para essas feridas complexas (3).

A necessidade de lidar com as feridas crónicas é um processo vital, e a consciencialização global, a pesquisa contínua e o desenvolvimento de estratégias de

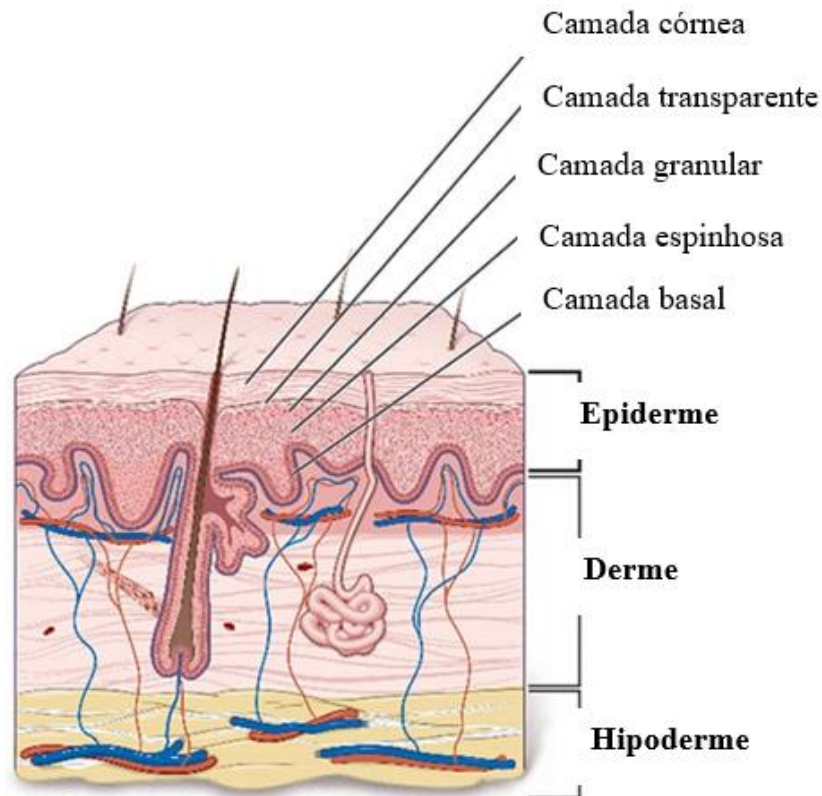
prevenção e tratamento são essenciais para reduzir a incidência e melhorar os resultados para pacientes em todo o mundo (4).

Têm assim surgido tratamentos inovadores à base de nanopartículas, sendo estas consideradas promissoras, uma vez que podem ser projetadas para libertar medicamentos de forma prolongada, controlada ou direcionada na área da ferida, podendo estimular a regeneração de tecidos, incluindo a produção de colagénio e o crescimento de novas células. Podem ainda ter propriedades antimicrobianas e reduzir a inflamação (5).

O objetivo desta dissertação é abordar esta temática tão pertinente das feridas analisando os tratamentos atuais em comparação com novas abordagens mais recentemente estudadas e refletindo acerca dos diferentes tipos de sistemas nanotecnológicos.

## 2. Anatomofisiologia da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano sendo responsável por importantes funções do organismo quer biológicas, quer sensoriais (6, 7) . A pele é dividida em três camadas principais (**Figura 1**), designadamente: epiderme, derme e hipoderme com graus de especialização diferentes (6).



**Figura 1.** Estrutura anatómica da pele. *Adaptado de (8).*

A pele que recobre cada área do corpo tem adaptações específicas para fins particulares, uma vez que precisamos de mobilidade e elasticidade em locais que nos permitam o movimento, como é o caso das articulações, e precisamos de resistência nos locais mais expostos ao meio ambiente como as mãos e os pés (9).

A epiderme é a camada mais superficial e biologicamente ativa. É um epitélio escamoso estratificado que contém quatro a cinco camadas (**Figura 1**), que dependendo da sua localização, da camada mais interna para a camada mais superficial estão classificadas como: a camada basal, a camada espinhosa, a camada granular, a camada

transparente e a camada córnea (10). Na sua constituição, a epiderme pode apresentar diversas células que são essenciais para o seu funcionamento e regeneração, tais como:

- ❖ Queratinócitos: São as principais células da epiderme que sintetizam a queratina, uma proteína fibrosa e filamentosa que dá firmeza à epiderme e lhe garante a proteção, a permeabilidade e a protege da desidratação, sendo que à medida que migram para a superfície originam a camada córnea;
- ❖ Melanócitos: São as células responsáveis pela síntese de melanina, pigmento cuja função é proteger dos raios ultravioleta;
- ❖ Células de Langerhans: São as células responsáveis pela ativação do sistema imunológico atuando como macrófagos contra partículas estranhas e microrganismos;
- ❖ Células ou discos de Merkel: Estão presentes entre a epiderme e derme e atuam como recetores de tato ou pressão (7, 10).

Profundamente à epiderme encontra-se a derme, uma camada espessa de tecido conjuntivo composta por colagénio e elastina que permitem a força e a flexibilidade da pele, respetivamente. As fibras de colagénio presentes na derme conferem resistência mecânica à pele, tornando-a resistente ao estiramento e ao atrito, enquanto as fibras de elastina proporcionam elasticidade à derme, permitindo que a pele volte ao seu estado original após ser esticada ou comprimida. Esta camada é rica em vasos sanguíneos, responsáveis pelo fornecimento de nutrientes e oxigénio às células da pele, ajudando na regeneração e cicatrização. Auxiliam ainda na regulação da temperatura corporal, permitindo que a pele se dilate para libertar calor ou se contraia para conservar calor. Contém também terminações nervosas responsáveis pela sensação tátil, que são responsáveis pela perceção ao toque, à pressão e à dor (11).

A hipoderme é a camada mais profunda da pele, localizada logo abaixo da derme. É constituída principalmente por tecido adiposo, que consiste em células lipídicas denominadas adipócitos. Estas células são responsáveis por armazenar energia e ajudar na regulação da temperatura corporal, isolando do ambiente externo. Além dos adipócitos, a hipoderme também contém proteoglicanos e glicosaminoglicanos, que são dois tipos de moléculas presentes na MEC do tecido adiposo. Estas moléculas têm a capacidade de atrair e reter água, conferindo ao tecido adiposo características semelhantes às das mucosas. Isto significa que a hipoderme tem uma capacidade de retenção de

líquidos que pode afetar a aparência da pele, tornando-a mais firme ou não, dependendo do nível de hidratação (12).

A hipoderme desempenha várias funções importantes no corpo, como o armazenamento de energia, o isolamento térmico, a proteção de órgãos e tecidos subjacentes contra choques mecânicos e atua como um reservatório de água e eletrólitos. Além disso, desempenha também um papel vital na regulação da temperatura corporal, pois a gordura atua como um isolante térmico, ajudando a manter o calor dentro do corpo em ambientes frios (12).

## 2.1. Funções da pele

A pele tem várias funções fisiológicas essenciais para a manutenção da homeostase, para a proteção e interação com o que nos rodeia, tais como: proteção, termorregulação, sensibilidade, armazenamento de água, absorção, expressão e síntese de vitamina D, entre outros (13):

- ❖ Proteção: A pele é uma barreira física que protege o corpo contra agentes externos, como bactérias, vírus, fungos, substâncias químicas e radiação ultravioleta. Ajuda também a prevenir a perda excessiva de água e eletrólitos, contribuindo para a regulação da hidratação corporal.
- ❖ Regulação térmica: A pele ajuda a regular a temperatura corporal por meio do controlo da perda de calor. Quando a temperatura ambiente está alta, a pele permite a libertação do calor através da transpiração e vasodilatação. Em temperaturas frias, a pele realiza a vasoconstrição para reduzir a perda de calor.
- ❖ Sensibilidade: A pele é repleta de recetores sensoriais, como corpúsculos de Meissner, corpúsculos de Pacini e terminações nervosas, que permitem a perceção de sensações táteis, como toque, pressão, dor e temperatura.
- ❖ Síntese de vitamina D: A pele é capaz de produzir vitamina D em resposta à exposição à luz solar. Esta vitamina é essencial para a saúde óssea e para a regulação do cálcio e do fósforo no organismo.
- ❖ Absorção de substâncias: Algumas substâncias podem ser absorvidas pela pele, como fármacos para tratamento local de doenças de pele.

- ❖ Excreção: Através do suor, a pele ajuda a eliminar resíduos e toxinas do corpo, contribuindo para a desintoxicação.
- ❖ Imunidade: A pele é uma parte importante do sistema imunológico, contendo células de defesa que ajudam a combater infecções e proteger contra invasores.
- ❖ Função estética: A aparência da pele desempenha um papel significativo na autoestima e na comunicação social, além de ser um indicador visual da saúde geral (14).

Estas são apenas algumas das principais funções da pele, que é um órgão complexo que desempenha um papel crucial em diversas atividades vitais do corpo humano, tornando-se fundamental para a sobrevivência e qualidade de vida. É importante cuidar da pele por meio de uma boa higiene, proteção solar adequada, hidratação e alimentação saudável para manter as suas funções em pleno funcionamento (15).

## **2.2. Variabilidade das características da pele**

Há diferenças na espessura da pele, no pH, na temperatura, na humidade e no microbioma dependendo do local do corpo. Para além do local do corpo há outros fatores que influenciam a estrutura da pele, como a raça, o sexo, a idade e algumas patologias (12, 16).

A pele pode variar em espessura em diferentes áreas do corpo. Por exemplo, a pele do rosto é mais fina em comparação com a pele da sola dos pés ou das mãos, que são áreas mais espessas e resistentes devido ao maior atrito e pressão que sofrem (17).

O pH da pele também pode sofrer variações entre diferentes partes do corpo. Geralmente, a pele é ligeiramente ácida, com um pH em torno de 5, o que ajuda a criar um ambiente desfavorável tanto para o crescimento bacteriano como fúngico. No entanto, alguns locais, como o couro cabeludo, podem apresentar um pH mais neutro. A pele abriga ainda uma variedade de microrganismos, como bactérias, fungos e vírus. Este microbioma varia em diferentes partes do corpo, dependendo das características ambientais e do pH local (18, 19).

No que respeita à temperatura da pele, esta pode variar dependendo da região do corpo e das condições ambientais a que está exposta. Como exemplo, temos as extremidades do corpo, como as mãos e os pés, que tendem a ser mais frias, enquanto

regiões como as axilas e as virilhas podem ser mais quentes devido à maior presença de glândulas sudoríparas. No que concerne à humidade, existem áreas que são mais propensas à transpiração, como as axilas e as virilhas, daí a sua natureza mais húmida, enquanto outras áreas tendem a ser mais secas como por exemplo, os cotovelos e os calcanhares (19).

Como referido anteriormente, a raça, o sexo e a idade podem influenciar as características da pele, como a cor, a textura e a suscetibilidade a feridas (12). A camada córnea embora seja a camada mais espessa, é a que apresenta um menor teor de lipídios e água na raça negra, ao contrário da camada córnea dos caucasianos e asiáticos. Estes, por sua vez, apresentam uma menor quantidade de colagénio, mas mais elastina do que a pele na raça negra. Deste modo, podemos aferir que a pele na raça negra é mais rígida e espessa que a pele na raça caucasiana e asiática (20).

Relativamente ao género, também há diferenças notórias, sendo a pele do género masculino mais espessa e rígida que a pele do género feminino. Este facto é de extrema importância no que diz respeito ao processo de cicatrização de feridas (21). Com o envelhecimento, a pele torna-se mais seca, com hiperplasia melanocítica, com vasos finos na sua superfície e com elasticidade diminuída, sendo mais propensa a lesões e a processos de cicatrização menos eficazes em comparação com a pele mais jovem (22).

