



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

BIANCA ROCHA DA SILVA BARRETO

**Formulações de hidrogel de alginato e ZIF-8 com *Rhizophora mangle* ou ácido tântico na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos em ratos**

Recife  
2025

BIANCA ROCHA DA SILVA BARRETO

**Formulações de hidrogel de alginato e ZIF-8 com *Rhizophora mangle* ou ácido tântico na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos em ratos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia. Linha de pesquisa: Morfologia e Inovações Tecnológicas.

Orientador: Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira

Coorientadora: Prof. Dr. Luzia Abilio da Silva

Recife

2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Barreto, Bianca Rocha da Silva.

Formulações de hidrogel de alginato e ZIF-8 com Rhizophora mangle ou ácido tântico na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos em ratos / Bianca Rocha da Silva Barreto. - Recife, 2025.

74f.: il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira.

Coorientação: Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira.

Coorientação: Dr. Luzia Abilio da Silva.

1. Biomateriais; 2. Retalhos cirúrgicos; 3. Rhizophora mangle; 4. Taninos; 5. Estruturas metalorgânicas; 6. Hidrogéis.  
I. Vieira, Jeymesson Raphael Cardoso. II. Lira, Eduardo Carvalho. III. Silva, Luzia Abilio da. IV. Título.

UFPE-Biblioteca Central

**Formulações de hidrogel de alginato e ZIF-8 com *Rhizophora mangle* ou ácido tântico na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos em ratos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia. Linha de pesquisa: Morfologia e Inovações Tecnológicas.

**Aprovada em:**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**PROF.º DR.º IRANILDO JOSÉ DA CRUZ FILHO**

Universidade Federal de Pernambuco – Examinador Interno ao PPGM

---

**PROF.ª DR.ª DAYANE KELLY DIAS DO NASCIMENTO SANTOS**

Universidade Federal de Pernambuco – Examinadora Externa ao PPGM

---

**PROF.º DR.º JAIURTE GOMES MARTINS DA SILVA**

Universidade Federal de Alagoas – Examinador Externo ao PPGM

*Ao meu querido avô, Roberto, pelo desejo de um dia honrar ser chamada de “sua doutora”. Ao meu pai, Valter, à minha mãe, Patricia, e ao meu noivo, Julio, pelo eterno amparo que tenho a sorte de receber todos os dias.*

*Com amor, eu dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelas circunstâncias que me levaram a iniciar esse mestrado, pelos sinais que mostraram o caminho que eu devia seguir, e pela saúde a mim dada para conseguir terminá-lo.

A base de tudo, o alicerce que me permitiu sonhar e realizar, é a minha família. Ao meu avô, Roberto, minha eterna gratidão. Foi seu trabalho árduo no passado que construiu o conforto e as possibilidades que hoje tenho, permitindo que eu me dedicasse a este mestrado com uma tranquilidade que muitos não podem ter. Esta conquista também é fruto do seu esforço. À minha mãe, Patrícia, minha rainha. Obrigada por me defender com a ferocidade de uma leoa, por aguentar minhas crises de choro e por ficar acordada comigo, mesmo com sono, só para me fazer companhia. Você lamenta por não poder fazer mais, mas a verdade é que você já faz TUDO. É a mulher mais forte que conheço e eu te amo "do tamanho do mundo inteiro e muito mais". Ao meu pai, Valter, meu grande herói e porto seguro. Não há palavras que descrevam o amor contido em cada gesto seu: por me levar e buscar no laboratório, tarde da noite, mesmo cansado; por esperar pacientemente eu terminar minhas análises; e, especialmente, por aquele cuscuz com requeijão e ovo de gema mole, o mais puro gesto de cuidado nas manhãs em que eu virava a noite trabalhando. Eu o amo de paixão. Aos meus padrinhos, meu tio Júnior e minha tia Mônica. Tia, me enche de orgulho vê-la se dedicar ao seu próprio mestrado, e mal sabe você que a minha admiração é ainda maior. Tio, sou grata por cada carona para a UFPE, que se transformavam em momentos valiosos de escuta e incentivo. Obrigada pela sua constante torcida.

Ao meu noivo e melhor amigo, Julio. Você é o meu presente e meu futuro. Obrigada por ser esse pilar, por tornar a vida mais leve e infinitamente mais feliz. Guardo com carinho os momentos em que trabalhamos juntos no Discord, transformando a distância em companhia. Sua força me ajudou a não fraquejar, seu cuidado sempre me protegeu e sua parceria me inspira a ser uma pessoa melhor. É um presente maravilhoso crescer ao seu lado desde os tempos de escola, sonhando e nos esforçando juntos para construir a nossa vida. Você é a minha metade, e passarei o resto dos meus dias tentando demonstrar a imensidão do meu amor por você. Essa gratidão se estende à sua família, que também se tornou a minha. À minha

sogra, Maria José, e cunhada, Juliana, meu muito obrigada por me acolherem e me terem como parte da família desde sempre, sendo meu outro porto seguro.

Ao meu orientador, Prof. Jeymesson, a quem devo a conclusão deste ciclo. Acredito que nosso encontro foi traçado pelo destino. Dez anos após ser sua monitora e ser inspirada a ensinar, a vida me trouxe de volta aos seus cuidados. Foi um acaso que me levou a uma mensagem e ao seu convite, e eu não me arrependo de um único segundo. Não poderia ter tido um orientador melhor: mais humano, compreensivo e paciente. O respeito e a generosidade com que sempre me tratou me ajudaram a acreditar que sou, sim, capaz e merecedora. Sua orientação foi tão profunda que me ensinou a acolher, com gratidão, cada bênção e oportunidade que surgiram em meu caminho, fossem elas de natureza material ou de crescimento pessoal. Nos momentos mais difíceis, você nunca largou minha mão nem me deixou desistir. Por tudo isso, e por ter me guiado com maestria pela selva da ciência, minha eterna gratidão.

Minha jornada foi enriquecida por pessoas e lugares que se tornaram meu lar. O Departamento de Histologia e Embriologia (DHE) foi o principal deles, um lugar que me acolheu de tal forma que prometo voltar em breve. Agradeço imensamente pelas amizades que construí com Karla, Larissa, Leandro e Gabriela. Obrigada por dividirem suas dores e por me permitirem dividir as minhas. Nossos almoços e as longas noites no laboratório são memórias que guardarei para sempre. Um agradecimento especial vai para Dona Ceiça, a pessoa mais querida do departamento, que cuida de tudo e de todos com maestria e um gostar sincero que conforta a alma.

Aos meus companheiros de mestrado, Lucas, Amanda e Wesley. Desde a seleção, vocês foram cruciais. Amei cada conversa, fofoca e momento de foco que compartilhamos. Entramos juntos e celebramos o fim desta fase unidos, e saibam que sempre estarei na torcida pelo sucesso de cada um. Neste mesmo ambiente, minha gratidão à Professora Luciana, que nunca se esqueceu de mim em dez anos, e aos meus queridos alunos do estágio docência, que confirmaram em mim a certeza de que nasci para a sala de aula.

Minha gratidão se estende a laboratórios que se tornaram verdadeiros pilares desta pesquisa. No Departamento de Fisiologia e Farmacologia (DFF), encontrei um apoio indispensável. Aos meus coorientadores, Prof. Eduardo e Dra. Luzia, sou imensamente grata pela orientação segura durante a delicada e desafiadora fase experimental com os animais — uma etapa que, de forma inesperada, me fez criar um carinho tão grande por eles. À Professora Silvana, obrigada por me ensinar a arte da

histologia com um ar leve e divertido que tornava tudo mais simples, e, claro, pelos doces feitos à mão que aqueciam o coração; aquela queijadinha recém-saída do forno é uma memória que guardarei para sempre. Um agradecimento especial e profundo aos queridos Ângela, a maior dominadora de ratos da UFPE, e Madson, o rei dos ratos Black. A disponibilidade, a paciência e a ajuda de vocês foram muito além de qualquer obrigação, e afirmo com toda a certeza: sem vocês, esta pesquisa não teria sido possível.

Da mesma forma, agradeço de todo o coração ao time do BSTR, que me abriu suas portas e me fez sentir em casa. Foi um lugar onde a gentileza se manifestava nos detalhes que fizeram toda a diferença: da inclusão na cota do café ao empréstimo de uma simples fita durex, tudo era um reflexo de um ambiente de colaboração genuína. Agradeço especialmente ao Prof. Severino (ou melhor, Júnior), pela confiança, e ao MSc. Yuri, que com uma paciência ímpar me ensinou tudo o que eu precisava para desenvolver minhas formulações, indo além ao até mesmo baixar os programas em meu computador que eu nem sabia que precisaria usar. A todos do laboratório, obrigada pelo acolhimento e pela parceria que foram fundamentais para meu crescimento.

Esta dissertação é, também, um testemunho de superação. A vida impõe desafios que testam nossos limites, e um dos mais duros para mim foi quando, em plena fase experimental, uma queda resultou em dois dedos quebrados, uma cirurgia e um longo e doloroso processo de reabilitação. Tive que reaprender a escrever, e convivo com as dores até hoje. Por isso, sou imensamente grata ao Dr. Milton, pela cirurgia bem-sucedida, e à minha fisioterapeuta, Camila, que com sua competência e apoio se tornou uma confidente que cuida de mim em todos os aspectos da vida. Um agradecimento especial se estende aos meus pais e ao meu noivo, que me ampararam nos detalhes mais simples da recuperação — e a você, Julio, obrigada pela paciência para que eu pudesse finalmente voltar a usar nossa aliança. Nesse período, um grupo de anjos se tornou, literalmente, minhas mãos. Aos alunos, mestrandos e doutorandos que assumiram minhas tarefas no laboratório, saibam que este trabalho simplesmente não existiria sem a generosidade de vocês.

Além das batalhas físicas, houve as emocionais. A Ícaro, minha gratidão por ter sido um farol na reta final. Quando eu lidava com o peso de adversidades profundas que tentaram abalar minha confiança, sua bondade, coleguismo e sabedoria me mostraram o caminho para me blindar, me reerguer e terminar esta fase

com a cabeça erguida. Sua ajuda foi um presente que levarei para a vida. E à querida Luana, obrigada por ser meu apoio diário, por cuidar de mim com tanto carinho, por me escutar pacientemente, mesmo durante o trabalho, e, sobretudo, por sempre orar por mim. Sua amizade e suporte foram essenciais.

Por fim, agradeço àqueles que são meu porto seguro fora da universidade: meus amigos da vida. Obrigada por estarem sempre ao meu lado, por sentirem minhas alegrias, raivas e tristezas como se fossem suas, e por me lembrarem que a vida é muito mais do que o mestrado. Vocês me proporcionam a leveza das risadas, dos momentos divertidos e das conversas que curam a alma. A segurança de saber que tenho vocês para onde voltar é um alicerce que me permite ousar, cair e levantar quantas vezes for preciso. Vocês são minha família escolhida.

## RESUMO

Retalhos cutâneos são amplamente utilizados em cirurgias plásticas e reconstrutivas. Contudo, a perfusão sanguínea inadequada durante a mobilização do retalho pode desencadear em um processo de isquemia que pode levar à necrose tecidual na ausência de manejo eficaz do processo inflamatório. Nesse contexto, a busca por novas estratégias biocompatíveis para assegurar a viabilidade de retalhos cutâneos isquêmicos (RCIs) permanece necessária. Portanto, este estudo avaliou novas formulações de hidrogel de alginato (ALGgel) e ZIF-8 (do inglês: *Zeolite Imidazolate Framework-8*) (ALG-ZIF-8) com extrato de *Rhizophora mangle* (*R. mangle*) e ácido tânico (AT) para verificar seu potencial na prevenção da necrose em RCIs. Vinte e dois ratos Wistar machos foram submetidos à confecção cirúrgica de RCI e divididos em quatro grupos: salina 0,9% (controle negativo - CNeg), placebo ALGgel (pALGgel), ALG-ZIF-8 com AT 5% (ALGzAT) e, por fim, ALG-ZIF-8 com *R. mangle* 5% (ALGzRm). Os desfechos dos retalhos foram avaliados através de análise morfométrica das áreas viável e necrótica, e análise histomorfométrica de fibroblastos, vasos sanguíneos e leucócitos, utilizando os softwares *ImageJ* e *PrimeCam 5.1*. A análise estatística foi realizada com o software IBM SPSS (versão 27). Os resultados sugerem que as formulações produziram desfechos divergentes ao modular diferencialmente as respostas inflamatória e angiogênica. A formulação ALGzRm tendeu a apresentar um perfil protetor, associado a uma redução significativa na infiltração leucocitária ( $p < 0,001$ ), enquanto a formulação ALGzAT esteve ligada a uma resposta deletéria, incluindo inflamação exacerbada e uma contagem patologicamente alta de vasos sanguíneos ( $p = 0,015$ ). Em conclusão, os achados sugerem que a formulação ALGzRm tem potencial para o reparo tecidual, mediado pela modulação das respostas inflamatória e angiogênica.

**Palavras-chave:** Biomateriais; Retalhos Cirúrgicos; *Rhizophora mangle*; Taninos; Estruturas Metalorgânicas; Alginato; Hidrogéis.

## ABSTRACT

Skin flaps are widely used in plastic and reconstructive surgery. However, inadequate blood perfusion during flap mobilization can trigger an ischemic process that may lead to tissue necrosis in the absence of effective management of the inflammatory process. In this context, the search for new biocompatible strategies to ensure the viability of ischemic skin flaps (ISFs) remains necessary. Therefore, this study evaluated novel alginate-ZIF-8 (ALG-ZIF-8) hydrogel formulations with *Rhizophora mangle* (*R. mangle*) extract and tannic acid (TA) to assess their potential in preventing necrosis in ISFs. Twenty-two male Wistar rats underwent the surgical creation of an ISF and were divided into four groups: 0.9% saline (negative control - NegC), placebo alginate hydrogel (pALGgel), ALG-ZIF-8 with 5% TA (ALGzTA), and finally, ALG-ZIF-8 with 5% *R. mangle* (ALGzRm). Flap outcomes were evaluated through morphometric analysis of viable and necrotic areas, and histomorphometric analysis of fibroblasts, blood vessels, and leukocytes, using ImageJ and PrimeCam 5.1 software. Statistical analysis was performed using IBM SPSS software (version 27). The results suggest that the formulations produced divergent outcomes by differentially modulating inflammatory and angiogenic responses. The ALGzRm formulation tended to show a protective profile, associated with a significant reduction in leukocyte infiltration ( $p < 0.001$ ), while the ALGzTA formulation was linked to a detrimental response, including exacerbated inflammation and a pathologically high blood vessel count ( $p = 0.015$ ). In conclusion, the findings suggest that the ALGzRm formulation has potential for tissue repair, mediated by the modulation of inflammatory and angiogenic responses.

**Keywords:** Biocompatible Materials; Pedicled Flaps; *Rhizophora mangle*; Tannins; Metal-Organic Frameworks; Alginates; Hydrogels.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| Figura 1 –  | Camadas da pele.   | 20 |
| Figura 2 –  | Tipos de retalho cutâneo.  | 22 |
| Figura 3 –  | Mecanismo da lesão por isquemia/reperfusão.  | 24 |
| Figura 4 –  | Fisiologia dos retalhos cutâneos em paralelo à fisiopatologia dos retalhos cutâneos isquêmicos e intervenções pesquisadas na tentativa de prevenir necrose (representadas em laranja). | 25 |
| Figura 5 –  | Vários mecanismos envolvidos em pré e pós-condicionamento farmacológico.   | 26 |
| Figura 6 –  | Classificação de hidrogéis dependendo de diferentes propriedades.  | 30 |
| Figura 7 –  | Estrutura molecular básica do ALG e estruturas químicas de grupos G, grupos M e grupos alternados em alginato.   | 31 |
| Figura 8 –  | Perfil fitoquímico qualitativo dos extratos aquosos das folhas, caule e raiz da <i>R. mangle</i> L.  | 33 |
| Figura 9 –  | Estrutura molecular do ácido tântico.  | 35 |
| Figura 10 – | Representações de MOFs com estruturas relativamente estáveis.  | 37 |
| Figura 11 – | Fluxograma experimental.   | 39 |
| Figura 12 – | Camadas histológicas de pele de rato.  | 42 |
| Quadro 1 –  | Grupos experimentais com seus respectivos tratamentos administrados e número final (n) de animais por grupo.   | 45 |
| Figura 13 – | Formulações de hidrogel obtidas.   | 47 |
| Figura 14 – | Análise macroscópica dos retalhos dos animais (um exemplar por grupo).   | 48 |
| Figura 15 – | Exemplar do grupo G4 (ALGzRm) em que o retalho permaneceu totalmente viável, com ausência de necrose.  | 49 |
| Gráfico 1 – | Médias dos percentuais das áreas viável e necrosada em relação à área total, por grupo experimental.   | 50 |
| Figura 16 – | Campos histológicos representando os grupos experimentais (ampliados em 20x e corados em HE).  | 51 |

|             |   |    |
|-------------|---|----|
| Gráfico 2 – | Média do número de fibroblastos por grupo experimental.     | 53 |
| Gráfico 3 – | Média do número de vasos sanguíneos por grupo experimental. | 54 |
| Gráfico 4 – | Média do número de leucócitos por grupo experimental.       | 54 |

## **LISTA DE TABELAS**

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Tabela 1 – | Estatística descritiva da porcentagem da área viável/total e da área necrosada/total, para cada grupo experimental. | 49 |
| Tabela 2 – | Estatísticas da contagem de fibroblastos, vasos sanguíneos e leucócitos por campo, para cada grupo experimental.    | 52 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-MeIM – 2-metilimidazol

ALG – Alginato

ALGgel – Hidrogel de alginato

ALGzAT – Grupo hidrogel de alginato e ZIF-8 + Ácido tânico 5%

ALGzRm – Grupo hidrogel de alginato e ZIF-8 + *Rhizophora mangle* 5%

ALG-ZIF-8 – Hidrogel de alginato e ZIF-8

AT – Ácido tânico

BSTR – Laboratório de Terras Raras

CB – Centro de Biociências

CCEN – Centro de Ciências Exatas e da Natureza

CEUA – Comissão de Ética no uso de Animais

CNeg – Grupo controle negativo

DDS – *Drug delivery system*

DFF – Departamento de Fisiologia e Farmacologia

DHE – Departamento de Histologia e Embriologia

DP – Desvio padrão

DQF – Departamento de Química Fundamental

EDC – 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

Lab Morfotec – Laboratório de Morfotecnologia

MOF – *Metal-Organic Frameworks*

NHS – N-hidroxisuccinimida

ON – Óxido Nítrico

P25 – Percentis 25

P75 – Percentis 75

pALGgel – Grupo placebo

PCP – *Porous coordination polymers*

PPGM – Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia

*R. mangle* – *Rhizophora mangle*

RCI – Retalho Cutâneo Isquêmico

ROS – *Reactive oxygen species*

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

ZIF – *Zeolite Imidazolate Framework*

ZIF-8 – *Zeolite Imidazolate Framework-8*

$Zn^{2+}$  – Íon de zinco

## SUMÁRIO

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO</b>  | <b>18</b> |
| <b>2</b>     | <b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>   | <b>20</b> |
| 2.1          | PELE   | 20        |
| <b>2.1.1</b> | <b>Retalhos cutâneos</b>   | <b>22</b> |
| 2.2          | NECROSE TECIDUAL DE RETALHOS CUTÂNEOS<br>ISQUÊMICOS                                      | 23        |
| <b>2.2.1</b> | <b>Substâncias estudadas na prevenção de necrose em<br/>retalhos cutâneos isquêmicos</b> | <b>25</b> |
| 2.3          | SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA   | 27        |
| 2.4          | BIOMATERIAIS E PRODUTOS NATURAIS   | 27        |
| <b>2.4.1</b> | <b>Polímeros naturais</b>  | <b>28</b> |
| 2.5          | HIDROGÉIS  | 29        |
| <b>2.5.1</b> | <b>Alginato de sódio</b>   | <b>30</b> |
| 2.6          | <i>Rhizophora mangle</i>   | 32        |
| 2.7          | ÁCIDO TÂNICO   | 34        |
| 2.8          | REDES METALORGÂNICAS   | 35        |
| <b>2.8.1</b> | <b>ZIF-8</b>   | <b>37</b> |
| <b>3</b>     | <b>OBJETIVOS</b>   | <b>38</b> |
| 3.1          | OBJETIVO GERAL   | 38        |
| 3.2          | OBJETIVOS ESPECÍFICOS  | 38        |
| <b>4</b>     | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>   | <b>39</b> |
| 4.1          | DESENHO DO ESTUDO  | 39        |
| 4.2          | EXPERIMENTO REALIZADO  | 39        |
| 4.3          | LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO  | 40        |
| 4.4          | MATERIAIS DE PESQUISA  | 40        |
| <b>4.4.1</b> | <b>Animais experimentais</b>   | <b>40</b> |
| 4.4.1.1      | Aspectos éticos  | 41        |
| 4.4.1.2      | Procedimento cirúrgico   | 41        |
| <b>4.4.2</b> | <b>Biomateriais e produtos naturais</b>  | <b>42</b> |
| 4.4.2.1      | Coleta do material vegetal   | 42        |
| 4.4.2.2      | Obtenção do extrato aquoso de folhas de <i>R. mangle</i>                                 | 42        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 4.4.2.3  | Ácido Tânico   | 43        |
| 4.4.2.4  | ZIF-8  | 43        |
| 4.4.2.5  | ALGgel   | 44        |
| 4.4.2.6  | ALG-ZIF-8 com AT 5%                                      | 44        |
| 4.4.2.7  | ALG-ZIF-8 com <i>R. mangle</i> 5%                        | 44        |
| 4.5      | DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS                         | 45        |
| 4.6      | ANÁLISES MORFOMÉTRICA E HISTOMORFOMÉTRICA                | 45        |
| 4.7      | ANÁLISE ESTATÍSTICA                                      | 46        |
| <b>5</b> | <b>RESULTADOS</b>  | <b>47</b> |
| 5.1      | OBTENÇÃO DOS HIDROGÉIS                                   | 47        |
| 5.2      | ANÁLISE MORFOMÉTRICA                                     | 48        |
| 5.3      | ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA                                | 51        |
| <b>6</b> | <b>DISCUSSÃO</b>   | <b>55</b> |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSÃO</b>   | <b>61</b> |
|          | <b>REFERÊNCIAS</b>                                       | <b>62</b> |
|          | <b>ANEXO A – CARTA DE ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA</b>      | <b>73</b> |
|          | <b>ANEXO B – AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES CIENTÍFICAS</b> | <b>74</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano, em peso e área de superfície (Casey, 2002; Alves, 2015), composta principalmente pela epiderme e a derme (Moore; Dalley; Agur, 2019). Abaixo da derme encontra-se a hipoderme, um tecido subcutâneo que consiste em sua maioria por almofadas de tecido adiposo (Arda; Göksügür; Tüzün, 2014). Nesse contexto, os retalhos cutâneos são segmentos de pele transferidos de uma região doadora para uma região receptora, mantendo seu suprimento sanguíneo necessário por meio de um pedículo, garantindo a sobrevivência do retalho (Silva, 2020; Oliveira *et al.*, 2023b). Esse procedimento é constantemente utilizado em cirurgias plásticas e de reconstrução (Duarte; Gomes; Ferreira, 1998; Oliveira, 2018). Contudo, ocorrências podem ser observadas durante a transferência desses retalhos, destacando-se a falta de perfusão sanguínea e a subsequente isquemia, caracterizando o chamado Retalho Cutâneo Isquêmico (RCI). A falta de um manejo efetivo desse processo inflamatório pode resultar em necrose tecidual (Pu *et al.*, 2017; Oliveira, 2018). Assim, a manutenção da irrigação sanguínea é um fator essencial para assegurar a viabilidade e sobrevivência dos RCIs (Silva, 2020). Apesar das amplas pesquisas existentes, ainda se fazem necessárias novas abordagens biocompatíveis (Gözü *et al.*, 2010; Silva, 2020).

Como resposta a essa demanda, o uso de biomateriais surge como uma alternativa promissora. De acordo com Williams (2009), o biomaterial é “uma substância projetada para assumir uma forma que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, por meio do controle de interações com componentes de sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico, na medicina humana ou veterinária”. Entre suas diversas aplicações, destacam-se os sistemas de carreamento de fármacos e proteínas, bem como o auxílio na cicatrização de feridas, implantes de raiz dentária, substituição de articulações, entre outras. (Hasirci; Hasirci, 2018; Bharadwaj, 2021). Nesse contexto, um exemplo de produto natural que pode atuar como princípio ativo de biomateriais é o extrato de *Rhizophora mangle* (*R. mangle*, ou mangue-vermelho), uma planta subtropical e tropical cuja vegetação é a mais abundante do manguezal brasileiro (Araújo, 2015; Sá *et al.*, 2023). *R. mangle* tem sido amplamente utilizada na medicina popular, por suas propriedades farmacológicas atribuídas aos compostos nela existentes, dentre eles: taninos e flavonoides, dois polifenóis (Lima *et al.*, 2021).