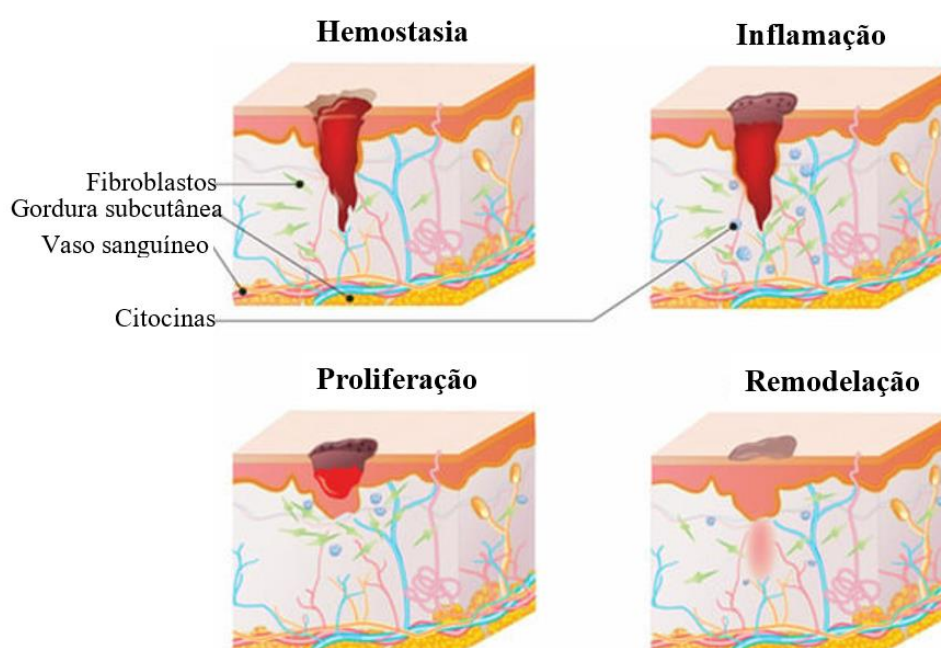
Além disso, algumas patologias podem afetar a estrutura e a função da pele, como acne, dermatite, psoríase, entre outras (12).

Estas variações na estrutura e nas características da pele são importantes para compreender a fisiologia e a resposta da pele a diferentes estímulos e tratamentos. Sem menos importância, também têm implicações práticas em relação aos cuidados e tratamentos específicos para diferentes partes do corpo e para condições dermatológicas específicas.

### 3. Fisiopatologia das feridas

#### 3.1. Processo de cicatrização

As feridas são o dano à integridade da pele, membranas mucosas ou órgãos que afetam a sua normal função. Com o objetivo de tratar a ferida dá-se a cicatrização dos tecidos, um processo fisiológico complexo que consiste em quatro fases nas quais estruturas moleculares e vias celulares estão envolvidas (**Figura 2**): hemostasia, fase inflamatória, fase proliferativa e remodelação (23).



**Figura 2.** Fases da cicatrização da pele. *Adaptado de* (24).

Logo após o dano da pele há uma resposta fisiológica do corpo para a prevenção e interrupção da hemorragia, a hemostasia, que consiste em três fases: vasoconstrição seguida de hemostasia primária e hemostasia secundária (25).

A primeira fase da hemostasia começa imediatamente após o ferimento, com constrição vascular e formação de coágulos de fibrina. A vasoconstrição é produzida pela breve contração reflexa dos músculos lisos vasculares, diminuindo o fluxo sanguíneo para a área lesada enquanto o coágulo se forma, sendo ativada por vários vasoconstritores como a endotelina que o endotélio dos vasos danificados produz (26).

A hemostasia primária é iniciada com as plaquetas e as células inflamatórias no local da lesão. As plaquetas vão contribuir para a hemostasia através do processo de adesão, agregação e desgranulação e vão fornecer fatores que estimulam a cascata de coagulação intrínseca, hemostasia secundária, por meio da geração de trombina, que por sua vez estimula a deposição da matriz de fibrina para formar um tampão de hemostasia secundário definitivo. A agregação vai então formar um coágulo e o tampão plaquetário vai impedir o sangramento contínuo, estabelecendo uma barreira protetora, e fornecendo um reservatório de substâncias libertadas pela desgranulação das plaquetas. A desgranulação envolve a libertação de diversas citocinas, de fatores de crescimento e de proteínas da matriz armazenada dentro dos grânulos alfa das plaquetas. Estas substâncias são mediadores importantes e preparam um ambiente propício para as fases subsequentes da cicatrização, incluindo a inflamação (23).

Após a hemostasia, são iniciados os mecanismos da inflamação. As plaquetas ativadas pela trombina libertam vários fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidérmico (EGF), o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e o fator de crescimento transformador alfa e beta (TGF- $\alpha$  e TGF- $\beta$ ). Estes fatores de crescimento vão difundir-se no tecido da ferida e servem como sinais biológicos para atrair neutrófilos, monócitos, leucócitos e macrófagos, que irão mediar ainda mais a inflamação, proteger a pele contra infeções e segregar mais fatores de crescimento para acelerar a cicatrização da ferida, que se manifestam por sinais físicos de eritema, calor, edema e dor, com o objetivo de eliminar os organismos patogénicos e substâncias estranhas. A nível celular a inflamação é representada pela dilatação dos vasos, pelo aumento da permeabilidade vascular e pelo recrutamento de leucócitos para o local da lesão, os neutrófilos e os macrófagos. Ambos têm função crítica no desbridamento da ferida (23).

Os neutrófilos destroem enzimaticamente a fibrina e fragmentam as bactérias através de enzimas proteolíticas. Os restos de bactérias e de tecidos são removidos da ferida pela fagocitose dos neutrófilos. Os neutrófilos também produzem radicais livres reativos de oxigénio que se combinam com o cloro para tornar as feridas menos suscetíveis às bactérias. O papel secundário dos neutrófilos é a fase inicial do processo inflamatório, através da excreção de citocinas que vão estimular macrófagos, queratinócitos, fibroblastos e a expressão de fatores de crescimento necessários na

angiogénese e síntese de colagénio. Com o tempo, os neutrófilos são eliminados da ferida por apoptose ou são fagocitados pelos macrófagos (23).

Os macrófagos têm a função de eliminar por fagocitose os corpos estranhos e bactérias, além de desempenharem um papel fulcral no recrutamento e ativação de outras células necessárias para as etapas subseqüentes na cicatrização de feridas. Ao contrário dos neutrófilos, os macrófagos permanecem dentro da ferida até ao seu processo de regeneração completo (23).

Seguidamente dá-se a fase proliferativa e de reparação. A fase proliferativa geralmente pode levar um período de 3 dias a 2 semanas após a lesão, caracterizada pela proliferação e migração celular. Promovidos por fatores pró-angiogénicos, como o PDGF, que é libertado por plaquetas e células inflamatórias na área da ferida, novos vasos sanguíneos e capilares são gradualmente formados. Simultaneamente com a angiogénese, a migração de fibroblastos também é provocada pela estimulação do PDGF e do FGF de células inflamatórias para formar o tecido de granulação (27).

Com o acumular da proliferação de fibroblastos, é produzida nova MEC constituída por colagénio, proteoglicanos e elastina. Alguns fibroblastos até se diferenciam em miofibroblastos e desempenham um papel na contração da área da ferida. Além disso, os queratinócitos ativados ao redor da margem da ferida migram para a área lesionada para completar a reepitelização. Durante este período, os fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliais e células epiteliais começam a cobrir o local da lesão. Estas células restabelecem a continuidade do tecido através da deposição da matriz, desenvolvimento de novos vasos sanguíneos e epitelização (27).

A fase de reepitelização e remodelação pode variar de 3 semanas a anos após a lesão. O colagénio III na matriz extracelular recém-sintetizada é gradualmente substituído pelo colagénio I e as fibras de colagénio recém-formadas evoluem para uma estrutura de rede mais organizada, aumentando a resistência à tração da pele cicatrizada (27).

A fase de remodelação também está relacionada com a formação da cicatriz. Este novo tecido apesar de cicatrizado não volta ao seu estado inicial, estando mais fragilizado e suscetível a novas lesões, facto que deve ser tido em conta por todos os profissionais de saúde envolventes para o tratamento das mesmas (27).

### 3.2. Tipo de feridas

É importante classificar as feridas para aferir o melhor tratamento fornecendo uma cicatrização mais rápida. As feridas podem ser classificadas quanto à causa da lesão, ao tempo de reparação ou à profundidade (28).

Quanto à causa da lesão podem ser cirúrgicas, traumáticas ou ulcerativas (28).

As feridas cirúrgicas são criadas intencionalmente durante procedimentos cirúrgicos e podem ser classificadas em três tipos principais, dependendo do tipo de procedimento em causa (28):

- ❖ Incisão: Envolve uma abertura controlada da pele e tecidos subjacentes, geralmente seguida pelo fecho por sutura ou agrafos.
- ❖ Excisão: Neste caso, uma área da pele ou tecido é removida cirurgicamente. Isto pode ser feito para remover lesões cutâneas, tumores ou outros tecidos anormais.
- ❖ Punção: Feridas de punção resultam de procedimentos terapêuticos nos quais uma agulha ou outro instrumento perfura a pele ou tecidos subjacentes.

Relativamente às feridas traumáticas, estas são causadas acidentalmente por vários agentes e podem ser classificadas em diferentes categorias com base na natureza do trauma:

- ❖ Mecânico: Resulta de forças físicas, como quedas, cortes, perfurações ou abrasões.
- ❖ Químico: Causado pela exposição a substâncias químicas irritantes ou corrosivas, como produtos químicos domésticos, ácidos, alcalinos ou cosméticos.
- ❖ Físico: Feridas físicas podem ocorrer devido a exposição a extremos de temperatura (frio ou calor excessivo) ou radiação, como geladuras, queimaduras ou lesões por radiação (28).

As queimaduras mais comuns são causadas por líquidos ou vapores quentes, incêndios, líquidos ou gases inflamáveis. Estas, são definidas pela profundidade e pela área que afetam, podendo ser classificadas em:

- ❖ Queimadura de 1º. grau: A camada da pele afetada é a epiderme e o tempo de cicatrização é curto, cicatrizando isoladamente no espaço de uma semana.

- ❖ Queimadura de 2º grau: Para além da epiderme, também é afetada a derme. Na sua cicatrização podem precisar de um enxerto de pele (natural ou artificial) para proteger a zona afetada neste processo.
- ❖ Queimadura de 3º grau: Nesta queimadura, há uma destruição completa de ambas as camadas da pele, incluindo folículos capilares e glândulas sudoríparas, danificando também os tecidos subjacentes. Na cicatrização, requerem sempre de um enxerto de pele natural ou artificial.
- ❖ Queimadura de 4º grau: Nesta queimadura, sendo ela a mais grave, a lesão estende-se até à camada muscular e óssea (29).

As feridas ulcerativas são feridas que resultam de um processo patológico subjacente, como úlceras por pressão, úlceras vasculares ou úlceras diabéticas. Elas não são causadas por um trauma direto, mas sim por fatores subjacentes, como pressão prolongada, má circulação sanguínea ou neuropatia (28).

Quanto à profundidade as feridas são classificadas por categorias, de I a IV:

- ❖ Categoria I: A ferida afeta apenas a epiderme, sendo uma lesão superficial da pele. A pele pode estar ruborizada ou sem coloração, mas não há uma ferida aberta.
- ❖ Categoria II: A ferida afeta a epiderme e a derme. Há rutura da pele, formando-se uma ferida aberta ou há uma bolha preenchida com fluido. A ferida pode ser superficial, mas a lesão da derme está presente.
- ❖ Categoria III: A ferida afeta a epiderme, a derme e o tecido subcutâneo. A ferida é mais profunda atingindo camadas mais profundas da pele e pode parecer como uma cratera ou uma área de tecido necrosado.
- ❖ Categoria IV: A ferida afeta a epiderme, a derme, o tecido subcutâneo e pode estender-se até aos músculos, tendões ou ossos subjacentes. É a forma mais grave de úlcera por pressão e pode levar a danos extensos nos tecidos (30).

Quanto ao tempo as feridas, podem ser categorizadas em agudas ou crónicas (31). As feridas agudas geralmente cicatrizam em dias ou semanas e as suas extremidades aproximam-se, diminuindo as taxas de infeção. Por sua vez, as feridas crónicas duram mais de três meses e não evoluem na sequência normal de cicatrização, as extremidades das lesões não se aproximam, aumentando o risco de infeção e retardando o tempo de cicatrização (31).

As feridas crónicas caracterizam-se por apresentarem uma longa permanência no indivíduo e correspondem a dificuldades no processo cicatricial que devem ser tidas em conta aquando da abordagem do tratamento (31).

### 3.3. Fatores que influenciam a cicatrização de feridas

Vários fatores locais e sistémicos podem dificultar a cicatrização (**Tabela 1**). Os fatores locais são aqueles que influenciam diretamente as características da própria ferida, enquanto os fatores sistémicos estão relacionados com o estado geral de saúde do indivíduo (32).

**Tabela 1.** Fatores locais e sistémicos que influenciam a cicatrização de feridas.

Fatores locais	Fatores sistémicos
Infeção	Doenças crónicas
Lesão do tecido circundante	Idade
Isquemia	Má nutrição
Corpo estranho	Imunossupressão
Tamanho e local da ferida	Medicamentos

Em relação aos fatores locais, aqueles que afetam diretamente a ferida e o ambiente ao seu redor, têm um impacto direto nas características e na evolução da cicatrização. Alguns exemplos de fatores locais que podem dificultar a cicatrização incluem:

- ❖ Infeção: A presença de bactérias ou outros microrganismos na ferida pode atrasar ou comprometer o processo de cicatrização.
- ❖ Lesão do tecido circundante: Traumas adicionais ao redor da ferida podem prejudicar a capacidade de regeneração dos tecidos.
- ❖ Isquemia: A falta de suprimento adequado de sangue na área afetada pode retardar a cicatrização.
- ❖ Corpo estranho: A presença de objetos estranhos na ferida, como espinhos ou pedaços de vidro, pode dificultar o processo de cicatrização.

- ❖ Tamanho e local da ferida: Feridas grandes ou localizadas em áreas de movimento constante, como articulações, podem levar mais tempo no processo de cicatrização (32, 33).

Por sua vez, os fatores sistémicos, relacionados com o estado geral de saúde do indivíduo, podem ter um impacto significativo na capacidade do organismo de cicatrizar eficientemente. Alguns exemplos de fatores sistémicos que podem dificultar a cicatrização incluem:

- ❖ Doenças crónicas: Condições como diabetes *mellitus*, doenças cardiovasculares e doenças autoimunes podem afetar negativamente a cicatrização de feridas. A diabetes *mellitus* é uma das mais importantes e prevalentes causas de desenvolvimento de feridas, uma vez que a doença é caracterizada por um comprometimento do processo de cicatrização geral, facilitando a ocorrência de úlceras de pé diabético (34).
- ❖ Idade: A capacidade de cicatrização tende a diminuir com o avançar da idade (35).
- ❖ Má nutrição: Deficiências de vitaminas, minerais e proteínas podem prejudicar a regeneração dos tecidos (33).
- ❖ Imunossupressão: Sistemas imunológicos enfraquecidos, seja por doença ou medicação imunossupressora, podem interferir na resposta inflamatória e de cicatrização (33).
- ❖ Medicamentos: Alguns medicamentos podem afetar a cicatrização, especialmente aqueles que interferem na coagulação sanguínea (32).

Todos estes fatores são de extrema importância nos processos de cicatrização de feridas, especialmente nas que são mais complexas ou persistentes. Desta forma o tratamento proposto deve considerar as idiosincrasias de cada tipo de ferida.

### **3.4. Aspeto económico e social**

As feridas são consideradas um grave problema apresentando taxas significativas de morbilidade e mortalidade, tendo um peso significativo económico e social para a população e para os Serviços de Saúde em geral (2).

A *National Pressure Ulcer Advisory Panel* relata que os custos diretamente associados ao tratamento de úlceras variam significativamente, com valores entre 400 e 56 mil euros. No entanto, é importante reforçar que esses custos diretos são apenas uma

parte do quadro geral. Existem outros custos não financeiros e humanos associados a indivíduos que vivem com feridas crónicas (36). Estes incluem:

- ❖ Sintomatologia incapacitante: As úlceras por pressão podem ser dolorosas e debilitantes, causando um sofrimento significativo ao indivíduo.
- ❖ Deslocações frequentes: O tratamento de úlceras muitas vezes requer visitas frequentes a unidades de saúde, o que pode ser incómodo.
- ❖ Absentismo laboral: Indivíduos portadores de úlceras por pressão podem ser obrigados a tirar licenças médicas ou faltar ao trabalho devido à sua condição, o que pode resultar em perda de rendimento e produtividade.
- ❖ Tempos de espera para tratamento: Em alguns serviços de saúde, pode haver demora significativa para a obtenção de tratamento especializado, o que pode agravar a condição do paciente.
- ❖ Perda do papel familiar e social: A presença de úlceras de pressão pode limitar a participação em atividades sociais e familiares, causando isolamento e impacto na qualidade de vida do indivíduo (37).

A baixa taxa de cura completa de feridas crónicas também é uma preocupação importante, pois pode levar a complicações adicionais, infeções recorrentes e maior tempo de tratamento, aumentando ainda mais a carga física, emocional e económica (38).

Abordar adequadamente as feridas crónicas requer uma abordagem multidisciplinar, envolvendo profissionais de saúde como farmacêuticos, médicos, enfermeiros e fisioterapeutas. Além disso, é importante investir na educação e consciencialização sobre a prevenção de feridas, especialmente em grupos de risco, como idosos, pessoas com mobilidade reduzida e indivíduos com condições crónicas de saúde, tornando-se essencial o papel do farmacêutico. Segundo o Estatuto da Ordem dos Farmacêuticos “a primeira e principal responsabilidade do farmacêutico é para com a saúde e bem-estar do doente e do cidadão em geral” e “promover o direito de acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança”(39). Assim, na presença de um grupo de risco, o farmacêutico deve informar e consciencializar o utente e os seus familiares para os riscos das feridas, uma vez que a consciencialização sobre os impactos físicos, emocionais e económicos das feridas crónicas pode ajudar a melhorar a qualidade de vida dos utentes e das suas famílias (40).

## 4. Tratamento convencional de feridas

Os métodos atuais mais usados para o tratamento de feridas são:

- ❖ A sutura cirúrgica que apresenta limitações uma vez que pode causar danos à pele e tecidos moles, apresentando baixa eficiência, o que torna difícil controlar o período de absorção e garantir que as suturas não se comecem a degradar após a cicatrização da ferida;
- ❖ Os pensos que são propensos a promover erupções cutâneas ou anormalidades na pele após o uso;
- ❖ A engenharia de tecidos aplicada à produção de pele artificial embora esta apresente uma estrutura mais simples do que a pele real;
- ❖ A fisioterapia que, apesar de não invasiva e sem complicações, geralmente é apenas usada como meio auxiliar de outras terapias para promover a reparação de feridas (41).

Devido aos problemas e desafios da terapêutica convencional que ainda não foram resolvidos surgiu a necessidade de desenvolver novos métodos para acelerar e melhorar a regeneração de feridas (41).

Uma ferida aberta é um local favorável para a proliferação e para a colonização microbiana. Nas fases iniciais do surgimento da ferida crónica é mais propício o aparecimento de microrganismos Gram-positivos, principalmente *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Em fases avançadas, espécies Gram-negativas como *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudomona ssp*) estão mais presentes e provavelmente penetram nas camadas mais profundas da pele, afetando significativamente os tecidos (5).

Na **Tabela 2** encontram-se referenciados os principais microrganismos instituídos nos diferentes tipos de feridas.

**Tabela 2.** Espécies de microrganismos existentes em feridas. *Adaptado de (5).*

Espécies	Forma	Metabolismo	Incidência
<i>S. aureus</i>	Coco	Anaeróbio facultativo	Feridas crônicas
<i>S. epidermidis</i>			Feridas agudas
<i>Streptococcus pyogenes</i>		Aeróbico	Feridas crônicas
<i>P. aeruginosa</i>	Bacilo	Aeróbico	Feridas crônicas
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>			
<i>E. coli</i>		Anaeróbio facultativo	
<i>Proteus sp.</i>			
<i>Klebsiella sp.</i>			
<i>Propionibacterium acnes</i>	Anaeróbio aerotolerante	Feridas agudas	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Cocobacilo	Aeróbico	Feridas crônicas

A resistência antimicrobiana é um problema crescente e preocupante em todo o mundo. Muitas estirpes infecciosas estão a tornar-se cada vez mais resistentes aos antibióticos tradicionais, o que dificulta o tratamento eficaz de infeções. Neste contexto, novas abordagens terapêuticas estão a ser exploradas, incluindo o uso de produtos naturais, antibióticos modificados e nanopartículas como alternativas aos antibióticos convencionais (42, 43).

No caso dos pensos para o tratamento feridas, é importante que eles forneçam um ambiente adequado para a cicatrização. Isso inclui a manutenção de humidade, a absorção de fluídos da ferida e a regulação da temperatura dos tecidos para melhorar o fluxo sanguíneo. Os pensos também devem ser biocompatíveis, permitir a passagem de água e oxigénio, promover a regeneração do tecido e ser hipoalergénicos. Além disso, eles devem ser economicamente acessíveis (44).

É importante ressaltar que não existe um penso que seja adequado para todas as circunstâncias, uma vez que as características das feridas podem variar tal como o estágio de cicatrização (44).

Embora vários antibióticos bacteriostáticos (inibem o crescimento bacteriano) ou bactericidas (morte das bactérias) possam auxiliar na cicatrização das feridas, muitas vezes o seu impacto positivo na cicatrização é subestimado. Há muitos antibióticos eficazes contra microrganismos causadores de infeções, mas apenas algumas classes,

como as quinolonas, as tetraciclina, os aminoglicosídeos e as cefalosporinas têm sido aplicadas para produzir pensos antimicrobianos (5).

No entanto, é importante reforçar que o uso repetido e inadequado de antibióticos pode levar ao desenvolvimento de resistências bacterianas. Estima-se que cerca de 70% das bactérias que causam infecções em feridas sejam resistentes a pelo menos um dos antibióticos mais comumente utilizados. Além disso, estirpes infecciosas estão a tornar-se resistentes a quase todas as classes de antibióticos disponíveis, levando a uma necessidade imperiosa de encontrar novas alternativas terapêuticas, como óleos essenciais e nanopartículas (42, 43).

#### **4.1. Abordagens alternativas para a cicatrização de feridas**

Há uma grande variedade de moléculas bioativas provenientes de fontes naturais, plantas, animais e outros organismos com propriedades benéficas para a regeneração de tecido cutâneo, tornando-se uma das alternativas aos tratamentos convencionais, sendo que muitas populações indígenas têm usado essas substâncias tradicionalmente ao longo das gerações. Todavia estas ainda têm muitos desafios envolvidos incluindo avaliação de segurança e eficácia, os custos associados à produção dos produtos para terapêutica que variam dependendo da fonte e o desafio adicional de obter ou cultivar uma quantidade suficiente da fonte natural de interesse ou da síntese da molécula bioativa (45).

Os óleos essenciais têm propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antialérgicas, antivirais, antimicrobianas e regenerativas, sendo sintetizados principalmente a partir de partes vegetais das plantas (como folhas, sementes, cascas, galhos e raízes) (5).

Os pensos bioativos com óleos essenciais de libertação lenta mantêm as feridas húmidas, criando um ambiente ideal para a cicatrização de feridas. Fatores ambientais, como a latitude em que as plantas são cultivadas, o estágio de crescimento em que foram selecionadas, as técnicas de secagem usadas e as condições em que foram armazenadas, têm um impacto no conteúdo do óleo. Os óleos de tomilho, hortelã-pimenta, lavanda, canela, chá verde, alecrim, eucalipto, capim-limão, têm propriedades antimicrobianas. Apesar da sua utilidade no tratamento de infecções de feridas, pode ser necessária uma aplicação repetitiva e em concentrações mais elevadas que podem resultar em efeitos adversos para o utente (5).

As propriedades terapêuticas do mel, tais como a capacidade de fornecer nutrição tópica à ferida, redução da inflamação, granulação, estimulação da angiogénese e epitelização da ferida, recomendam a sua integração em pensos para o tratamento de feridas (46).

Os pensos de mel aumentam a cicatrização, minimizam o desbridamento, induzem enxertos bem-sucedidos, removem crostas secas bem como evitam a sua formação em queimaduras, limpam feridas, facilitam a separação de esfacelos, tratam do odor das feridas, acalmam e minimizam a formação de cicatrizes. O mel pode ser armazenado por um longo período e é uma excelente escolha para terapia antimicrobiana devido à falta de toxicidade e efeitos adversos, ao baixo custo de manutenção e à fácil disponibilidade (46).

O mel devido ao seu pH ácido normalmente na faixa de 3,4 a 6,1 favorece um ambiente propício para estimular os macrófagos e erradicarem as bactérias e inibir o estabelecimento do biofilme microbiano. A alta osmolaridade faz com que a água seja expelida da ferida diluindo o mel e estimulando a enzima glicose-oxidase que impede o desenvolvimento microbiano.

A produção de peróxido de hidrogénio é um componente crucial para a inibição do desenvolvimento bacteriano. Em particular, o peróxido de hidrogénio é gradualmente formado quando o exsudato da ferida se relaciona com a oxidação da glicose, desencadeando o dano oxidativo às macromoléculas dos agentes patogénicos. O peróxido de hidrogénio pode reagir com a parede celular bacteriana, bem como com os lipídios intracelulares, as proteínas e os ácidos nucleicos (46, 47).

A utilização do mel tem limitações, uma vez que há vários tipos de mel devido à sua composição depender da fonte floral, das espécies de abelhas e do ambiente geográfico e, em alguns tipos de mel, as presenças de esporos resultarem na desativação da glicose oxidase. Apenas o mel com atividade certificada é recomendado para aplicação na área médica (47).