Juntos, estes compostos podem conferir para *R. mangle* as ações anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e antibacteriana (Ferreira *et al.*, 2011; Jing *et al.*, 2022), além de regular a regeneração tecidual através da angiogênese e aumento da proliferação de fibroblastos (Oliveira, 2018; Marinho, 2018). Dentre os compostos polifenólicos presentes na planta, o ácido tânico (AT) é o tanino hidrolisável de estrutura mais simples (Brandão *et al.*, 2008; Jing *et al.*, 2022). O AT é conhecido por possuir propriedades químicas e capacidades funcionais benéficas, incluindo biocompatibilidade (Chen *et al.*, 2022), propriedades curativas, entre outras. (Marinho, 2018; Chen *et al.*, 2019).

Paralelamente, os hidrogéis têm ganhado destaque em aplicações biomédicas, consistindo em redes tridimensionais poliméricas (naturais ou sintéticas), sendo materiais flexíveis, reticulados e hidrofílicos ou anfifílicos, capazes de reter grandes quantidades de água ou fluidos biológicos (Ullah *et al.*, 2015; Hasirci; Hasirci, 2018). Segundo Laftah; Hashim e Ibrahim (2011), hidrogéis são notavelmente versáteis, sendo frequentemente estudados e utilizados especialmente como sistemas de liberação controlada (Li; Mooney, 2016). O alginato de sódio (ALG) é um exemplo de biopolímero aniónico linear utilizado comumente na forma de hidrogel (ALGgel) (Oliveira *et al.*, 2023b), sendo bastante analisado na literatura por possuir propriedades relevantes como biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e moldabilidade (Neves, 2019). Outros sistemas de liberação controlada em destaque são redes metalorgânicas (MOFs – do inglês: *Metal-Organic Frameworks*), materiais porosos com uma estrutura cristalina tridimensional híbrida formada por íons metálicos como conectores e moléculas orgânicas como ligantes (Cunha, 2009; Tanaka *et al.*, 2024). ZIFs (*Zeolite Imidazolate Frameworks*) são uma subcategoria de MOFs compostas por íons de zinco e imidazolatos (Tian; Yao; Zhu, 2017; Silva; 2019). Uma dessas MOFs é ZIF-8 (do inglês: *Zeolite Imidazolate Framework-8*), amplamente considerado em aplicações biomédicas como um sistema carreador de fármacos (DDSs – *drug delivery systems*), conforme Vasconcelos *et al.* (2012) e Kaur *et al.* (2017).

Os biomateriais e produtos naturais *R. mangle*, AT, ALGgel e ZIF-8 apresentam propriedades que podem contribuir para a prevenção da necrose em RCIs, por meio de efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e de liberação controlada de fármacos. Portanto, espera-se que formulações de ALGgel e ZIF-8 com extrato de *R. mangle* ou AT possam prevenir necrose tecidual de retalhos cutâneos isquêmicos em ratos.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 PELE

O maior órgão do corpo humano é a pele, em peso e área de superfície (Casey, 2002; Alves, 2015), cobrindo uma área de 1,7 m<sup>2</sup> e representando cerca de 15-16% de seu peso total (Zaidi; Lanigan, 2010). Segundo Moore, Dalley e Agur (2019) a pele é composta pela epiderme e pela derme; uma camada epitelial avascular externa, seguida de uma camada profunda composta principalmente por tecido conjuntivo. Por fim, abaixo da derme encontra-se ainda um tecido subcutâneo chamado de hipoderme (Figura 1) (Casey, 2002; Arda; Göksügür; Tüzün, 2014). A pele pode ser distinguida entre fina e espessa, a depender da sua espessura e complexidade, as quais variam de acordo com a região do corpo onde se encontra, como nas regiões palmar e plantar (Silva, 2020). Além de sua atuação primária como barreira de proteção contra o ambiente externo, a pele desempenha diversas funções vitais: protege o organismo contra radiação ultravioleta, desidratação e atrito, regula a temperatura corporal, possui células de defesa imunológica, contém terminações nervosas sensoriais para estímulos táteis, atua na sustentação de órgãos subjacentes, e outras (Casey, 2002; Junqueira; Carneiro, 2013).

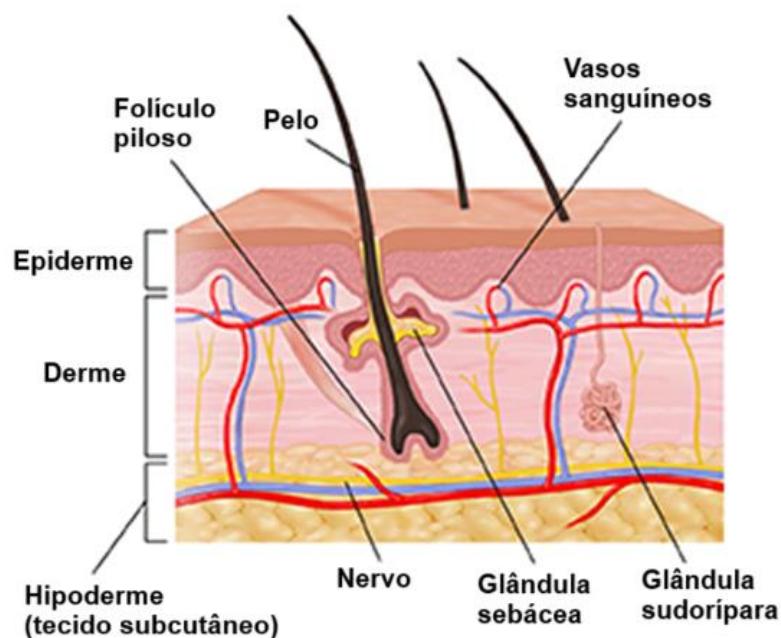


Figura 1 – Camadas da pele. Fonte: Traduzido de Johns Hopkins Medicine (2024).

A epiderme é a camada mais externa da pele, sendo composta por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, em que as células são achatadas e organizadas justapostas formando camadas. Existem 5 camadas principais da epiderme, da mais profunda à mais superficial: basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (Alves, 2015; Silva, 2020). As células mais abundantes da epiderme são os queratinócitos, além de comportar melanócitos, células de Merkel e de Langerhans. Por outro lado, a epiderme é avascular, ou seja, não possui vasos sanguíneos em sua composição tecidual (Zaidi; Lanigan, 2010). No que se refere a espessura, a epiderme pode ser fina ou espessa. A pele fina possui menos camadas, podendo até ter as camadas granulosa e lúcida ausentes e a camada córnea muito reduzida, enquanto a camada lúcida é mais evidente na pele espessa (Junqueira; Carneiro, 2013).

A derme é a camada mais extensa da pele, constituída por um tecido conjuntivo vascularizado e enervado, sendo dividido em duas regiões sem um limite definido entre elas: a camada papilar, que é a mais superficial, sendo assim mais próxima da epiderme; e a camada reticular, mais profunda e próxima da hipoderme (Casey, 2002; Zaidi; Lanigan, 2010). A camada papilar é formada por um tecido conjuntivo frouxo que se projeta em direção à derme formando papilas dérmicas, contribuindo para troca de nutrientes e oxigênio entre os tecidos. Já a camada reticular é um tecido conjuntivo denso composto por fibras de colágeno e elastina, além de anexos da epiderme (como folículos pilosos e glândulas sebáceas). As principais células da derme são os fibroblastos, responsáveis por produzir as fibras colágenas e elásticas, além da substância fundamental amorfa. Ademais, a derme é composta por fibrócitos, macrófagos e mastócitos (Junqueira; Carneiro, 2013; Arda; Göksügür; Tüzün, 2014; Alves, 2015; Silva, 2020).

A hipoderme, ou tecido subcutâneo, é camada mais profunda da pele, que corresponde a um tecido conjuntivo frouxo composto predominantemente por almofadas de tecido adiposo, anexadas ao periosteio ou à fáscia profunda (ou fáscia muscular adjacente (Arda; Göksügür; Tüzün, 2014; Silva, 2020). A quantidade de tecido adiposo na hipoderme também varia de acordo com a localização do corpo. Além disso, é por ela onde passam todos os nervos e vasos sanguíneos que irrigam toda a pele (Casey, 2002; Junqueira; Carneiro, 2013).

A circulação cutânea tem função nutricional e de regulação térmica. O fluxo sanguíneo depende da pressão arteriolar, e as arteríolas funcionam como esfíncteres que regulam o fluxo em cada rede vascular (Goding; Hom, 2016). A pele possui dois

plexos vasculares: o profundo, ou subdérmico, situado na junção da derme com o tecido adiposo da hipoderme; e o superficial, encontrado na porção reticular da derme (Gaboriau; Murakami, 2001).

### 2.1.1 Retalhos cutâneos

Retalhos cutâneos são segmentos de pele transferidos de uma região doadora para uma região receptora, mantendo seu suprimento sanguíneo necessário por meio de uma porção tecidual conectada temporária ou definitivamente ao tecido de origem (o pedículo), garantindo a sobrevivência do retalho (Silva, 2020; Oliveira *et al.*, 2023b). O retalho cutâneo é um procedimento constantemente utilizado em cirurgias plásticas e de reconstrução (Duarte; Gomes; Ferreira, 1998; Oliveira, 2018).

Existem quatro tipos de retalhos cutâneos classificados de acordo com o suprimento vascular: randômicos ou aleatórios, axiais, fasciocutâneos e musculocutâneos (Figura 2).

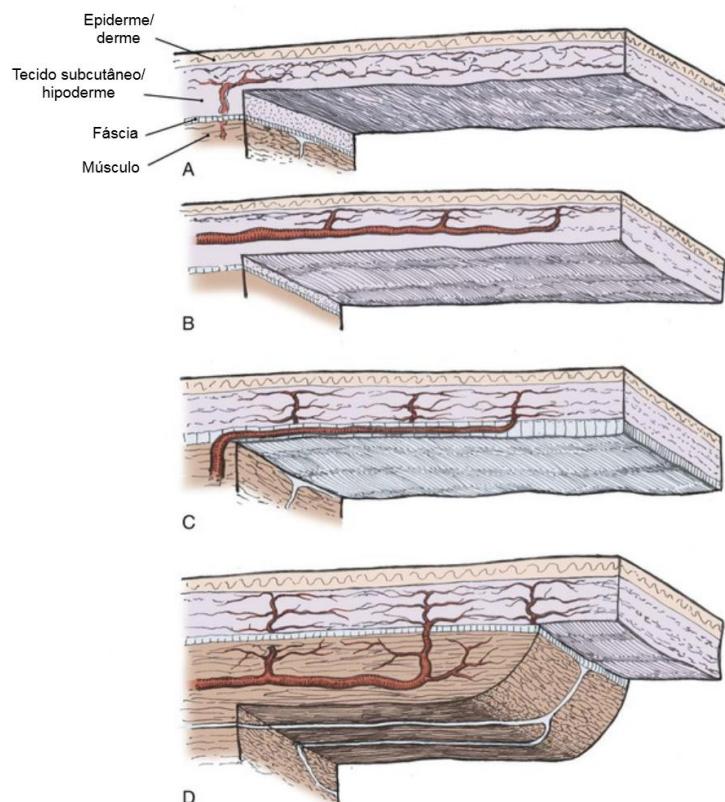


Figura 2 – Tipos de retalho cutâneo: a. Randômico ou aleatório. b. Axial. c. Fasciocutâneo. d. Musculocutâneo. Fonte: Adaptado de Goding; Hom (2016).

## 2.2 NECROSE TECIDUAL DE RETALHOS CUTÂNEOS ISQUÊMICOS

Durante a transferência de um retalho, é comum que ocorra o comprometimento do fluxo sanguíneo, levando à isquemia, condição na qual o retalho passa a ser denominado de RCI. A necrose tecidual da porção distal de RCIs é a complicaçāo cirúrgica mais frequente na cirurgia reconstrutiva, observada quando o processo isquêmico não é tratado (Pu *et al.*, 2017; Oliveira, 2018; Silva, 2020). A pressão da perfusão sanguínea originária do pedículo diminui à medida que a distância entre a base e a extremidade oposta do retalho aumenta (Gaboriau; Murakami, 2001; Honrado; Murakami, 2005; Lucas, 2017).

A confecção de um retalho cutâneo desencadeia vários fenômenos bioquímicos e microvasculares durante a cirurgia; incluindo efeitos neurovasculares, resposta inflamatória e ação de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês: *reactive oxygen species*); os quais são promovidos durante a isquemia, a qual pode evoluir para a necrose dos RCIs (Duarte; Gomes; Ferreira, 1998; Oliveira *et al.*, 2023b; Silva *et al.*, 2022). Este conjunto de fenômenos é descrito por Afrooghe *et al.* (2023) como lesão por isquemia/reperfusão (Figura 3), além de vários outros prováveis fatores, como desativação das bombas de sódio/potássio, congestão venosa por trombose dos vasos, etc. (Atalay *et al.*, 2003). Portanto, o design do retalho, o cuidado na confecção correta do retalho durante a cirurgia, e o bom entendimento dos fenômenos desencadeados com o procedimento são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias e intervenções capazes de evitar a necrose tecidual de RCIs (Silva, 2020; Oliveira, 2018; Oliveira *et al.*, 2023b).