## 5. Nanotecnologia farmacêutica

As nanopartículas são partículas com uma dimensão reduzida que varia entre 1 e 1000 nanómetros. Devido a esta característica possuem uma grande área de superfície permitindo a ocorrência de algumas interações físicas ou químicas específicas com o ambiente biológico como agregação, aglomeração, adsorção à superfície da célula e absorção pelas células podendo ser usadas em diversas áreas, pois, têm boa compatibilidade, os seus métodos de preparação são controláveis e têm boas propriedades físicas, químicas e biológicas devido ao elevado número de átomos presentes na sua superfície (41, 48).

As nanopartículas têm sido objeto de pesquisa e desenvolvimento há várias décadas. Ao longo do tempo tem vindo a ser desenvolvida esta ciência impulsionada pelo avanço na compreensão da nanotecnologia e pelo desenvolvimento de técnicas de síntese e caracterização de materiais em escala nanométrica (49).

A célebre frase de Richard Feynman, "There's plenty of room at the bottom" (Há muito espaço no fundo), foi proferida na reunião anual da American Physical Society em Caltech, em 29 de dezembro de 1959. Nessa palestra, Feynman discutiu a possibilidade de manipular e controlar a matéria em escala atômica e sugeriu que a construção a partir do nível atômico até à escala nanométrica poderia abrir caminho para avanços tecnológicos significativos. A sua palestra é amplamente considerada como uma das primeiras visões e inspirações para o campo emergente da nanotecnologia. A frase de Feynman enfatiza a ideia de que, explorando a escala nanométrica, há um vasto potencial para avanços científicos e tecnológicos. Ela despertou o interesse de muitos pesquisadores e estimulou o desenvolvimento da nanociência e da nanotecnologia, impulsionando a pesquisa sobre as propriedades e aplicações das nanopartículas e de outros materiais em escala nanométrica, sendo essa palestra citada como um marco histórico neste campo (49).

O desenvolvimento das nanopartículas é um campo de pesquisa em constante evolução, e novas descobertas e avanços continuam a surgir. O uso e a aplicação das nanopartículas estão sujeitos a regulamentações e considerações éticas, visando garantir a segurança e minimizar possíveis impactos negativos ao meio ambiente e à saúde humana (50)

Com o aumento da frequência do uso de nanomateriais, há uma necessidade urgente de avaliar a sua segurança biológica. No entanto, o estabelecimento de um

sistema de avaliação de biossegurança de nanomateriais ainda está em fase exploratória e a avaliação de biossegurança de nanomateriais concentra-se principalmente no estudo toxicológico dos seus efeitos na saúde, mas ainda não se fez observação e avaliação de acompanhamento após a reparação das feridas. Os nanomateriais podem entrar nas células e afetar o processo transmembranar, a divisão celular, a proliferação, a apoptose e outros processos básicos da vida e a regulação das vias de transdução de sinal relacionadas, de modo a produzir certos efeitos biológicos a nível celular (50, 51).

A capacidade de manipular e modificar materiais em escala nanométrica pode resultar em propriedades e comportamentos imprevistos e desconhecidos. Isto levanta certas preocupações sobre a segurança e os impactos potenciais desses materiais na saúde humana e no meio ambiente, apresentando desafios na regulamentação e ética (50). Alguns pontos importantes são:

- ❖ Regulamentação de segurança: Devido às propriedades únicas das nanopartículas é necessário avaliar os riscos associados à exposição a esses materiais. Os reguladores precisam estabelecer diretrizes e limites de segurança para o uso de nanomateriais em diferentes setores, como produtos de consumo, medicamentos, alimentos e cosméticos (52).
- ❖ Avaliação de riscos: A avaliação de riscos de nanomateriais é um desafio complexo, pois os efeitos na saúde e no meio ambiente podem ser diferentes dos efeitos produzidos pelos materiais em escala convencional. São necessárias pesquisas e métodos aprimorados para avaliar os riscos associados à exposição a nanomateriais, considerando a exposição ocupacional, ambiental e do consumidor (52).
- ❖ Ética da pesquisa: A pesquisa em nanotecnologia deve seguir princípios éticos sólidos. Isso inclui garantir a proteção dos direitos humanos e animais envolvidos nos estudos, garantir o consentimento informado dos participantes e considerar as possíveis consequências éticas de longo prazo (53).
- ❖ Impactos ambientais: É essencial avaliar os possíveis impactos ambientais da nanotecnologia ao longo do ciclo de vida dos nanomateriais, desde a sua produção até à sua eliminação. Isso inclui a consideração de riscos potenciais para ecossistemas, biodiversidade e ciclos naturais (53).

- ❖ **Equidade e justiça:** A distribuição equitativa dos benefícios da nanotecnologia e a minimização de impactos negativos são questões éticas importantes. É necessário garantir que a nanotecnologia seja acessível e benéfica para todos, evitando disparidades socioeconómicas e desigualdades no acesso a tecnologias e benefícios decorrentes (53).

É importante acompanhar os avanços na regulamentação e as questões éticas para garantir uma abordagem responsável e sustentável da nanotecnologia.

### **5.1. Nanomedicina para a regeneração de feridas**

A cicatrização de feridas é um processo complexo e multifatorial. Embora os tratamentos existentes tenham avançado em termos de controlo de infeção e absorção de exsudatos, ainda há desafios a serem superados para alcançar o efeito ideal de reparação de feridas (5).

Nos últimos anos, a pesquisa tem-se concentrado em nanomateriais como uma abordagem promissora para melhorar os resultados de cicatrização de feridas. Os nanomateriais têm características únicas devido ao seu tamanho nanométrico e propriedades físico-químicas e biológicas especiais (54, 55). Algumas das vantagens importantes em relação aos tratamentos convencionais, são:

- ❖ **Maior área de superfície:** Devido ao seu tamanho nanométrico, os nanomateriais têm uma área de superfície muito maior em comparação com os materiais convencionais, o que pode melhorar a interação com as células e tecidos da ferida (54).
- ❖ **Libertação controlada de medicamentos:** Os nanomateriais podem ser projetados para libertar gradualmente medicamentos ou fatores de crescimento, o que pode promover a cicatrização e reduzir o risco de infeção (54).
- ❖ **Propriedades antimicrobianas:** Algumas nanopartículas têm propriedades antimicrobianas naturais, o que pode ajudar a reduzir a carga bacteriana na ferida e prevenir a infeção, sem produzir resistência, sendo este um problema enfrentado por muitos antibióticos (54).
- ❖ **Biocompatibilidade:** Muitos nanomateriais mostraram ser biocompatíveis e bem tolerados pelos tecidos, o que é essencial para o sucesso do tratamento (54).

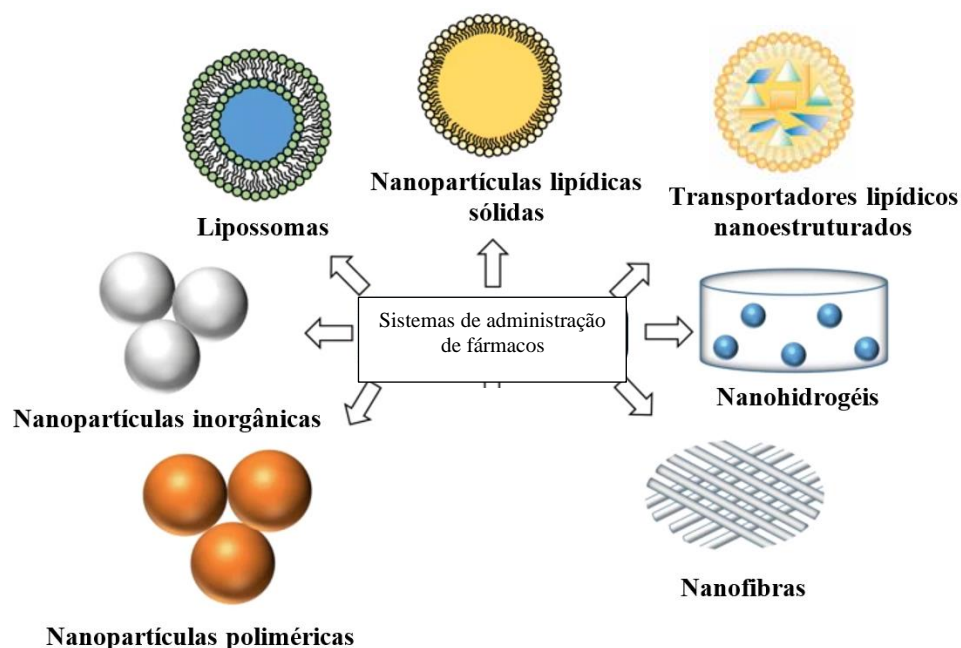
Quando as nanopartículas entram em contato com as paredes das células bacterianas, elas podem exercer efeitos bactericidas através de diferentes mecanismos. Um deles é a libertação de íons metálicos tóxicos como a prata, o cobre ou o zinco. Estes íons podem danificar a parede celular bacteriana, interferir nos processos metabólicos, prejudicar e causar danos ao ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano, levando à morte celular (56).

Além disso, as nanopartículas podem gerar Espécies Reativas de Oxigénio (ERO) quando em contato com as células bacterianas. As ERO, como radicais livres e peróxidos, são altamente reativos e podem danificar componentes celulares essenciais, como proteínas e lípidos. Isso pode resultar em disfunção celular e, eventualmente, na morte bacteriana (56).

As propriedades físicas e químicas das nanopartículas, como a carga e o tamanho, também podem facilitar a interação com as paredes das células bacterianas. As nanopartículas carregadas positivamente podem ser atraídas pelas superfícies bacterianas carregadas negativamente, estabelecendo-se forças de van der Waals e interações hidrofóbicas, podendo alterar a permeabilidade da parede celular, causar lesões e interferir nos processos celulares (56).

## 6. Sistemas de administração nanotecnológico

Para a regeneração da pele há diferentes tipos de nanopartículas que podem ser usadas (**Figura 3**), sendo no geral de origem lipídica, polimérica ou inorgânica. Existem ainda outros sistemas que podem servir de veículo para as nanopartículas ou ter função regenerativa intrínseca, como os nanohidrogeis, nanofibras e nanoscaffolds.



**Figura 3.** Sistemas de administração nanotecnológica no tratamento de feridas. *Adaptado de (57).*

É importante considerar a dispersão e a acumulação de nanopartículas nos órgãos, pois isto pode desencadear toxicidade no hospedeiro. São necessários estudos para avaliar os riscos e a segurança antes da aplicação clínica de nanopartículas não biodegradáveis. Além disso, esses estudos são cruciais para avaliar a retenção das nanopartículas na pele, possíveis respostas indesejáveis da pele às nanopartículas como inflamação e reação de corpo estranho, e rastrear qualquer libertação subsequente das nanopartículas na corrente sanguínea (58).

Como a pele é uma barreira altamente eficaz, a administração de medicamentos tópicos é especialmente desafiadora. No entanto há benefícios nos medicamentos tópicos como: aplicação direta na área afetada para condições dermatológicas, absorção mínima

na circulação sistémica, dosagem contínua para um tratamento de vários dias e efeitos colaterais mínimos (59).

Os desafios do desenvolvimento de medicamentos aplicados topicamente são os níveis de medicação adequados ao local de ação, ter estabilidade física e química e ser esteticamente atraentes sem irritar a pele. Uma mudança substancial numa formulação durante o processo de desenvolvimento do sistema de administração exigirá a repetição dos estudos. Como a exposição sistémica pode ser baixa após a aplicação tópica, a caracterização do perfil farmacocinético exige um ensaio bioanalítico sensível (59).

A aplicação de medicamentos tópicos, tem como objetivo principal promover o processo de cicatrização e prevenir infeções, desempenhando um papel indispensável no tratamento de todos os tipos de feridas. Portanto, ainda existe um grande esforço na exploração de novos agentes terapêuticos para terapia tópica de feridas.

Os agentes terapêuticos tópicos consistem em fatores de crescimento e agentes antimicrobianos sendo cruciais para o tratamento de feridas e regeneração da pele. Os fatores de crescimento são polipéptidos biologicamente ativos que regulam o crescimento, diferenciação e migração celular e exercem um impacto em todas as fases da cicatrização de feridas (59). Nesta secção estão descritos alguns estudos aplicando os sistemas nanotecnológicos com fármacos na regeneração cutânea.

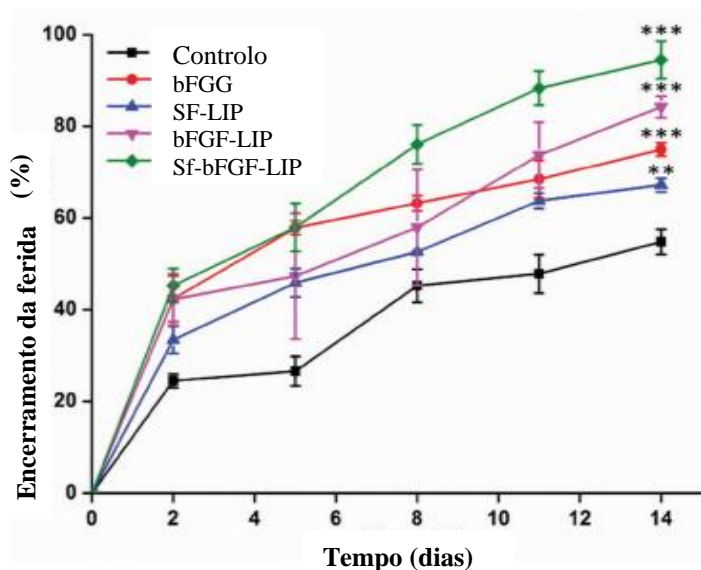
## **6.1. Nanopartículas lipídicas**

Os sistemas de administração lipídicos de fármacos são classificados em lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC).

Os lipossomas são partículas coloidais à base de fosfolípidos, tendo uma estrutura análoga às membranas celulares, com uma bicamada lipídica que envolve uma cavidade interna. Essa estrutura em camadas duplas de fosfolípidos permite que as substâncias lipofílicas e hidrofílicas sejam encapsuladas e transportadas, podendo transportar substâncias ativas no seu interior ou dentro das camadas lipídicas de forma mais eficaz e direcionada. Além disso, os lipossomas cobrem eficazmente a ferida e criam um ambiente húmido na superfície da ferida após a aplicação, o que é propício à cicatrização da ferida. No entanto, os lipossomas também apresentam alguns inconvenientes na aplicação, como sejam, a libertação de fármacos dos lipossomas que às vezes pode ser indesejável e

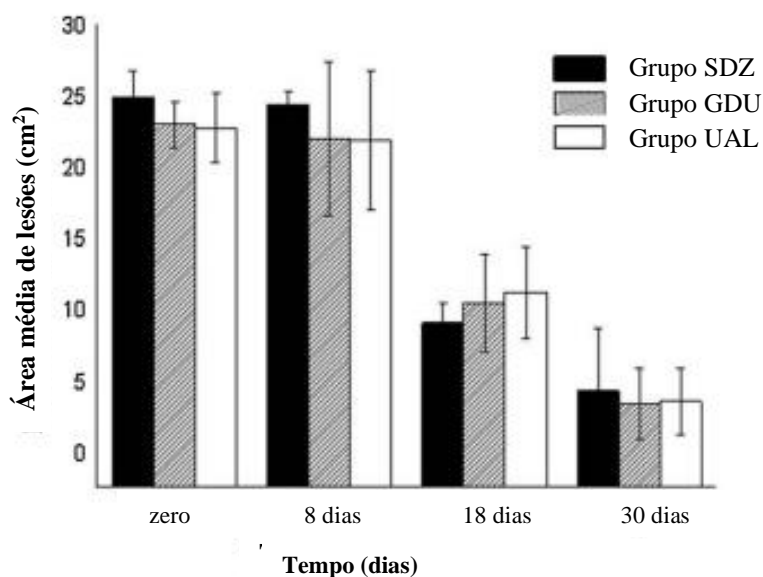
rápida, e a baixa reprodutibilidade e estabilidade dos lipossomas que continua a ser um obstáculo para o seu uso clínico (60).

Xu *et al* realizaram estudos em camundongos com queimaduras de segundo grau profundas e trataram-nos com lipossomas com o núcleo em hidrogel de seda fibrosa que encapsulou de forma eficaz o fator de crescimento fibroblástico básico (**Figura 4**). Com este sistema de administração, a estabilidade do fator de crescimento fibroblástico básico, regulador da angiogénese, aumentou no exsudado da ferida e manteve a atividade de proliferação celular em comparação com lipossomas isolados, pelo que acelerou a indução da angiogénese e com isso a cicatrização da ferida (61).



**Figura 4.** As taxas de encerramento de feridas para os cinco tipos de tratamento. *Adaptado de* (61). **BFGG**- fator de crescimento de fibroblastos básico; **SF-LIP**- lipossoma com núcleo de hidrogel de fibrina de seda; **bFGF-LIP**- lipossoma com fator de crescimento de fibroblastos básico; **Sf-bFGF-LIP**- lipossomas com o núcleo em hidrogel de seda fibrosa encapsulado com fator de crescimento fibroblástico básico; **Controlo**- solução salina.

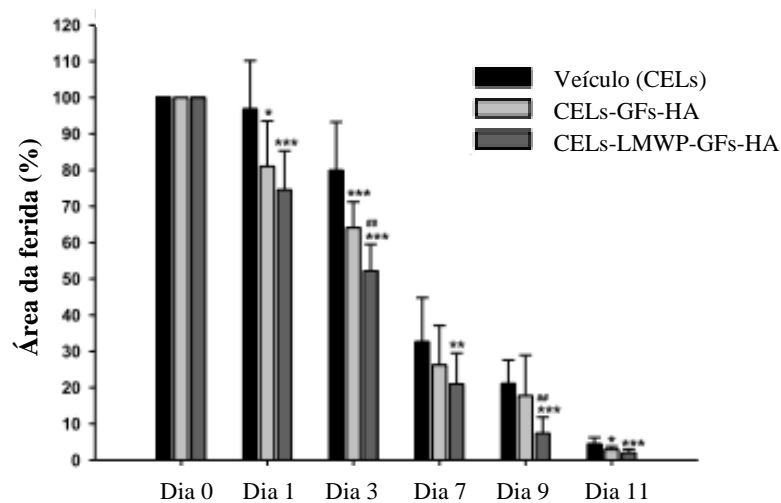
Também Nunes *et al* realizaram estudos em suínos avaliando o efeito promotor de uma membrana de gelatina contendo lipossomas contendo ácido úsnico na cicatrização de feridas (**Figura 5**). Na experiência verificou-se um controlo notável da infeção secundária, com um tecido com melhor deposição de colagénio promovendo a cicatrização e retração macroscópica da ferida devido à libertação controlada do fármaco (62).



**Figura 5.** Áreas de feridas por queimadura, no momento inicial e 8, 18 e 30 dias após a lesão, nos três grupos experimentais. SDZ: animais tratados com pomada de sulfadiazina de prata; GDU: animais tratados com duoDerme®; UAL: animais tratados com uma membrana de gelatina com lipossomas carregados com ácido úsnico. *Adaptado de (62).*

Em outro trabalho, Cevc e Blume, modificaram a estrutura da bicamada dos lipossomas, adicionando ativadores de superfície à composição do lipossoma, e os lipossomas modificados daí resultantes foram chamados de “Lipossomas Deformáveis” para uma melhor penetração na pele. Estes contêm tamanhos de vesículas menores e maior elasticidade. As vesículas deformáveis apresentam maior eficiência de aprisionamento e maior potencial de permeação da pele (63).

Uk Choi *et al.* conjugaram protamina de baixo peso molecular (LMWP) às terminações N do EGF, do PDGF e do IGF-I. Estas moléculas foram posteriormente complexadas com ácido hialurónico (HA) e incorporadas em lipossomas deformáveis catiónicos. Esta formulação permitiu uma exposição prolongada dos lipossomas do fator de crescimento com HA no leito da ferida, reduzindo a dose necessária de fatores de crescimento. Os resultados mostraram um sinergismo dos lipossomas elásticos catiónicos contendo o complexo de fatores de crescimento, pois estes aceleraram significativamente a taxa de encerramento de feridas no modelo de camundongo diabético, com a máxima redução do tamanho da ferida em 58% em comparação com o complexo de fatores de crescimento por si só (**Figura 6**) (64).

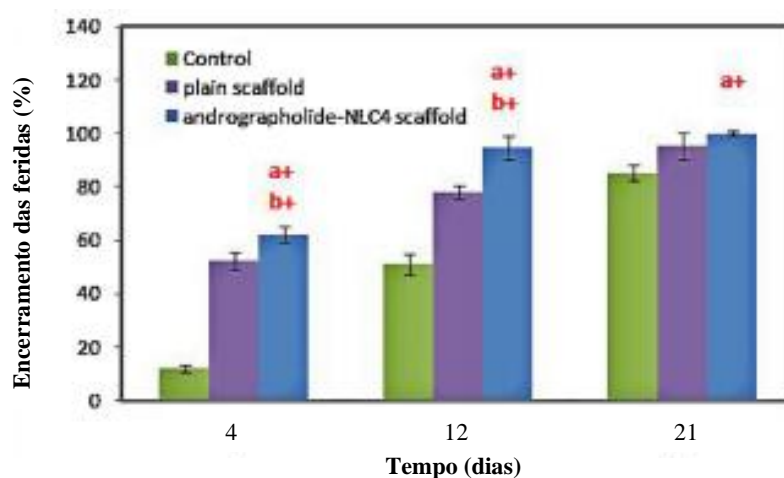


**Figura 6.** Área da ferida ao longo de 11 dias de ensaio. **CELs:** lipossomas elásticos catiónicos; **CELs-GFs-HA:** lipossomas elásticos catiónicos com fatores de crescimento e ácido hialurônico; **CELs-LMWP-GFs-HA:** lipossomas elásticos catiónicos com protamina de baixo peso molecular conjugados com fatores de crescimento e ácido hialurônico. *Adaptado de (64).*

As SLN são nanopartículas produzidas a partir de lípidos sólidos, enquanto o componente lipídico dos NLC é uma mistura de lípidos sólidos e líquidos, o que faz com que os NLC tenham uma matriz lipídica menos ordenada e mais imperfeita. Devido à sua estrutura cristalina, os SLN têm um espaço limitado para os fármacos e podem libertá-los durante o armazenamento, especialmente quando as temperaturas se alteram. Por outro lado, as NLC, devido à sua estrutura imperfeita, têm mais espaço disponível para transportar os fármacos e, portanto, têm uma tendência menor de libertar os fármacos durante o armazenamento. Portanto, em comparação com os SLN, os NLC podem aumentar a carga do fármaco e reduzir o medicamento libertado durante o armazenamento (65).

Sanad *et al.* desenvolveram NLCs carregadas com andrografolídeo que foram incorporadas numa matriz de quitosano-HA e administradas em camundongos (**Figura 7**). Essa matriz apresentou características como porosidade adequada, índice de aumento de volume apropriado e libertou o fármaco de forma controlada durante 72 horas. Quando aplicada em queimaduras de segundo grau, observou-se uma redução significativa na formação de cicatrizes e uma melhoria na qualidade da cicatrização. Isto pode ser explicado pelos efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes do quitosano, do HA e das

nanopartículas. Portanto, esta matriz representa uma possível opção para o tratamento de feridas que necessitam de cicatrização mais eficiente (66).



**Figura 7.** Taxa do encerramento da ferida. **Control:** grupo de controlo; **plain scaffold:** scaffold com quitosano e ácido hialurónico; **Andrographolide-NLC4 scaffold:** nanopartículas lipídicas carregadas com andrografólídeo numa matriz de quitosano-ácido hialurónico. *Adaptado de (66).*

## 6.2. Nanopartículas poliméricas

As nanopartículas poliméricas são partículas em escala nanométrica compostas por materiais poliméricos de origem natural ou sintética, sendo usados separadamente ou misturados para muitas aplicações, incluindo cicatrização de feridas.

Quando os fármacos são incorporados ou conjugados nas nanopartículas poliméricas ficam protegidos da degradação pelas proteases presentes na ferida e libertados de forma prolongada de modo a reduzir a frequência de administração (67).

As nanopartículas poliméricas naturais são derivadas de fontes naturais, como polissacáridos, quitosano e alginato, proteínas como a gelatina ou outros compostos biológicos. Esses polímeros são extraídos de fontes vegetais, animais ou microbianas, pelo que as nanopartículas poliméricas naturais são geralmente consideradas mais biocompatíveis e seguras que as sintéticas. No entanto, as nanopartículas poliméricas naturais podem ter desvantagens em relação às sintéticas e podem ter propriedades menos previsíveis devido à variação nas fontes naturais dos polímeros (67, 68).

As nanopartículas poliméricas sintéticas são fabricadas a partir de polímeros sintéticos, como poliácidos, poliésteres, poliuretanos, entre outros. Estes polímeros são criados por processos químicos em laboratório. Uma das principais vantagens das nanopartículas poliméricas sintéticas é a capacidade de controlar a sua composição,

tamanho, forma e propriedades físicas e químicas. Isto permite um design personalizado para atender a requisitos específicos. Em geral, as nanopartículas poliméricas sintéticas tendem a ser mais vantajosas e previsíveis em relação às naturais, o que pode ser importante para aplicações de longa duração ou que exigem um controle preciso (67, 68).