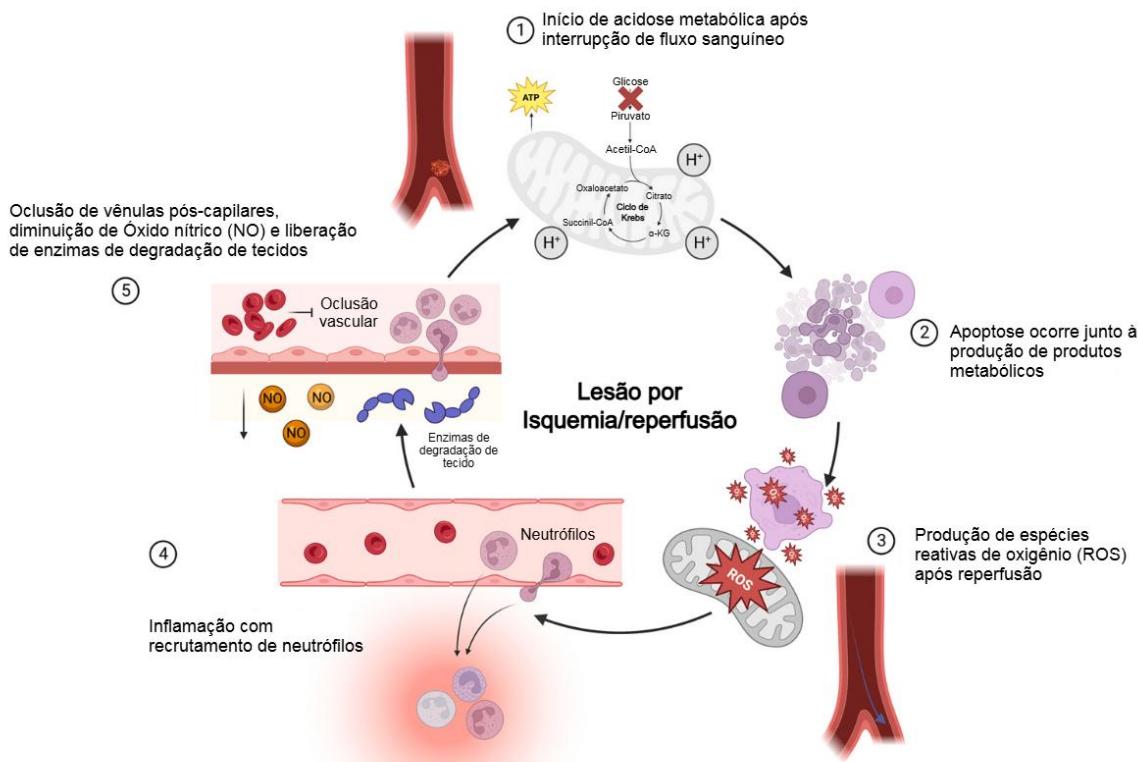


Figura 3 – Mecanismo da lesão por isquemia/reperfusão. Fonte: Adaptado de Afrooghe *et al.* (2023).

Ainda de acordo com Oliveira *et al.* (2023b) e Silva (2020), a manutenção da irrigação sanguínea é um fator essencial na sobrevivência dos RCIs. A perfusão do retalho depende de múltiplos fatores, como tensão aplicada, edema e a integridade do fluxo vindo do pedículo (Ibrahim *et al.*, 2014). Em condições favoráveis, o fluxo sanguíneo é restabelecido, levando à reoxigenação e viabilidade do retalho (Oliveira *et al.*, 2023b). Além de tratamentos angiogênicos, podem-se observar diferentes intervenções pesquisadas na literatura com o objetivo de preservar a viabilidade dos retalhos cutâneos (Figura 4). Entretanto, apesar das amplas pesquisas, novas abordagens biocompatíveis e biodegradáveis (entre outras propriedades descritas neste trabalho) permanecem sendo necessárias (Gözü *et al.*, 2010; Silva, 2020).

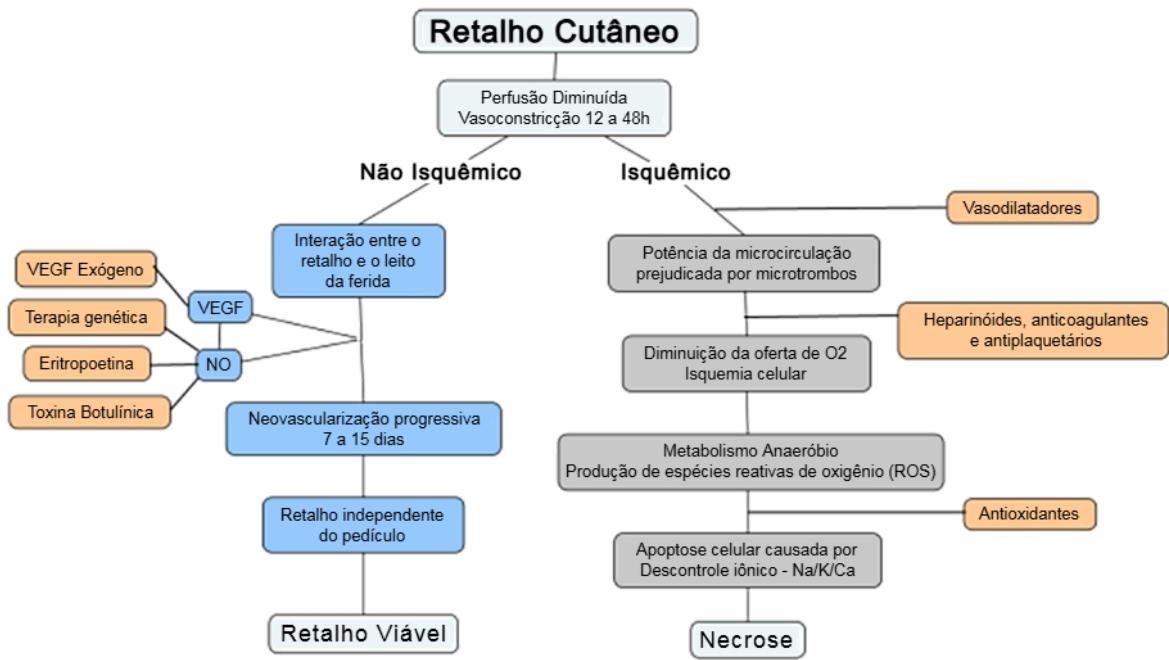


Figura 4 – Fisiologia dos retalhos cutâneos em paralelo à fisiopatologia dos retalhos cutâneos isquêmicos e intervenções pesquisadas na tentativa de prevenir necrose (representadas em laranja).

Fonte: Adaptado de Oliveira *et al.* (2023b).

### 2.2.1 Substâncias estudadas na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos

Afrooghe *et al.* (2023) apresentou um apanhado de abordagens cirúrgicas e farmacológicas, mostrando mecanismos reconhecidos na literatura relacionados com a sobrevivência de RCIs, bem como exemplos de fármacos que atuam por meio desses mecanismos, sendo estes pré ou pós-condicionamento (Figura 5).

Dentre os mecanismos apresentados no estudo de Afrooghe *et al.* (2023), é válido destacar o Óxido nítrico (ON) e terapias celulares que promovem angiogênese. Foi concluído que L-arginina, aminoácido precursor de ON, pode auxiliar na proteção do retalho da lesão por isquemia/reperfusão mediada por neutrófilos, realizando a sinalização de ON que também pode estimular vasodilatação (Cordeiro *et al.*, 1997). Estatinas também demonstraram potencial estimulador de ON, capazes de promover angiogênese, bem como atividade vasodilatadora, anti-inflamatória e antioxidante (Barati; Zandi; Asadi, 2021; Lin *et al.*, 2019a). Outros estudos exploram a influência da autofagia – um método celular de reciclagem de componentes do citosol e de organelas – na angiogênese (Afrooghe *et al.*, 2023). Por exemplo, foi mostrado que

resveratrol atua na conservação de retalhos por autofagia, angiogênese, além de inibição do estresse oxidativo e da apoptose (Lin *et al.*, 2019b). Conforme Oliveira *et al.* (2023b), estudos anteriores investigaram o uso de vasodilatadores, como a nitroglicerina, para auxiliar na viabilidade de RCIs (Atalay *et al.*, 2003; Gdalevitch *et al.*, 2015). Da mesma forma, foi estudado a ação de anticoagulantes (Törkvist *et al.*, 2004) e sequestradores de ROS (Schein; Westreich; Shalom, 2012) na proteção de retalhos cutâneos.

Entretanto, nenhum desses estudos foram aceitos globalmente para seu uso rotineiro em cirurgias de retalhos cutâneos (Oliveira *et al.*, 2023b), e em sua maioria realizados em ensaios pré-clínicos, com animais (Afrooghe *et al.*, 2023), ocasionando na falta de padronização nos mecanismos e abordagens utilizados para este fim.

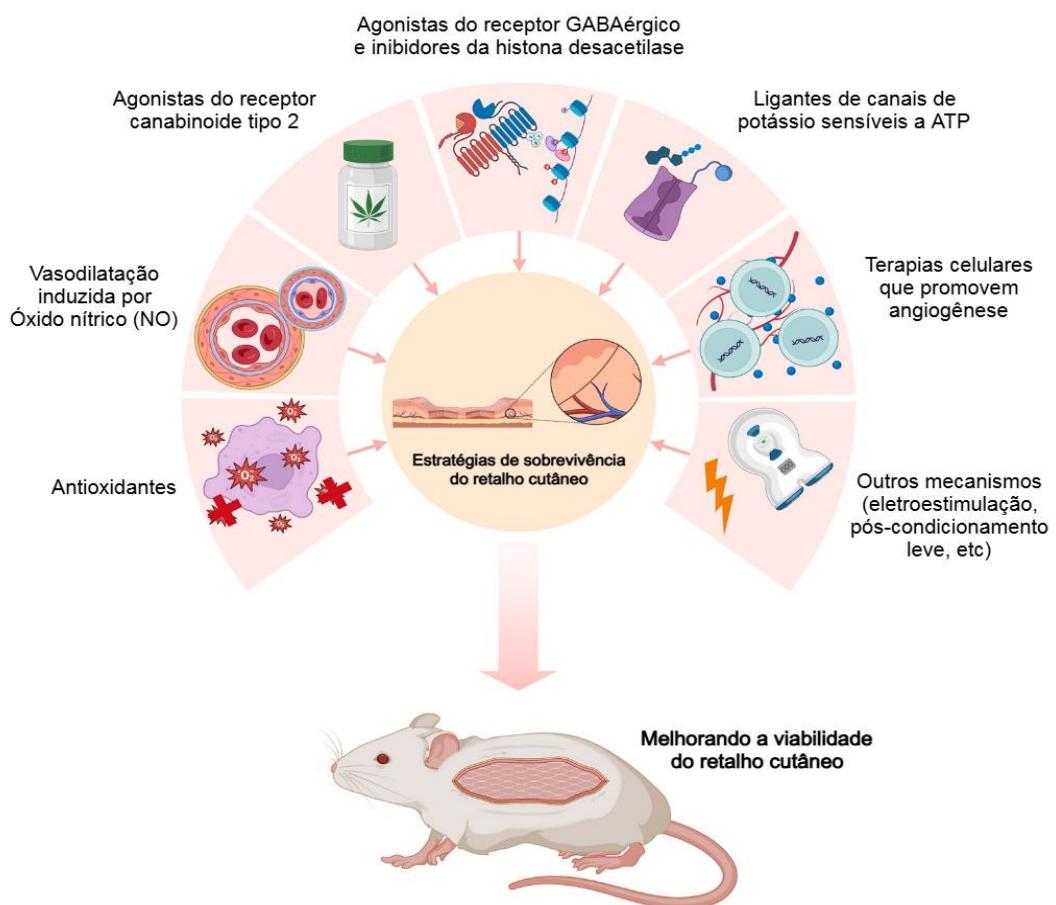


Figura 5 – Vários mecanismos envolvidos em pré e pós-condicionamento farmacológico.

Fonte: Adaptado de Afrooghe *et al.* (2023).