Hussain Z *et al.* fabricaram nanopartículas de HA carregadas com curcumina, (CUR) e resveratrol (REV) (69). A curcumina tem sido amplamente utilizada devido às suas potenciais propriedades biomédicas, tais como ação anti-inflamatória, antibacteriana (particularmente contra *Staphylococcus aureus*), anticancerígena, antioxidante e eficácia na cicatrização de feridas. No entanto, a sua viabilidade terapêutica é limitada devido à sua baixa solubilidade em água, curta semi-vida plasmática, rápida eliminação e baixa biodistribuição (69).

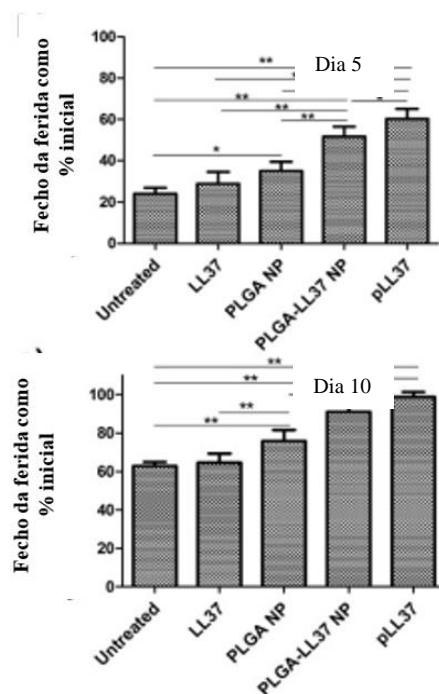
O HA foi verificado que tem efeitos superiores na cicatrização de feridas, propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, regeneração de tecidos, rejuvenescimento da pele e eficácia anticancerígena e o resveratrol foi verificado que tem um bom efeito antioxidante (69).

Devido às suas versáteis propriedades físico-químicas, as nanopartículas poliméricas foram estudadas quanto à sua capacidade de encapsular e administrar na ferida os dois fármacos simultaneamente. Para melhorar ainda mais as suas características biofarmacêuticas, foram ainda desenvolvidas nanopartículas de quitosano com CUR e REV incorporados (CUR-REV-CS-NPs) potenciadas com HA. O estudo de libertação *in vitro* revelou um padrão de libertação bifásico das nanopartículas HA-CUR-REV-CS, com uma libertação inicial rápida de CUR e REV nas primeiras 8 horas, seguida por uma libertação sustentada contínua. Devido à hidrofobicidade da CUR, ela apresentou uma libertação relativamente mais lenta do que o REV. Os autores deduziram então que as nanopartículas tinham um efeito sinérgico e que reduzia a frequência da aplicação tópica, prolongava a localização dos fármacos no local-alvo e melhorava a eficácia na cicatrização de feridas no tratamento de queimaduras (69).

Chereddy *et al.* estudaram nanopartículas de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) carregadas com o péptido antimicrobiano LL37 (NP-PLGA-LL37) (**Figura 8**). O LL37 é um péptido antimicrobiano humano, que desempenha um papel na defesa do corpo contra infeções bacterianas, fúngicas e virais. Este péptido possui propriedades antimicrobianas e imunomoduladoras, ajudando o sistema imunológico a combater os agentes patogénicos invasores. Além disso, o LL37 também está envolvido em processos

de cicatrização de feridas e inflamação. Para os estudos utilizaram então um controlo positivo com 50 µg de plasma que codifica catelicidina humana, (hCAP-18) que é processada para formar o peptídeo antimicrobiano LL-37 pela clivagem extracelular com a proteinase 3, hCAP18 / LL37 (pLL37), grupo de controlo positivo é o que não está exposto ao tratamento experimental, mas que é exposto a um outro tratamento que se sabe ter o efeito esperado (70).

A principal vantagem dos sistemas de administração de PLGA é que o polímero pode desempenhar duas funções, designadamente: ser um agente de cicatrização de feridas, por si só, uma vez que possui lactato exógeno que acelera a angiogénese, ativa fatores de colagénio, recruta células endoteliais e células progenitoras e tem a capacidade de libertar medicamentos de forma sustentável na ferida. As nanopartículas de PLGA protegem a carga carregada do ambiente externo e, assim, aumentam a sua disponibilidade e atividade. Em comparação com os outros grupos, os camundongos tratados com nanopartículas de PLGA mostraram uma formação avançada de tecido de granulação, caracterizada por uma deposição significativamente maior de colagénio, de composição epitelial e neovascularização. Além disso, melhorou a angiogénese e modulou a resposta inflamatória da ferida, aumentando a expressão de interleucina-6 (IL-6) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (70).



**Figura 8.** Área da ferida no dia 5 e dia 10. **Untreated:** não tratado; **LL37:** animais tratados com péptido antimicrobiano LL37; **PLGA NP:** animais tratados com nanopartículas de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico); **PLGA-LL37 NP:** nanopartículas de poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) PLGA carregadas com o péptido antimicrobiano LL37; **pLL37:** controlo positivo. *Adaptado de (70).*

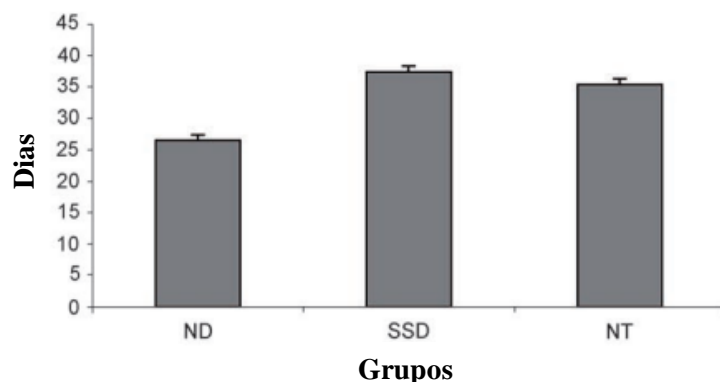
### 6.3. Nanopartículas inorgânicas

As nanopartículas inorgânicas são partículas nanométricas de origem metálica (prata, ouro, cério ou titânio) ou magnética (óxido de ferro, etc).

As nanopartículas de prata receberam ampla consideração nesta área devido à sua ação inibitória em aproximadamente 650 espécies de micróbios e contra bactérias resistentes a antibióticos. Estas podem inibir a reprodução bacteriana desnaturando o ADN bacteriano, o que leva à alteração da célula bacteriana e, finalmente, à morte celular. As nanopartículas de prata vão aderir à superfície da membrana da célula, o que leva à destruição da membrana celular e a alterações na atividade de transporte, vão entrar na célula e interagir com organelos (mitocôndrias) e biomoléculas (proteína, ADN), resultando na sua disfunção, induzindo citotoxicidade e stress oxidativo pela produção de ERO e radicais livres (71).

No entanto, a toxicidade da prata e das suas nanopartículas pode afetar também células humanas saudáveis, pelo que, concentrações elevadas de prata têm efeito citotóxico em células humanas, incluindo fibroblastos da derme (71, 72). Verificou-se que, em apenas 1 hora, as nanopartículas de prata (AgNP, com cerca de 20 nm de tamanho) conseguiam penetrar num biofilme de *E. coli* com 40 µm de tamanho e, uma vez dentro do biofilme, as AgNP dissolviam-se, libertando iões de prata, o que resultava numa maior atividade antibacteriana. Todavia, a eficácia antibacteriana das AgNP em relação ao biofilme diminuirá significativamente devido à tendência que elas têm para se agregarem. Além disso, as AgNP são relativamente tóxicas para as células humanas, o que é um dos principais obstáculos para sua aplicação na cicatrização de feridas (58).

Estudos feitos em ratos, demonstraram uma cura rápida e dose-dependente e melhor aparência superficial da ferida, apresentando maior semelhança com a pele normal, com menos cicatrizes hipertróficas e crescimento quase normal de pêlos na superfície da ferida. Neste estudo as feridas com nanopartículas de prata cicatrizaram completamente em aproximadamente 25.2 dias após a lesão, enquanto aquelas tratadas com antibióticos necessitaram de 28,6 dias (**Figura 9**). A cicatrização relativamente rápida da ferida e a redução da inflamação da ferida podem ser mediadas pela elevação de TGF-β, VEGF, IL-6 induzida por nanopartículas de prata (73).



**Figura 9.** Tempo necessário para a cicatrização de queimaduras em animais tratados com nanopartículas de prata (ND), sulfadiazina de prata (SSD) e sem tratamento (NT). *Adaptado de (78).*

As nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) podem gerar ERO que impedem o desenvolvimento de biofilmes bacterianos, como aqueles causados por *E. coli* e *S. aureus*, em concentrações adequadas. Elas possuem atividade antibacteriana sem afetar as células normais (74).

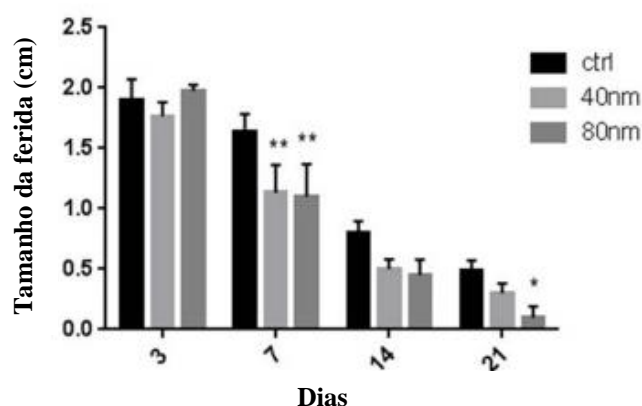
Rayyif *et al.* conduziram estudos envolvendo nanopartículas contendo óxido de zinco para avaliar sua interação tanto com bactérias quanto com biofilmes (75). O teste mostrou eficácia tanto contra estirpes de bactérias Gram-positivas como para estirpes Gram-negativas, isoladas de infecções em feridas, incluindo aquelas com resistência a múltiplos medicamentos (MDR). Os dados recolhidos indicam que os revestimentos de nano ZnO prejudicam a viabilidade das bactérias de maneira dose e tempo dependentes, sendo particularmente eficazes na eliminação de bactérias após 6 horas de contato. Estes resultados destacam que a atividade antibacteriana não se limitou apenas às células bacterianas em estado livre, mas também afetou biofilmes, que geralmente são mais resistentes a antibióticos e outras substâncias antimicrobianas, uma vez que, são uma comunidade complexa de microrganismos que têm uma grande organização e envolvem-se em uma matriz de substâncias extracelulares, como polissacarídeos, proteínas e DNA. Essa matriz protege e sustenta as células microbianas, permitindo que elas se agrupem e cooperem de várias maneiras. (75).

Estes pensos podem ser aplicados com eficácia no tratamento de feridas crônicas, uma vez que a sua atividade antimicrobiana se torna significativa após 6 horas e continua eficaz até 3 dias. Este estudo sugere que pensos com nanopartículas de ZnO são

candidatos promissores para o desenvolvimento de tratamentos modernos projetados para prevenir e tratar infecções em biofilmes e feridas crônicas (75).

As nanopartículas de cobre têm uma boa biocompatibilidade e são preparadas facilmente e a baixo custo, podendo interferir na atividade viral e tendo um amplo espectro de propriedades antibacterianas, produzindo stress oxidativo que leva à quebra de membranas virais ou bacterianas (76).

O estudo de Alizadeh *et al* demonstrou que nanopartículas de cobre (CuNP) com tamanho de 80 nm e concentração de 1  $\mu$ M promoveram a migração e proliferação de células endoteliais, aumentaram a expressão de colagénio I em células de fibroblastos cultivadas e aceleraram a cicatrização de feridas cutâneas em ratos (**Figura 10**). A taxa de cicatrização da ferida em ratos tratados com CuNP (80 nm/1  $\mu$ M) foi significativamente mais rápida do que no rato de controlo, tratado apenas com água desionizada e em ratos tratados com CuNP (40 nm/10  $\mu$ M) nos dias 7, sem causar efeitos adversos. Portanto, os resultados sugerem que as CuNP (80 nm/1  $\mu$ M) têm o potencial de serem usadas como um nanomaterial promissor para aplicações na cicatrização de feridas (77).



**Figura 10.** Medição da área da ferida (cm<sup>2</sup>) nos dias 3, 7, 14 e 21 após tratamento com **Ctrl**: água desionizada, **40nm**: CuNP 10 mM (40 nm) e **80nm**: CuNP 1 mM (80 nm). *Adaptado de (77).*

As nanopartículas de ouro (AuNP) são conhecidas pela sua biocompatibilidade e são amplamente utilizadas em aplicações biomédicas. No entanto, por si só, não possuem atividade antimicrobiana significativa. Para aplicações antimicrobianas efetivas, as nanopartículas de ouro devem ser associadas a outras substâncias químicas, como GT, CS ou colagénio. Estas associações podem ser utilizadas na cicatrização de feridas.

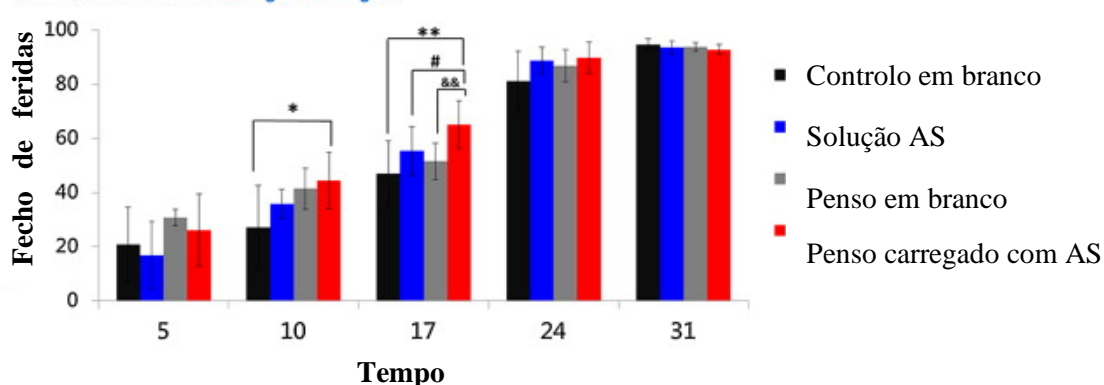
Leu *et al* estudaram nanopartículas de ouro combinadas com dois antioxidantes, o galato de epigallocatequina (EGCG) e o ácido  $\alpha$ -lipóico (ALA) (78). Neste estudo

observou-se que a aplicação tópica deste sistema foi muito mais eficaz do que EGCG ou ALA isoladamente na promoção da proliferação e migração de fibroblastos dérmicos ou queratinócitos. Por outro lado, observou-se também que esta, em concentrações específicas, não aumentou significativamente a angiogénese a nível molecular na área da ferida cutânea de camundongo. Apesar disso, a cicatrização de feridas no grupo com AuNP estava quase completa 7 dias após a lesão, enquanto as feridas dos camundongos de controlo ainda não tinham cicatrizado completamente. Tanto a largura quanto o comprimento da ferida em camundongos tratados com AuNP diminuíram significativamente no dia 7 após a lesão quando comparados com camundongos controlo. Nenhum efeito adverso do tratamento tópico foi observado no peso corporal, na saúde geral ou no comportamento dos camundongos (78).

#### 6.4. Nanofibras

As nanofibras são fabricadas a partir de cadeias poliméricas contínuas naturais e sintéticas que são capazes de atuar posteriormente como folhas nanofibrosas ou estruturas 3D aplicadas na engenharia de tecidos, designadas *nanoscaffolds*. Estas nanofibras podem ser compostas por diversos materiais, como polímeros, metais e biomoléculas como ADN e proteínas. Essas estruturas nanofibrosas são feitas para imitar a matriz extracelular, fornecer condições favoráveis para a fixação celular e elevar a interação célula-fármaco (79).

Shan *et al.* prepararam uma nanofibra com astragalosídeo IV, forte anti-inflamatório e antioxidante usando a técnica de eletrificação de fibroína de seda (SF) /gelatina (GT) (**Figura 11**). O penso de nanofibras estava equipado com excelente biocompatibilidade, melhorando significativamente a adesão e proliferação celular *in vitro*, acelerando a cicatrização de feridas e inibindo a formação de cicatrizes *in vivo*. Os resultados também revelaram que o penso de nanofibras tinha impactos positivos na angiogénese, na produção de colagénio e na organização do mesmo. O penso nanofibroso foi ligeiramente melhor que o grupo de controlo, sem tratamento. Embora estes quatro grupos não apresentassem diferenças notáveis, a microestrutura foi posteriormente observada (80).



**Figura 11.** Percentagem de encerramento da ferida. *Adaptado de (80).*

A solução de astragalosídeo IV (AS) e o penso nanofibroso SF/GT carregado com AS contribuíram para os efeitos angiogénicos e a deposição regular de colagénio recém-formado 31 dias após o ferimento, em comparação com o grupo de controlo em branco e o grupo de penso nanofibroso em branco. A solução AS e o penso nanofibroso SF/GT carregado com AS poderiam ajustar a deposição de colagénio na cicatrização de feridas. Este resultado também explica a razão da solução AS e o penso nanofibroso SF/GT carregado com AS promoverem a cicatrização de feridas em vez da formação de cicatrizes. Este estudo indicou que o penso nanofibroso SF/GT carregado com AS contribuiu significativamente para a cicatrização de feridas em comparação com os grupos controlo branco, solução AS e penso nanofibroso branco (80).

## 6.5. Nanohidrogéis

Um nanohidrogel é uma rede polimérica tridimensional considerada a formulação ideal para o tratamento de feridas. Tem uma estrutura tridimensional porosa que lhe confere a capacidade de absorção de fluídos aquosos, evitando a desidratação da ferida e criando um ambiente húmido benéfico para a sua cicatrização, reduzindo a probabilidade de formação de crostas e facilitando a migração de células da pele.

A sua natureza não adesiva também permite preservar o leito da ferida, criando uma barreira protetora que impede a entrada de agentes patogénicos e a perda de líquidos, mantendo a penetração de oxigénio necessário para a cicatrização da ferida. Além disso, o nanohidrogel é capaz de conter fármacos com perfeita compatibilidade e eficácia, exercendo um efeito relevante na regeneração da pele (81).

Xi Loh *et al.* estudaram um novo hidrogel de nanocristal de celulose bacteriana (BNC)/ ácido acrílico (AA) (82). Neste estudo descobriram que podia aderir rapidamente aos fibroblastos, com mais de 80% de aderência em 4 horas, mantendo a atividade e a morfologia dos fibroblastos dérmicos humanos, limitar a migração celular e promover uma rápida proliferação celular e afetar a expressão de oito genes importantes envolvidos no processo de cicatrização de feridas (IL6, IL10, MMP2, CTSK, FGF7, GM-CSF, TGFB1 e COX2), sendo que também regulou negativamente um gene (F3) que pode ser benéfico durante o processo de cicatrização de feridas. Mostrando-se o hidrogel BNC/AA bastante promissor tanto em nível celular quanto molecular para acelerar a cicatrização de feridas (82).

## **7. Desafios e perspectivas futuras do uso de sistemas nanotecnológicos para regeneração de feridas**

Apesar dos resultados promissores, é importante destacar que a investigação nesta área ainda encontra desafios a serem superados, como garantir a segurança a longo prazo e a maior eficácia clínica relativa aos sistemas convencionais. Além disso, o tratamento de feridas é uma abordagem multifacetada e requer uma abordagem integrada com outros tratamentos, como o controlo da diabetes *mellitus*, o controlo da humidade na ferida, o controlo da infeção e o tratamento de comorbilidades (83).

Devido ao uso de vários tipos de nanopartículas e às suas diferentes propriedades físicas e químicas, o mesmo sistema com diferentes tamanhos de partícula poderá exibir diferentes efeitos biológicos. Portanto, há uma necessidade particularmente urgente de avaliar a biossegurança dos novos sistemas nanotecnológicos, devendo-se tentar evitar ou diminuir os efeitos adversos (43).

Embora a pesquisa em nanotecnologia tenha progredido consideravelmente nas últimas décadas, poucos produtos e terapias baseados em nanomateriais alcançaram a fase de ensaio clínico ou estão comercialmente disponibilizados. Uma das razões para essa limitação é que vários estudos incluindo a cicatrização de feridas, são realizadas em modelos animais. Embora os modelos animais sejam úteis para entender os mecanismos subjacentes e realizar estudos preliminares, é essencial lembrar que a estrutura da pele e os processos de cicatrização de feridas podem diferir significativamente entre roedores e seres humanos (41).

A pele dos roedores, como camundongos e ratos, é estrutural e biologicamente diferente da pele humana. Por exemplo, a pele de roedores cicatriza principalmente por contração, enquanto a pele humana cicatriza predominantemente por epitelização (crescimento de novas células da epiderme). Esta diferença é crítica, pois pode afetar a eficácia e a relevância dos resultados obtidos em modelos animais para o tratamento de feridas em seres humanos (58).

Portanto, é essencial que os investigadores considerem cuidadosamente as limitações dos modelos animais ao desenvolver nanomateriais para terapia de feridas e, sempre que possível, realizem estudos clínicos ou utilizem modelos de pele humana *in vitro* para melhor compreensão e validação da eficácia e segurança dos nanomateriais em humanos (58).

A avaliação rigorosa da biossegurança e a compreensão dos efeitos biológicos dos nanomateriais são etapas cruciais para avançar no desenvolvimento de terapias eficazes para a cicatrização de feridas (84).

Contudo, estes sistemas nanotecnológicos são uma área promissora e que traz muitas vantagens no tratamento de feridas.

## 8. Conclusão

O tratamento de feridas continua a ser um desafio, em particular para Portugal, uma vez que a população se encontra cada vez mais envelhecida, devido às terapias atuais, na sua maioria, não conseguirem proporcionar resultados favoráveis na cicatrização de feridas. No entanto, a expansão progressiva dos sistemas nanotecnológicos nos últimos anos trouxe novas abordagens com melhor eficácia para a regeneração da pele de feridas.

É importante notar que não há um "melhor" cicatrizante à base de nanopartículas universalmente reconhecido, pois a eficácia de um cicatrizante depende de vários fatores, incluindo o tipo de lesão, a gravidade da ferida e as necessidades individuais do utente. Os tratamentos contendo nanopartículas são muito promissores e são uma excelente opção terapêutica na cicatrização de feridas, uma vez que uma elevada velocidade de cicatrização, efeito hemostático, ação bactericida, baixa citotoxicidade, foram resultados verificados em vários estudos descritos.

Concluimos que, os sistemas nanotecnológicos apresentam maior eficácia comparando com os tratamentos convencionais, uma vez que originam melhores cicatrizações e mais rápidas, contribuindo para um menor gasto com o tratamento de feridas e para um menor impacto na vida do doente.

Os sistemas nanotecnológicos são uma área em desenvolvimento e a sua utilização no mercado é já uma realidade que se vai continuar a desenvolver.

## Referências bibliográficas

1. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, Margolis DJ, Pecoraro RE, Rodeheaver G, et al. Definitions and Guidelines for Assessment of Wounds and Evaluation of Healing. *Arch Dermatol.* 1994;130(4):489-493.
2. Jarbrink K, Ni G, Sonnergren H, Schmidtchen A, Pang C, Bajpai R, et al. The humanistic and economic burden of chronic wounds: a protocol for a systematic review. *Syst Rev.* 2017;6(1):15.
3. Furtado KAX, Infante P, Sobral A, Gaspar P, Eliseu G, Lopes M. Prevalence of acute and chronic wounds - with emphasis on pressure ulcers - in integrated continuing care units in Alentejo, Portugal. *Int Wound J.* 2020;17(4):1002-1010.
4. Situm M, Kolić M, Redzepi G, S. A. Kronicne rane kao javnozdravstveni problem [Chronic wounds as a public health problem]. *Acta Med Croatica.* 2014;68(1):5-7.
5. Negut I, Grumezescu V, Grumezescu AM. Treatment Strategies for Infected Wounds. *Molecules.* 2018;23(9):2392.
6. Jablonski NG. *Skin: A Natural History.* Berkeley : University of California Press; London; 2013.
7. Bernardo AFC, Santos K, Silva DP. Pele: alterações anatómicas e fisiológicas do nascimento à maturidade. *Rev Saúde Foco.* 2019;1221-1231.
8. Clinic C. *Epidermis Ohio: Cleveland Clinic;* 2023
9. Agarwal S, Krishnamurthy K. *Histology, Skin.* 2023. Treasure Island: StatPearls Publishing.
10. Kolarsick P, Kolarsick MA, Goodwin C. *Anatomy and Physiology of the Skin.* *JDNA.* 2011;3(4):203-213.
11. Brown TM, Krishnamurthy K. *Histology, Dermis.* StatPearls. Treasure Island StatPearls Publishing; 2022.
12. Wong R, Geyer S, Weninger W, Guimberteau JC, Wong JK. The dynamic anatomy and patterning of skin. *Exp Dermatol.* 2016;25(2):92-98.
13. Lopez-Ojeda W, Pandey A, Alhaji M, Oakley AM. *Anatomy, Skin.* StatPearls. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2022.
14. Archer CB. Functions of the skin. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, editors. *Rook's Textbook of Dermatology.* 1. 8 ed: Blackwell Publishing; 2010. p. 1-11.
15. Baranoski S, Ayello EA, Sibbald RG. *Skin: An Essential Organ.* In: Baranoski S, Ayello EA, editors. *Wound Care Essentials Practice Principles.* 5 ed. Filadélfia: Wolters Kluwer Health; 2020.
16. Dabrowska AK, Spano F, Derler S, Adlhart C, Spencer ND, Rossi RM. The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors. *Skin Res Technol.* 2018;24(2):165-174.
17. Fernandez-Flores A. Regional Variations in the Histology of the Skin. *Am J Dermatopathol.* 2015;37(10):737-754.
18. Schmid-Wendtner MH, Korting HC. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. *Skin Pharmacol Physiol.* 2006;19(6):296-302.
19. Boxberger M, Cenizo V, Cassir N, La Scola B. Challenges in exploring and manipulating the human skin microbiome. *Microbiome.* 2021;9(1):125.
20. Berardesca E, Maibach H. Racial differences in skin pathophysiology. *J Am Acad Dermatol.* 1996;34(4):667-672.