## 2.3 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA

Para que o efeito desejado de um tratamento farmacológico aconteça, o princípio ativo do medicamento precisa chegar ao alvo terapêutico em uma concentração considerável, de forma que permaneça no alvo pelo tempo necessário. Para compensar os obstáculos que a substância atuante passa antes de chegar no alvo, muitas vezes é necessária a exposição de altas doses durante o tratamento (Lorenzo; Concheiro, 2014; Silva, 2019). Ainda conforme Lorenzo e Concheiro (2014), a eficiência da intervenção medicamentosa depende do quanto o agente terapêutico consegue ter biodisponibilidade. Devido ao grande impacto na segurança e eficácia dos tratamentos farmacológicos, diversas pesquisas em busca de uma melhor modulação na administração de agentes terapêuticos vêm sendo desenvolvidas (Aglyamov; Larin, 2025).

Os sistemas de liberação controlada são divididos em três gerações. A primeira geração de sistemas de liberação controlada utiliza uma taxa programada de liberação de fármaco, que não depende das condições do organismo para liberá-lo (Dokoumetzidis; Macheras, 2006; Hoffman, 2008; Lorenzo; Concheiro, 2014). A segunda geração de sistemas de liberação controlada funciona por ativações físicas, químicas ou bioquímicas. Já a terceira geração utiliza DDSs que se regulam por *feedback* e podem entregar o agente terapêutico ao alvo de forma melhorada e regulada (Chien; Lin, 2002; Lorenzo; Concheiro, 2014).

Existem duas grandes categorias de DDS (da terceira geração) levando em consideração a maneira como ele reage aos diferentes *feedbacks*: os que trabalham em circuito fechado, reconhecendo mudanças biológicas como temperatura, pH e concentração de marcadores; e os chamados de DDS em circuito aberto, que modulam a liberação do fármaco por estímulos externos como eletricidade, campo magnético e luz (Sershen; West, 2002; Lorenzo; Concheiro, 2014).

## 2.4 BIOMATERIAIS E PRODUTOS NATURAIS

Na literatura, diversas definições de “biomaterial” têm sido propostas ao longo do tempo, objetivando abranger todos os aspectos apresentados com o avanço da ciência (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015; Hasirci; Hasirci, 2018). Em seu estudo, Williams (2009) definiu biomaterial como “uma substância projetada para assumir uma

forma que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, é usada para direcionar, por meio do controle de interações com componentes de sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico, na medicina humana ou veterinária". De acordo com Pires, Bierhalz e Moraes (2015), biomateriais podem conter componentes de origem sintética ou natural (ou até mesmo conter compostos naturais quimicamente modificados), com a possibilidade de serem fabricados ou não.

Para ser considerado um biomaterial, características específicas são necessárias (dependendo da aplicação desejada), tais como: propriedades biológicas, (destacando-se a biocompatibilidade); propriedades físicas, mecânicas e químicas de qualidade, como resistência suficiente a desgaste, resistência a esterilização, permeabilidade, entre outras. Os biomateriais podem ser constituídos por metais, cerâmicas, polímeros (naturais e sintéticos) e compósitos (polímeros combinados com metais e/ou cerâmicas). Dentre as diversas aplicações para as quais usam-se biomateriais, é possível destacar: implantes dentais e ortopédicos, válvulas cardíacas, lentes de contato, sistemas de carreamento de fármacos e proteínas, cicatrização de feridas, prevenção de infecções em lesões de pele, etc. (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015; Hasirci; Hasirci, 2018; Bharadwaj, 2021).

Em contrapartida, de acordo com Araújo (2015), o termo produtos naturais refere-se frequentemente a compostos isolados ou misturas complexas obtidas de fontes vivas, como as plantas medicinais. Historicamente fundamentais para a medicina tradicional, produtos de origem natural continuam sendo uma fonte essencial para a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos na medicina moderna, pois fornecem princípios ativos responsáveis por atividades farmacológicas específicas, a exemplo de ações anticancerígenas, analgésicas ou antimicrobianas (Araújo, 2015; Boy *et al.*, 2018), podendo ser utilizados diretamente como medicamentos, servirem de protótipos para síntese de novos fármacos ou serem incorporados a biomateriais para potencializar efeitos terapêuticos, como a cicatrização e prevenção de necroses (Turolla; Nascimento, 2006; Silva, 2020).

#### **2.4.1 Polímeros naturais**

Polímeros são macromoléculas compostas de unidades moleculares repetidas (monômeros), normalmente unidas por ligamentos químicos covalentes (Vishakha; Kishor; Sudha, 2012; Olatunji, 2016). Polímeros naturais são basicamente aqueles

que podem ser encontrados na natureza, como no próprio corpo humano, em animais e plantas (Olatunji, 2016), podendo ser classificados de acordo com sua origem: aqueles de origem vegetal (ágar, celulose, pectina, gel de aloe vera) e aqueles de origem animal (ALG, goma xantana, quitina) (Vishakha; Kishor; Sudha, 2012). Os polímeros naturais também podem ser classificados como proteínas (seda, fibrinogênio, queratina, colágeno, miosina), polissacarídeos (celulose, amilose, glicosaminoglicanos) ou polinucleotídeos (DNA, RNA) (Dhandayuthapani *et al.*, 2011).

É possível extrair, purificar e modificar química e fisicamente esses polímeros com o objetivo de melhorar suas funcionalidades em variados usos (Olatunji, 2016; Oliveira *et al.*, 2023a). A preferência de polímeros naturais biocompatíveis sobre os sintéticos se dá por esses polímeros serem biodegradáveis, econômicos em sua produção, mais seguros (não causando efeitos colaterais) e de fácil disponibilidade. Da mesma forma, existem certas desvantagens no uso de polímeros naturais: contaminações microbianas, variações de lote para lote, taxas de hidratação descontroladas, processos de produção lentos e contaminações por metais pesados (Vishakha; Kishor; Sudha, 2012; Kaushik; Sharma; Agarwal, 2016).

Atualmente, a indústria farmacêutica vem se inclinando ao uso de polímeros naturais como excipientes de formulações medicamentosas, por conta de problemas relacionados com a liberação de fármacos e com efeitos colaterais promovidos por sintéticos (Vishakha; Kishor; Sudha, 2012). Por conta da sua versatilidade, a aplicação biomédica de polímeros naturais é vasta, incluindo a engenharia de tecidos; liberação controlada de fármacos; e reparo cutâneo, ósseo e dentário. Já no escopo dos sistemas de liberação controlada de fármacos, polímeros naturais são comumente utilizados em administração tópica de medicamentos, bem como nasal, vaginal e ocular, entre outras vias (Olatunji, 2016; Oliveira *et al.*, 2023a). No mais, hidrogéis em particular exercem funções importantes para a administração de medicamentos (Vlierberghe; Dubruel; Schacht, 2011).

## 2.5 HIDROGÉIS

Hidrogéis são redes tridimensionais poliméricas (naturais ou sintéticas), sendo materiais flexíveis, reticulados e hidrofílicos ou anfifílicos, capazes de reter grandes quantidades de água ou fluidos biológicos (Ullah *et al.*, 2015; Hasirci; Hasirci, 2018). Segundo Laftah; Hashim e Ibrahim (2011), os hidrogéis são notavelmente versáteis,

logo, são aplicáveis em diversos campos, sendo frequentemente estudados e utilizados em aplicações biomédicas, especialmente como sistemas de liberação controlada (Li; Mooney, 2016). O alto teor de água e sua consistência macia fazem com que os hidrogéis sejam os materiais mais semelhantes à tecidos biológicos vivos. Da mesma maneira, a multifuncionalidade dos hidrogéis (principalmente os hidrogéis de polímeros naturais) é influenciada pela sua capacidade de resposta a estímulos externos e pela sua biocompatibilidade. (Peppas *et al.*, 2000; Ullah *et al.*, 2015). Segundo Olatunji (2016), embora os hidrogéis à base de polímeros sintéticos tenham a possibilidade de melhor evitarem a variação de lote para lote por serem criados de maneira mais precisa, hidrogéis à base de polímeros naturais possuem as importantes vantagens de serem biocompatíveis, biodegradáveis e por poderem processar interações celulares intrínsecas. A classificação de hidrogéis é baseada nas suas propriedades variadas (Laftah; Hashim; Ibrahim, 2011; Ullah *et al.*, 2015; Neves, 2019) e podem ser observadas na Figura 6 abaixo:



Figura 6 – Classificação de hidrogéis dependendo de diferentes propriedades. Fonte: Adaptado de Ullah *et al.* (2015).

### 2.5.1 Alginato de sódio

O alginato de sódio, ou somente alginato (ALG), é um exemplo de copolímero (cadeia única com dois ou mais monômeros diferentes) natural (biopolímero) aniónico linear utilizado comumente na forma de hidrogel, sendo um polissacarídeo

hidrossolúvel formado por ligações (1- 4) entre monômeros de  $\beta$ -D- ácido manurônico (grupo M) e  $\alpha$ -L- ácido gulurônico (grupo G), obtidos em algas marrons (Lacroix; Tien, 2005; Neves, 2019; Oliveira *et al.*, 2023a). A estrutura química do ALG (Figura 7a) pode originar três tipos de composições diferentes, dependendo de sua origem: blocos consecutivos de grupos G, blocos consecutivos de grupos M, e blocos de grupos G e M alternados (Figura 7b) (Lee; Mooney, 2012; Neves, 2019).

ALG tem sido bastante analisado na literatura, por possuir propriedades relevantes, como biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e moldabilidade (Neves, 2019; Mobaraki *et al.*, 2021). Além disso, tem custo relativamente baixo no mercado, e pode ser gelificado quando adicionados cátions divalentes, como o cálcio (Lee; Mooney, 2012). Por causa de suas características, ALG é utilizado com frequência na forma de hidrogéis, filmes, fibras ou microesferas (Neves; 2019); tendo aplicabilidade na cicatrização de feridas (Oliveira *et al.*, 2023a), administração controlada de fármacos (Mobaraki *et al.*, 2021) e na engenharia de tecidos, entre outras (Rezende *et al.*, 2009).

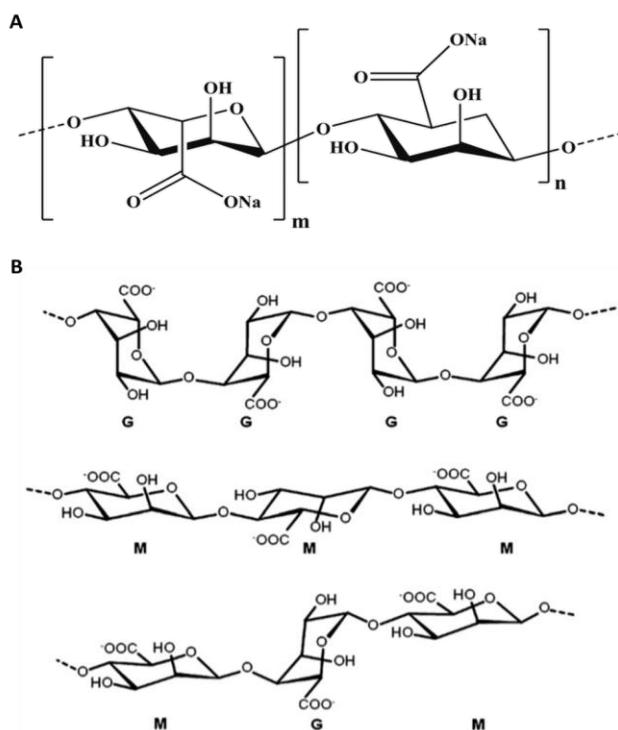


Figura 7 – a. Estrutura molecular básica do ALG (Fórmula:  $(C_6H_7NaO_6)_n$ ). b. Estruturas químicas de grupos G, grupos M e grupos alternados em alginato. Fontes: Lee e Mooney (2012) e Foroughi, Mirabedini e Warren (2018).

## 2.6 *Rhizophora mangle*

Segundo o Manual Técnico de Vegetação Brasileira (2012), *R. mangle*, popularmente conhecida como mangue-vermelho, é a vegetação mais abundante do manguezal brasileiro. Da família das Rhizophoraceae, *R. mangle* é uma planta subtropical e tropical encontrada nas áreas costeiras da América do Sul e Central, da Flórida, África Ocidental e das ilhas de Fidji, Tonga e Nova Caledônia (Araújo, 2015; Sá *et al.*, 2023). Conforme Silva (2020), Coelho-Ferreira (2009) e Almeida *et al.* (2002), *R. mangle* tem caráter arbóreo, possuindo folhas simples e adaptações fisiológicas especiais (os rizóforos) diante do ambiente extremamente adverso típico de manguezais (com alta salinidade e pouca oxigenação, além de variação de pH, temperatura e umidade dos solos lamacentos). Trata-se de um sistema radicular em que ramos partem do tronco e formam arcos que auxiliam na sustentação da árvore. Outra adaptação fisiológica observada em *R. mangle* é sua semente, cuja germinação começa ainda presa à planta materna. Essa semente é chamada de propágulo, tem forma alongada e quando cai, é enterrada na lama ou flutua na água até que encontre condições adequadas para fixação e desenvolvimento da mesma.