21. Giacomoni PU, Mammone T, Teri M. Gender-linked differences in human skin. *J Dermatol Sci*. 2009;55(3):144-149.
22. Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Characteristics of the Aging Skin. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013;2(1):5-10.
23. Gantwerker EA, Hom DB. Skin: histology and physiology of wound healing. *Clin Plast Surg*. 2012;39(1):85-97.
24. Macedo AS, Mendes F, Filipe P, Reis S, Fonte P. Nanocarrier-Mediated Topical Insulin Delivery for Wound Healing. *Materials (Basel)*. 2021;14(15).
25. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012;49(1):35-43.
26. Medeiros AC, Filho AMD. Cicatrização das feridas cirúrgicas. *J Surg Cl Res*. 2016;7(2):87-102.
27. Holloway S, Tate S, Stechmiller JK, Schultz G. Acute and Chronic Wound Healing. 2020. In: *Wound Care Essentials [Internet]*. Filadélfia: Wolters Kluwer. 5. [273-325].
28. Santos JB, Porto SG, Suzuki LM, Sostizzo LZ, Antoniazzi JL. Avaliação e tratamento de feridas: orientações aos profissionais de saúde 2011.
29. Warby R MC. Burn Classification. *StatPearls*. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2022.
30. Herman TF, Bordoni B. Wound Classification. 2023. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island: StatPearls Publishing.
31. Liu T, Lu Y, Zhan R, Qian W, Luo G. Nanomaterials and nanomaterials-based drug delivery to promote cutaneous wound healing. *Adv Drug Deliv Rev*. 2023;193.
32. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219-229.
33. Hess CT. Checklist for Factors Affecting Wound Healing. *Adv Skin Wound Care*. 2011;24(4):192.
34. Rajendran NK, Kumar SSD, Houreld NN, Abrahamse H. A review on nanoparticle based treatment for wound healing. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2018;44:421-430.
35. Gioffrè-Florino M, Murabito LM, Visalli C, Pergolizzi FP, Famà F. Trauma in elderly patients: a study of prevalence, comorbidities and gender differences. *G Chir*. 2018;39(1):35-40.
36. Despacho 1400-A/2015, de 10 de Fevereiro. *Diário da República n.º 28/2015, 1º Suplemento, Série II de 2015-02-10*.: Ministério da Saúde; 2015. p. 4-9.
37. Costa IA, Folgado E, Batista E, Rodrigues RA, Nunes S. Úlcera Por Pressão, Custos da Doença e Impacto Orçamental. *ELCOS*. 2020.
38. Olsson M, Järbrink K, Divakar U, Bajpai R, Upton Z, Schmidtchen A, et al. The humanistic and economic burden of chronic wounds: A systematic review *Wound Repair Regen*. 2019;27(1):114-125.
39. Estatuto da ordem dos farmacêuticos-Lei n.º 131/2015. Lisboa: *Diário da República, 1.ª série*; 2015.
40. Frykberg RG, Banks J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;4(9):560-582.
41. Lin Y, Chen Z, Liu Y, Wang J, Lv W, Peng R. Recent Advances in Nano-Formulations for Skin Wound Repair Applications. *Drug Des Devel Ther*. 2022;16:2707-2728.
42. Church NA, McKillip JL. Antibiotic resistance crisis: challenges and imperatives. *Biol*. 2021;76(5):1535-1550.

43. Huh AJ, Kwon YJ. "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release*. 2011;156(2):128-145.
44. Ghomi ER, Khalili S, Khorasani SN, Neisiany RE, Ramakrishna S. Wound dressings: Current advances and future directions. *J Appl Polym Sci*. 2019;136(27):47738.
45. Moses RL, Prescott TAK, Mas-Claret E, Steadman R, Moseley R, Sloan AJ. Evidence for Natural Products as Alternative Wound-Healing Therapies. *Biomolecules*. 2023;13(3).
46. Bahari N, Hashim N, Akim A, Maringgal B. Recent Advances in Honey-Based Nanoparticles for Wound Dressing: A Review. *Nanomaterials (Basel)*. 2022;12(15).
47. Al-Waili N, Salom K, Al-Ghamdi AA. Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice. *Sci World J*. 2011;11:766-87.
48. Najahi-Missaoui W, Arnold RD, Cummings BS. Safe Nanoparticles: Are We There Yet? *Int J Mol Sci*. 2020;22(1).
49. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*. 2019;25(1).
50. Santos N, Nolasco LG. A ênfase sobre conduta ética e os fatores incerteza e a condição humana inerentes às nanotecnologias. *Rev Fac Direito UFMG*. 2017;-(69):441-475.
51. Hulla JE, Sahu SC, Hayes AW. Nanotechnology: History and future. *Hum Exp Toxicol*. 2015;34(12):1318-1321.
52. Ray PC, Yu H, Fu PP. Toxicity and environmental risks of nanomaterials: challenges and future needs. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 2009;27(1):1-35.
53. H. MJ. *Nanotechnology Regulation and Policy Worldwide*. Boston: Artech House; 2023.
54. Ventola CL. *The Nanomedicine Revolution Part 1: Emerging Concepts*. *P T*. 2012;37(9):512-525.
55. Soliman S. Nanomedicine: Advantages and Disadvantages of Nanomedicine. *J Nanomed Nanotechnol*. 2023;14(3):666.
56. Ozdal M, Gurkok S. Recent advances in nanoparticles as antibacterial agent. *ADMET DMPK*. 2022;10(2):115-129.
57. Wang W, Lu KJ, Yu CH, Huang QL, Du YZ. Nano-drug delivery systems in wound treatment and skin regeneration. *J Nanobiotechnology*. 2019;17(1):82.
58. Kushwaha A, Goswami L, Kim BS. Nanomaterial-Based Therapy for Wound Healing. *Nanomaterials (Basel)*. 2022;12(4).
59. Wong WF, Ang KP, Sethi G, Looi CY. Recent Advancement of Medical Patch for Transdermal Drug Delivery. *Medicina (Kaunas)*. 2023;59(4).
60. Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y, et al. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett*. 2013;8(1):102.
61. Xu HL, Chen PP, ZhuGe DL, Zhu QY, Jin BH, Shen BX, et al. Liposomes with Silk Fibroin Hydrogel Core to Stabilize bFGF and Promote the Wound Healing of Mice with Deep Second-Degree Scald. *Adv Healthc Mater*. 2017;6(19).
62. Nunes PS, Rabelo AS, Souza JC, Santana BV, da Silva TM, Serafini MR, et al. Gelatin-based membrane containing usnic acid-loaded liposome improves dermal burn healing in a porcine model. *Int J Pharm*. 2016;513(1-2):473-482.

63. Nayak D, Tippavajhala VK. A Comprehensive Review on Preparation, Evaluation and Applications of Deformable Liposomes. *Iran J Pharm Res.* 2021;20(1):186-205.
64. Choi JU, Lee SW, Pangeni R, Byun Y, Yoon IS, Park JW. Preparation and in vivo evaluation of cationic elastic liposomes comprising highly skin-permeable growth factors combined with hyaluronic acid for enhanced diabetic wound-healing therapy. *Acta Biomater.* 2017;57:197-215.
65. Mukherjee S, Ray S, Thakur RS. Solid Lipid Nanoparticles: A Modern Formulation Approach in Drug Delivery System. *Indian J Pharm Sci.* 2009;71(4):349-358.
66. Sanad RA, Abdel-Bar HM. Chitosan-hyaluronic acid composite sponge scaffold enriched with Andrographolide-loaded lipid nanoparticles for enhanced wound healing. *Carbohydr Polym.* 2017;173:441-450.
67. Gagliardi A, Giuliano E, Venkateswararao E, Fresta M, Bulotta S, Awasthi V, et al. Biodegradable Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery to Solid Tumors. *Front Pharmacol.* 2021;12:601626.
68. Banik BL, Fattahi P, Brown JL. Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.* 2016;8(2):271-99.
69. Hussain Z, Pandey M, Choudhury H, Ying PC, Xian T, Kaur T, et al. Hyaluronic acid functionalized nanoparticles for simultaneous delivery of curcumin and resveratrol for management of chronic diabetic wounds: Fabrication, characterization, stability and in vitro release kinetics. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2020;57.
70. Chereddy KK, Her CH, Comune M, Moia C, Lopes A, Porporato PE, et al. PLGA nanoparticles loaded with host defense peptide LL37 promote wound healing. *J Control Release.* 2014;194:138-147.
71. Dakal TC, Kumar A, Majumdar RS, Yadav V. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Front Microbiol.* 2016;7:1831.
72. Singh M, Thakur V, Kumar V, Raj M, Gupta S, Devi N, et al. Silver Nanoparticles and Its Mechanistic Insight for Chronic Wound Healing: Review on Recent Progress. *Molecules.* 2022;27(17).
73. Tian J, Wong KK, Ho CM, Lok CN, Yu WY, Che CM, et al. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem.* 2007;2(1):129-36.
74. Asif N, Amir M, Fatma T. Recent advances in the synthesis, characterization and biomedical applications of zinc oxide nanoparticles. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2023;46(10):1377-1398.
75. Rayyif SMI, Mohammed HB, Curutiu C, Birca AC, Grumezescu AM, Vasile BS, et al. ZnO Nanoparticles-Modified Dressings to Inhibit Wound Pathogens. *Materials (Basel).* 2021;14(11).
76. Ermini ML, Voliani V. Antimicrobial Nano-Agents: The Copper Age. *ACS Nano.* 2021;15(4):6008-6029.
77. Alizadeh S, Seyedalipour B, Shafieyan S, Kheime A, Mohammadi P, Aghdami N. Copper nanoparticles promote rapid wound healing in acute full thickness defect via acceleration of skin cell migration, proliferation, and neovascularization. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019;517(4):684-690.
78. Leu JG, Chen SA, Chen HM, Wu WM, Hung CF, Yao YD, et al. The effects of gold nanoparticles in wound healing with antioxidant epigallocatechin gallate and alpha-lipoic acid. *Nanomedicine.* 2012;8(5):767-775.
79. Bianchera A, Cartanzano O, Bateng J, Elviri L. The Place of biomaterials in wound healing In: Boateng J, editor. *Therapeutic Dressings and Wound Healing Applications WILEY;* 2020. p. 355-356.

80. Shan YH, Peng LH, Liu X, Chen X, Xiong J, Gao JQ. Silk fibroin/gelatin electrospun nanofibrous dressing functionalized with astragaloside IV induces healing and anti-scar effects on burn wound. *Int J Pharm.* 2015;479(2):291-301.
81. Majumder B, Lane K, Beck D, Singh S, Majumder D. Clinical Perspectives for Treating Chronic Wounds In: Boateng J, editor. *Therapeutic Dressings and Wound Healing Applications* WILEY; 2020. p. 25.
82. Loh EY, Fauzi MB, Ng MH, Ng PY, Ng SF, Ariffin H, et al. Cellular and Molecular Interaction of Human Dermal Fibroblasts with Bacterial Nanocellulose Composite Hydrogel for Tissue Regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2018;10(46):39532-39543.
83. Hamdan S, Pastar I, Drakulich S, Dikici E, Tomic-Canic M, Deo S, et al. Nanotechnology-Driven Therapeutic Interventions in Wound Healing: Potential Uses and Applications. *ACS Cent Sci.* 2017;3(3):163-175.
84. Sahu T, Ratre YK, Chauhan S, Bhaskar LVKS, Nair MP, Verma HK. Nanotechnology based drug delivery system: Current strategies and emerging therapeutic potential for medical science. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2021;63.