Para lidar com as condições hostis desse ecossistema, as vegetações dos manguezais também necessitaram produzir novos compostos químicos, metabólitos secundários com propriedades específicas fundamentais para sobrevivência dessas espécies (Silva, 2020; Sá *et al.*, 2023). Estes compostos conferem a essas plantas (incluindo o mangue-vermelho) proteção contra possíveis patógenos, apresentando, por exemplo, efeitos antimicrobiano, antifúngico e antiviral (Oliveira, 2018). Dessa forma, as propriedades farmacológicas atribuídas aos compostos secundários de *R. mangle* sugerem benefícios em potencial no seu uso como planta medicinal (Regalado; Sánchez; Mancebo, 2016).

Em estudo, encontrou-se a presença de polifenóis (em sua maioria taninos poliméricos e taninos hidrolisáveis); além de carboidratos, ácidos graxos, fitoesteroides e compostos voláteis ou semivoláteis; ao caracterizar quantitativamente a composição química do mangue-vermelho de Cuba (Sánchez *et al.*, 1998; Lima *et al.*, 2021). O perfil fitoquímico de extrato aquoso de *R. mangle* também foi descrito detalhadamente por Sá *et al.* (2023); corroborando com os dados apresentados nos estudos de Silva (2020), Oliveira (2018) e Araújo (2015). Conforme observado na Figura 8, o trabalho de Sá *et al.* (2023) destacou a presença de taninos nos extratos

de folha, caule e raiz. Além disso, identificou-se a presença de flavonoides nas folhas e caules, enquanto triterpenos e saponinas foram detectados majoritariamente no caule e na raiz.

| Compostos secundários | Folha | Caule | Raiz |
|-----------------------|-------|-------|------|
| <b>Flavonóides</b>    | +     | +     | -    |
| <b>Taninos</b>        | +     | +     | +    |
| <b>Alcalóides</b>     | -     | -     | -    |
| <b>Triterpenos</b>    | -     | +     | +    |
| <b>Saponinas</b>      | -     | +     | -    |
| <b>Cumarina</b>       | -     | -     | -    |

+: presente -: ausente.

Figura 8 – Perfil fitoquímico qualitativo dos extratos aquosos das folhas, caule e raiz da *R. mangle* L.

Fonte: Sá *et al.* (2023).

Além da caracterização fitoquímica de extratos dessa planta, avaliações citotóxicas também foram realizadas: Araújo (2015) revelou efeito mitogênico do extrato aquoso das folhas de *R. mangle* em células HeLa; assim como Sá *et al.* (2023) pôde observar em todas as diluições dos extratos aquosos das três porções utilizadas no estudo (folha, caule e raiz), sendo o extrato da folha o que apresentou maior crescimento celular em comparação aos extratos do caule e da raiz; Santana *et al.* (2023) avaliou diferentes formulações de hidrogéis de goma xantana com o extrato aquoso de *R. mangle* associado ao ácido ascórbico, que não promoveram necrose ou apoptose significativa, mas sim a proliferação de células do sistema imunológico; enquanto Almeida (2017) mostrou que não houve atividade citotóxica de extrato metanólico das folhas de *R. mangle* contra células do sistema imunológico, mas houve indução de proliferação de esplenócitos.

Na medicina popular, a folha, caule, raízes e frutos de *R. mangle* têm sido amplamente utilizados (Lima *et al.*, 2021; Coelho-Ferreira, 2009), por exemplo, para tratamento contra úlceras gástricas (Berenguer *et al.*, 2006), ação antibacteriana (Melchor *et al.*, 2001), antioxidante e anti-inflamatória (Marrero *et al.*, 2006). O extrato aquoso de *R. mangle* também possui efeito cicatrizante, provocado por estímulo à angiogênese e migração de fibroblastos (Fernandez *et al.*, 2002). Diante dessas propriedades atribuídas a sua rica composição, estudos utilizaram extratos de *R. mangle* para encontrar diferentes formas de aplicação terapêutica, produzindo cremes

desse extrato (Araújo, 2015), associando ao AT para cicatrização de feridas (Marinho, 2018) ou incorporando ao ácido ascórbico na mesma base de hidrogel para testes *in vitro* em esplenócitos de camundongos (Santana *et al.*, 2023). O uso de *R. mangle* mostrou resultados favoráveis nesses estudos; entretanto, os mesmos sugerem que as atividades cicatrizante (por aumento da proliferação de fibroblastos), antioxidante, anti-inflamatória e angiogênica devem-se à presença predominante de taninos na composição da planta (Araújo, 2015; Marinho, 2018; Santana *et al.*, 2023).

Atualmente, existem apenas dois trabalhos na literatura que utilizaram *R. mangle* em estudos de prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos. Oliveira (2018) preparou filme de biopolímero de betaglucana impregnado com extrato de *R. mangle* a 5%, enquanto Silva *et al.* (2022) incorporou o extrato a 5% em hidrogel de goma xantana. Ambos os estudos revelaram eficácia em seus resultados, reforçando maior interesse científico na aplicação de *R. mangle* para este fim.

## 2.7 ÁCIDO TÂNICO

Ácido tânico (AT) é um composto polifenólico pertencente à classe dos taninos, sendo o tanino hidrolisável de estrutura mais simples (Brandão *et al.*, 2008; Jing *et al.*, 2022), mais especificamente enquadrando-se como um galotanino, de acordo com Okuda e Ito (2011), Marinho (2018) e Youness *et al.* (2021). Na natureza, AT pode ser encontrado principalmente na casca de carvalhos, entre outras plantas (Machado, 2005; Youness *et al.*, 2021). Contudo, a forma comercial do AT possui uma estrutura molecular (Figura 9) composta por uma molécula central de glicose, ligada à cinco grupos funcionais, cada um contendo duas moléculas de ácido gálico ligadas por esterificação (Mattos, 2009; Marinho, 2018; Baldwin; Booth, 2022).

Exibindo popularidade na literatura, AT é um polifenol utilizado na fabricação de tintas, no curtimento de couro e na clarificação de vinho (Marinho, 2018; Baldwin; Booth, 2022). Além disso, AT é conhecido por possuir propriedades químicas e capacidades funcionais benéficas que proporcionam uma ampla gama de atividades farmacológicas, incluindo biocompatibilidade (Chen *et al.*, 2022), propriedades curativas (Marinho, 2018; Chen *et al.*, 2019), antioxidantes, antimicrobianas (Kim; Silva; Jung, 2011; Sahiner *et al.*, 2016; Deng *et al.*, 2019), anti-inflamatórias (Baldwin; Booth, 2022), anticarcinogênicas (Naus *et al.*, 2007; Youness *et al.*, 2021) e fotoprotetoras (Gwak; Hong; Park, 2021), ao mesmo tempo que AT é comumente

utilizado em farmácias como agente adstringente (Brandão *et al.*, 2008). Chen *et al.* (2022) ainda enumera outras propriedades químicas únicas do AT, além da biocompatibilidade e aplicações clínicas: alta solubilidade em água, capacidade adesiva universal, potencial de conjugação supramolecular com polímeros e propriedade quelante de metais.

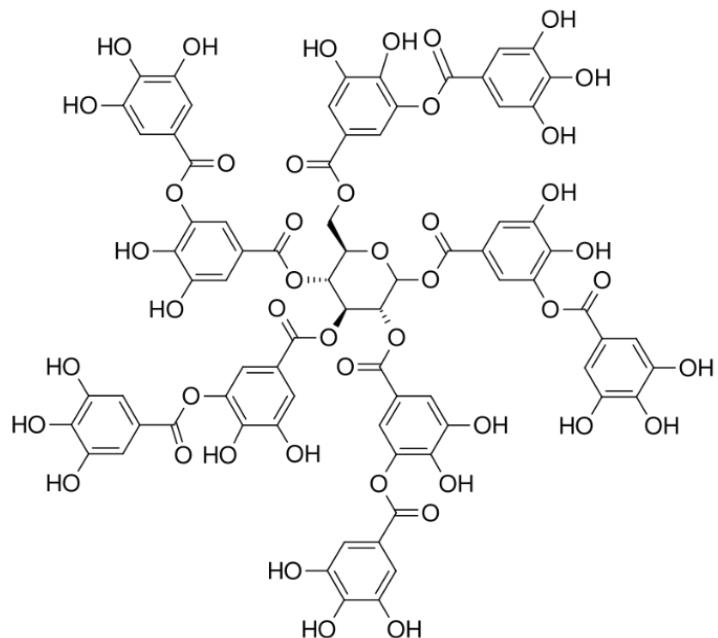


Figura 9 – Estrutura molecular do AT (Fórmula:  $C_{76}H_{52}O_{46}$ ). Fonte: Wikimedia Commons contributors (2020).

## 2.8 REDES METALORGÂNICAS

Redes metalorgânicas (MOFs) são materiais porosos, com uma estrutura cristalina tridimensional híbrida, formada por íons metálicos como conectores e moléculas orgânicas como ligantes (Cunha, 2009; Tanaka *et al.*, 2024). As MOFs são estruturas altamente versáteis com uma grande área de superfície, sendo definidas pela IUPAC como subclasses de “polímeros de coordenação” (Batten *et al.*, 2013), mas também são conhecidas mundialmente por “redes híbridas orgânico-inorgânicas” (Chen *et al.*, 2014) e “polímeros de coordenação porosos” (PCPs, do inglês: *porous coordination polymers*) (Deria *et al.*, 2014), enquanto o termo “MOFs” foi primeiramente introduzido por Yaghi, Li e Li (1995). De acordo com Silva (2019) e Tanaka *et al.* (2024), a versatilidade desses cristais permite uma aplicabilidade variada em diferentes áreas, incluindo energia (Jayachandrababu; Sholl; Nair, 2017), DDSs

(Cai *et al.*, 2015), bioimagem (Yang; Yang, 2020) e separação de gases, por exemplo (Qian *et al.*, 2020).

No que se refere à aplicação biomédica, as MOFs vêm se destacando a literatura com seu uso promissor na liberação controlada de substâncias (incluindo fármacos e outras biomacromoléculas, como proteínas, peptídeos e ácidos nucleicos), segundo McKinlay *et al.* (2010), Vasconcelos *et al.* (2012) e Yang e Yang (2020). Paralelamente, conforme Deria *et al.* (2014), Qian *et al.* (2020), Hoseinpour e Shariatinia (2021), esse destaque é diretamente ligado às propriedades únicas apresentadas por esses compostos: a alta porosidade de sua estrutura, que permite encapsulamento eficiente de moléculas em seus poros; a extensa área superficial interna, que proporciona uma quantidade significativa de sítios de adsorção (podendo ainda conferir um caráter específico pré-estabelecido), facilitando sua interação com moléculas alvo e melhorando sua eficiência de liberação; a sua estrutura ajustável, permitindo adaptação pós-síntese de seu tamanho e forma, a depender do objetivo, bem como inclusão de funcionalidades e/ou propriedades específicas (como grupos químicos que facilitam a ligação e liberação de determinada proteína); assim como sua boa biocompatibilidade, sendo capaz de interagir em segurança com sistemas biológicos, sem causar reações adversas; e biodegradabilidade, podendo se degradar de forma a evitar o seu acúmulo no organismo e a facilitar sua eliminação.

ZIFs (do inglês: *Zeolite Imidazolate Frameworks*) são uma subcategoria de MOFs compostas por íons de zinco e imidazolatos (Tian; Yao; Zhu, 2017; Silva; 2019). As ZIFs são a classe mais representativa dentre as MOFs relativamente mais estáveis estruturalmente (Tanaka *et al.*, 2024). De acordo com Park *et al.* (2006), essa característica estrutural ocorre em estruturas onde ligantes de bases moles imidazolatos e azolato se unem à íons metálicos divalentes de ácidos moles (como  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  e  $Cu^{2+}$ ). A figura 10 mostra exemplos de representações de MOFs estruturalmente estáveis:

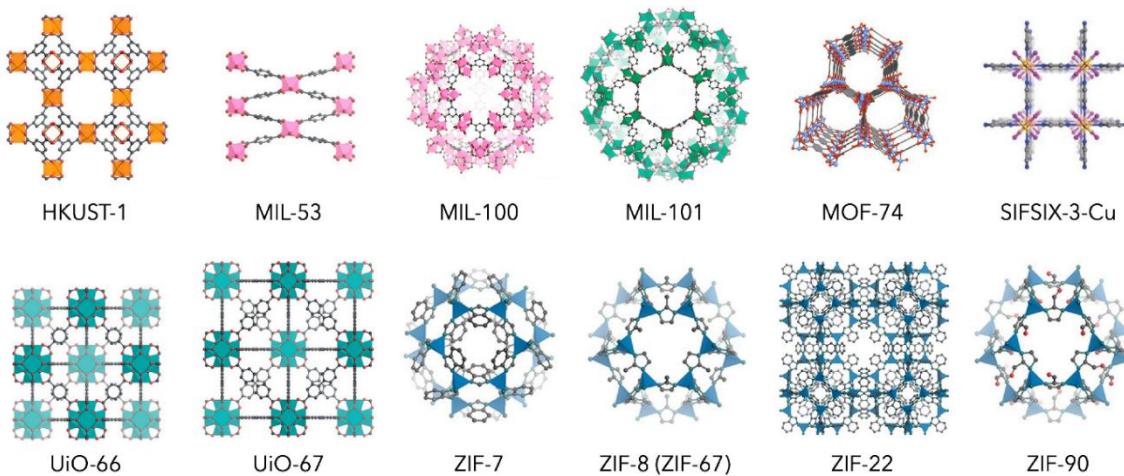


Figura 10 – Representações de MOFs com estruturas relativamente estáveis. Fonte: Tanaka *et al.* (2024).

### 2.8.1 ZIF-8

O ZIF-8 (do inglês: *Zeolite Imidazolate Framework-8*) é formado por íons de zinco ( $Zn^{2+}$ ) e 2-metilimidazol (2-MeIM) e chama atenção pelo tamanho de sua área de superfície (cerca de  $1700\text{ m}^2/\text{g}$ ) – importante para aumentar a capacidade de carga de compostos, pela sua estabilidade térmica alta ( $400\text{ }^\circ\text{C}$ ), assim como pela sua estrutura altamente porosa e de baixa densidade (Kolmykov *et al.*, 2017; Hoseinpour; Shariatinia, 2021). ZIF-8 tem sido amplamente considerado em aplicações biomédicas, especialmente como um DDS, como é demonstrado nos estudos de Vasconcelos *et al.* (2012) e Kaur *et al.* (2017). Os principais motivos que tornam ZIF-8 altamente aplicável no âmbito de liberação controlada de fármacos são suas características estruturais, que proporcionam alta capacidade de carga, comportamento responsivo ao pH, biocompatibilidade, estabilidade química e capacidade de uso em micro/nanocápsulas (Hoop *et al.*, 2018; Hoseinpour; Shariatinia, 2021).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar o potencial de diferentes formulações de ALGgel e ZIF-8 com extrato de *R. mangle* ou AT na prevenção de necrose tecidual de retalhos cutâneos isquêmicos em ratos.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Preparar ALGgel puro e/ou compondo ZIF-8 associado ao extrato aquoso de *R. mangle* ou ao AT;
2. Confeccionar os RCIs dos grupos experimentais;
3. Efetuar tratamento tópico dos RCIs de cada grupo experimental com seu respectivo ALGgel criado;
4. Executar as análises morfométrica e histomorfométrica dos RCIs;
5. Determinar comparativamente a eficácia dos materiais utilizados, dentre as associações produzidas, na prevenção de necrose dos RCIs.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo experimental pré-clínico *in vivo*.

### 4.2 EXPERIMENTO REALIZADO

Os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para confecção de retalho cutâneo isquêmico, partindo da divisão dos grupos experimentais (Quadro 1). A Figura 11 mostra o fluxograma experimental detalhando as etapas do estudo.

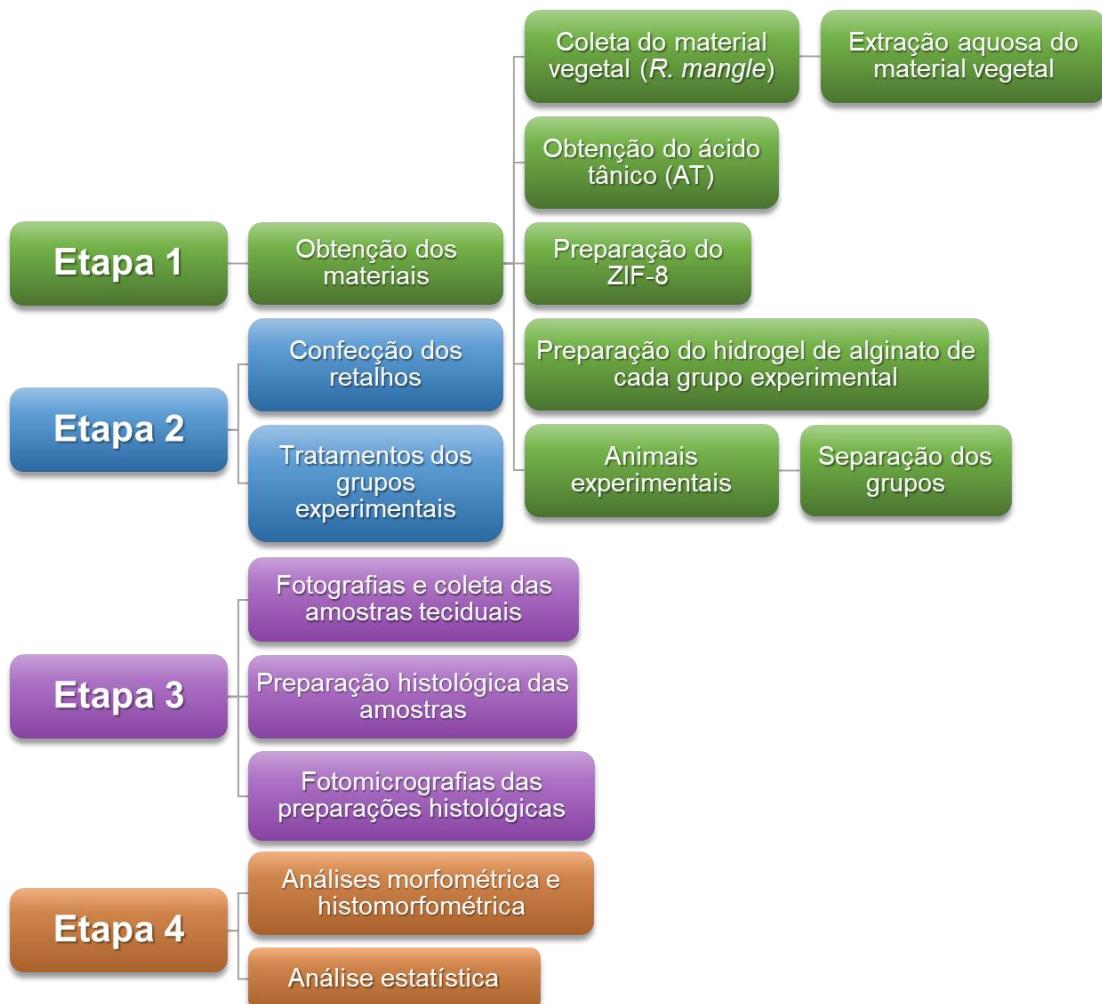


Figura 11 – Fluxograma experimental.

#### 4.3 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO

O estudo foi realizado através do Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia (PPGM), no Departamento de Histologia e Embriologia (DHE) do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (CB/UFPE). Os biomateriais e produtos naturais foram obtidos e confeccionados no Laboratório de Morfotecnologia (Lab Morfotec – DHE) e no Laboratório de Terras Raras (BSTR) do Departamento de Química Fundamental (DQF) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN/UFPE). Os animais experimentais foram adquiridos e mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia (DFF) do CB/UFPE. Os procedimentos cirúrgicos, as fotografias e coleta das amostras teciduais ocorreram no Laboratório de Neuroendocrinologia e Metabolismo (DFF – CB/UFPE). Por fim, assim como a preparação histológica das amostras e a realização das fotomicrografias, as análises morfométrica, histomorfométrica e estatística foram realizadas no Laboratório de Morfotecnologia (DHE – CB/UFPE).

#### 4.4 MATERIAIS DE PESQUISA

##### **4.4.1 Animais experimentais**

O estudo começou com 24 ratos Wistar machos da mesma linhagem reprodutiva, com idade entre 8 e 12 semanas e peso entre 220-275 g, os quais foram randomizados em quatro grupos (n=6 por grupo). Durante o período experimental, dois animais de grupos de tratamento diferentes foram excluídos do estudo devido a complicações imprevistas. Portanto, a análise final foi realizada com um total de 22 animais, com o número final por grupo detalhado no Quadro 1. Os animais em fase de crescimento permaneceram em grupos de até 5 ratos por gaiola no biotério. Após a confecção dos retalhos, os ratos ficaram em gaiolas particulares, onde há controle da temperatura (22°C +/- 2°C) e privação de estresse e ruídos, de mesmo modo a evitar canibalismo das áreas necróticas entre os animais. Os ciclos diurnos e noturnos (12/12h) foram preservados, com alimentação padronizada do tipo ração industrial (Labina Purina Brasil®) e água mineral *ad libitum*, seguindo o método aplicado por Silva *et al.* (2022).

#### 4.4.1.1 Aspectos éticos

Este estudo foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da UFPE com processo de número 0072/2023 (Anexo A). Não há conflito de interesses na realização deste trabalho. O trabalho realizado manteve a preocupação em causar o mínimo sofrimento possível para os animais.

#### 4.4.1.2 Procedimento cirúrgico

Para realização do estudo, procedimentos cirúrgicos foram realizados no dorso de cada animal para confecção dos RCIs. De acordo com Oliveira *et al.* (2023b), a largura do pedículo e o comprimento do retalho são diretamente relacionados com a sua viabilidade. Dessa forma, este trabalho utilizou o mesmo modelo de retalho cutâneo utilizado por Oliveira (2018) e Silva *et al.* (2022), apresentado por McFarlane, DeYoung, Henry (1965) e adaptado por Adamson *et al.* (1966). A necrose no modelo de retalho de padrão aleatório de McFarlane é desencadeada pela interrupção do suprimento sanguíneo direto, criando uma zona de isquemia distal. A relação comprimento-largura de 3:1 é especificamente projetada para exceder a capacidade de perfusão do pedículo, resultando em necrose previsível na extremidade do retalho. Essa característica torna o modelo um padrão para avaliar estratégias terapêuticas que visam melhorar a viabilidade do retalho (Oliveira, 2018; Silva *et al.*, 2022; McFarlane; DeYoung; Henry, 1965).

No início do procedimento, os animais foram pesados e anestesiados com injeção intraperitoneal de solução de ketamina 30 mg e xilazina 15 mg/kg, com periódica suplementação, se necessário; acordando com os conceitos éticos de experimentos animais. Em seguida, foi realizada a tricotomia na região dorsal dos animais, em que o retalho cutâneo teve sua base medindo 3 cm por 9 cm de comprimento, partindo das saliências posteriores do quadril do animal, de forma que se torna previsível a ocorrência de necrose (Silva *et al.*, 2022). Fez-se a assepsia da área cirúrgica usando solução de clorexidina a 2% e realizou-se o corte da área marcada, desde a base às extremidades, até atingir a fáscia superficial, também chamada de *panniculus carnosus* (Figura 12). O retalho foi então levantado e a hemostasia do local foi realizada, para em seguida suturar o retalho de volta ao leito

da ferida com fio de nylon 3-0. Posteriormente, os animais foram enviados para suas gaiolas para o início do experimento.

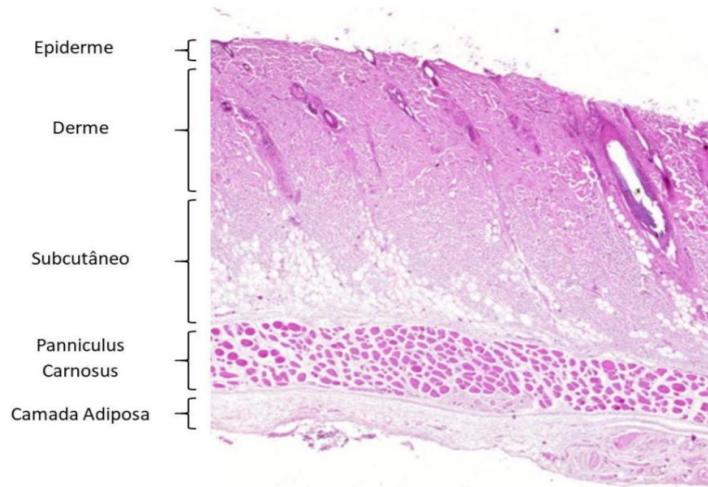


Figura 12 – Camadas histológicas de pele de rato. Fonte: Oliveira (2018).

#### 4.4.2 Biomateriais e produtos naturais

##### 4.4.2.1 Coleta do material vegetal

Folhas de *R. mangle* foram coletadas no manguezal da cidade de Itamaracá, distrito de Vila Velha, no estado de Pernambuco, com 7° 40' de latitude sul e 34 ° 50' de longitude oeste, sendo selecionadas folhas verdes, com aparência vistosa, visualmente intactas, livres de danos mecânicos, pragas, doenças ou cor alterada. Uma exsicata foi identificada sob número UFP. 69.655.

##### 4.4.2.2 Obtenção do extrato aquoso de folhas de *R. mangle*

O extrato aquoso de *R. mangle* foi obtido no Lab Morfotec localizado no DHE (CB-UFPE). A preparação do extrato foi realizada mediante infusão (40°C por 10 min) a partir de 500g de folhas previamente secas a 35°C por 72h, que foram moídas até 0,177 mm em moinho de facas Pulverisette 14 Classic Fine (Fritsch). O material foi filtrado e armazenado a 5°C. As descrições de caracterização fitoquímica deste extrato localizam-se nos trabalhos de Oliveira (2018) e Sá *et al.* (2023).

##### 4.4.2.3 Ácido Tânico

AT em forma de pó hidrossolúvel foi adquirido comercialmente (marca Dinâmica®) e armazenado a temperatura ambiente no Laboratório de Morfotecnologia (DHE – CB/UFPE). Já no Laboratório BSTR (DQF – CCEN/UFPE), o AT foi diluído a 5% e incorporado no ALGgel e ZIF-8.

#### 4.4.2.4 ZIF-8

A síntese da ZIF-8 foi baseada nas metodologias descritas por Silva (2019) e Hoseinpour e Shariatinia (2021), e modificada. A preparação ocorreu no Laboratório BSTR (DQF – CCEN/UFPE). Duas soluções foram preparadas de formas diferentes antes de serem misturadas. Para a primeira solução, foram pesados 1,340 g de nitrato de zinco hexahidratado ( $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ ) da marca Dinâmica®, e colocados em agitação com 80 mL de metanol, até completa diluição do metal. Para a segunda solução, foram pesados 0,334 g do ligante 2-MeIM da marca Sigma-Aldrich®, e colocados em agitação com 80 mL de metanol, até serem completamente diluídos. Após diluição, o ligante foi adicionado ao metal e ficou sob agitação por 10 minutos, depois colocado em repouso por 24h. A solução resultante foi separada e lavada. Foram feitas três centrifugações a 3248g e 5000 RPM por 15 minutos, onde o sobrenadante foi desprezado e o material foi ressuspêndido em metanol, depois novamente colocado para repouso por 24h. O rendimento da preparação foi de 0,0296 g, o equivalente a 8,86% do ligante utilizado. Outras duas preparações foram criadas, buscando aumentar o rendimento adquirido, sem alterações no método de preparo. Na segunda preparação, a primeira solução conteve ~2,512 g de  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  diluídos em 150 mL de metanol, enquanto a segunda solução conteve ~0,626 g de 2-MeIM diluídos em 150 mL de metanol. Na terceira preparação, a primeira solução obteve 1,468 g de  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  diluídos em 100 mL de metanol, enquanto a segunda solução teve 1,620 g de  $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  diluídos em 100 mL de metanol. Os rendimentos da segunda e terceira preparações foram de 0,0456 g (equivalente a 7,28% do ligante) e de 0,376 g (equivalente a 25,6% do ligante), respectivamente.

#### 4.4.2.5 ALGgel

A formulação contendo o hidrocoloide ALG foi baseada e adaptada de acordo com a metodologia descrita no trabalho de Diniz *et al.* (2020), onde reagentes adquiridos comercialmente foram utilizados sem purificação: 24 g de ALG da marca Sigma-Aldrich®, 0,2 g de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) da marca Sigma-Aldrich® e 0,06 g de N-hidroxisuccinimida (NHS) da marca Alfa Aesar®; para 200 mL de água ultrapura do sistema Milli-Q Direct-Q Type I da marca Merck®. Em um bêquer, foi criada a solução contendo a concentração equivalente a 12% (m/v) de ALG em água, juntamente com EDC e NHS, que atuam como agentes de acoplamento para controle da taxa de reticulação do hidrogel. A solução permaneceu sob agitação mecânica por 2 horas, em temperatura ambiente. Ao final do período de agitação, o hidrogel foi armazenado em refrigerador.

#### 4.4.2.6 ALG-ZIF-8 com AT 5%

A formulação com AT a 5% no hidrocoloide ALG e ZIF-8 foi baseada e adaptada de acordo com a metodologia descrita no trabalho de Diniz *et al.* (2020), onde reagentes adquiridos comercialmente foram utilizados sem purificação: 12 g de ALG da marca Sigma-Aldrich®, 0,2 g de EDC da marca Oakwood Chemical®, 0,06 g de NHS, 0,05 g de ZIF-8 e 5 g de AT; para 100 mL de água ultrapura do sistema Milli-Q Direct-Q Type I da marca Merck®. Em um bêquer, foi criada a solução contendo a concentração equivalente a 12% (m/v) de ALG, 5% (m/v) de AT e 0,05% (m/v) de ZIF-8 em água, juntamente com EDC e NHS, que atuam como agentes de acoplamento para controle da taxa de reticulação do hidrogel. A solução permaneceu sob agitação mecânica por 2 horas, em temperatura ambiente. Ao final do período de agitação, o hidrogel foi armazenado em refrigerador.

#### 4.4.2.7 ALG-ZIF-8 com *R. mangle* 5%

A formulação com *R. mangle* a 5% no hidrocoloide ALG e ZIF-8 foi baseada e adaptada de acordo com a metodologia descrita no trabalho de Diniz *et al.* (2020), onde reagentes adquiridos comercialmente foram utilizados sem purificação: 12 g de ALG da marca Sigma-Aldrich®, 0,2 g de EDC da marca Oakwood Chemical®, 0,06 g

de NHS e 0,05 g de ZIF-8; para 5 mL de extrato de *R. mangle* e 95 mL de água ultrapura do sistema Milli-Q Direct-Q Type I da marca Merck®. Em um bêquer, foi criada a solução contendo a concentração equivalente a 12% (m/v) de ALG, 5% (v/v) de *R. mangle* e 0,05% (m/v) de ZIF-8 em água, juntamente com EDC e NHS, que atuam como agentes de acoplamento para controle da taxa de reticulação do hidrogel. A solução permaneceu sob agitação mecânica por 2 horas, em temperatura ambiente. Ao final do período de agitação, o hidrogel foi armazenado em refrigerador.

#### 4.5 DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram randomizados em quatro grupos experimentais. A designação de cada grupo, o número de animais e a administração específica realizada estão detalhados no Quadro 1. Com exceção do grupo CNeg, todos os grupos foram submetidos a 7 dias de tratamento tópico com seu respectivo hidrogel. Posteriormente, os animais foram eutanasiados para realização das análises morfométrica e histomorfométrica dos RCIs.

| Grupo   | n final | Administração                   |
|---------|---------|---------------------------------|
| CNeg    | 6       | Salina 0,9%                     |
| pALGgel | 5       | ALGgel                          |
| ALGzAT  | 5       | ALG-ZIF-8 + AT 5%               |
| ALGzRm  | 6       | ALG-ZIF-8 + <i>R. mangle</i> 5% |

Quadro 1 – Grupos experimentais com seus respectivos tratamentos administrados e número final (n) de animais por grupo.

#### 4.6 ANÁLISES MORFOMÉTRICA E HISTOMORFOMÉTRICA

Ao final dos 7 dias pós-operatório, os retalhos foram examinados e foi feita a delimitação macroscópica da área necrótica e a diferenciação entre os tecidos viável e com necrose, tendo como base a textura, a cor, e o crescimento de pelos. Além disso, os retalhos foram fotografados e suas fotos foram analisadas para medição digital e cálculo da área marcada. Da mesma forma, a porcentagem da área necrótica em relação à área total do retalho foi calculada através do software *ImageJ*. Posteriormente, as regiões de transição entre a área necrótica e viável de todos os

animais foram removidas e armazenadas para preparação das lâminas histológicas de cada amostra. As preparações histológicas prontas foram fotomicrografadas e examinadas utilizando o software *PrimeCam 5.1*. Ao final deste processo, os animais foram eutanasiados com hiperdosagem anestésica. Foram tiradas 5 fotomicrografias de cada amostra histológica, na ampliação de 20x, e foram efetuadas na porção acima da fáscia superficial, imediatamente antes da área necrótica, onde a avaliação foi mais apropriada. Nas fotomicrografias, houve a contagem de fibroblastos, vasos sanguíneos e leucócitos, em 5 campos para cada animal.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados descritivamente pelas medidas estatísticas: média, desvio padrão (média  $\pm$  DP), mediana e percentis 25 e 75 (mediana (P25; P75)).

Para a comparação entre os grupos, foi utilizado o teste t-Student com o teste de Kruskal-Wallis, e no caso de diferença significativa, foram obtidos os testes de comparações múltiplas (entre os pares de grupos) de Conover (Conover, 1980).

A escolha do teste de Kruskal-Wallis foi devida ao tamanho das amostras em cada grupo ser inferior a 8 casos por grupo, ou à rejeição da normalidade dos dados em pelo menos um dos grupos. A verificação da normalidade foi realizada por meio do teste de Shapiro-Wilk (Altman, 1991).

A margem de erro utilizada na decisão dos testes estatísticos foi de 5%. Os dados foram digitados na planilha EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o IBM SPSS na versão 27.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 OBTENÇÃO DOS HIDROGÉIS

Na figura 13 estão apresentadas as três formulações de hidrogel obtidas. ALGgel (Figura 13a) apresentou coloração translúcida e uma consistência semifluída. Enquanto o ALG-ZIF-8 com AT (Figura 13b) apresentou coloração marrom e uma consistência mais espessa em relação ao hidrogel puro. Já a formulação de ALG-ZIF-8 com *R. mangle* (Figura 13c) apresentou coloração levemente acastanhada, tendendo ao bege, com aparência mais translúcida e uma textura mais fluida quando comparada às demais formulações.

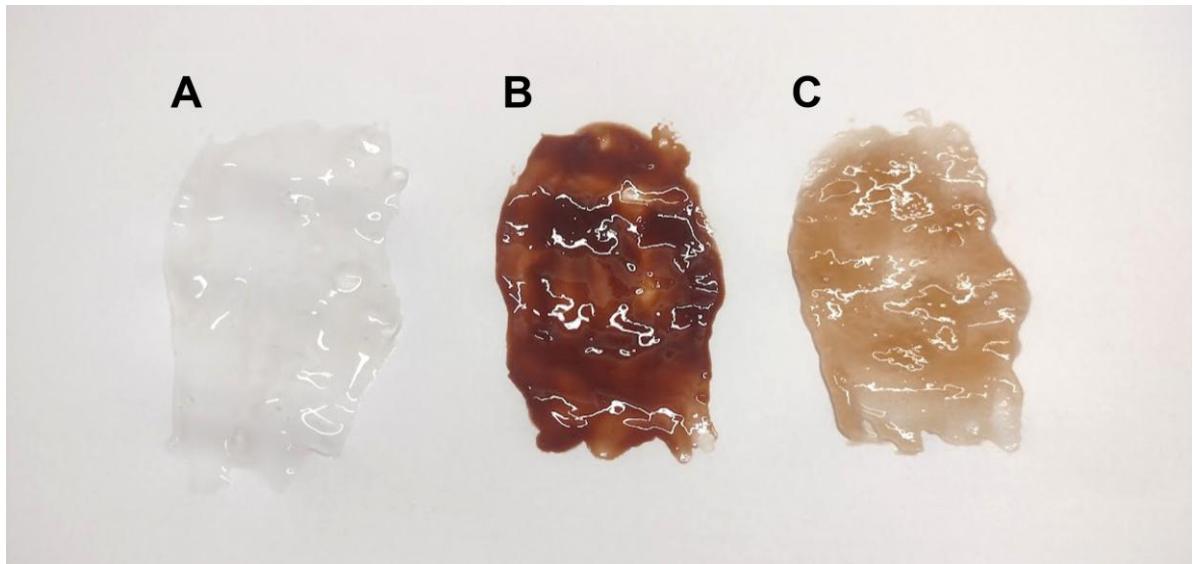


Figura 13 – Formulações de hidrogel obtidas. a. ALGgel. b. ALG-ZIF-8 com AT. c. ALG-ZIF-8 com *R. mangle*.

## 5.2 ANÁLISE MORFOMÉTRICA

Ao fim do procedimento, os retalhos de cada grupo foram fotografados e analisados. Foi observado que a área necrosada tinha coloração escura, textura endurecida, superfície irregular e ausência de pelo; enquanto a área viável apresentou coloração vermelho-clara, textura macia e início de crescimento capilar (Figura 14).

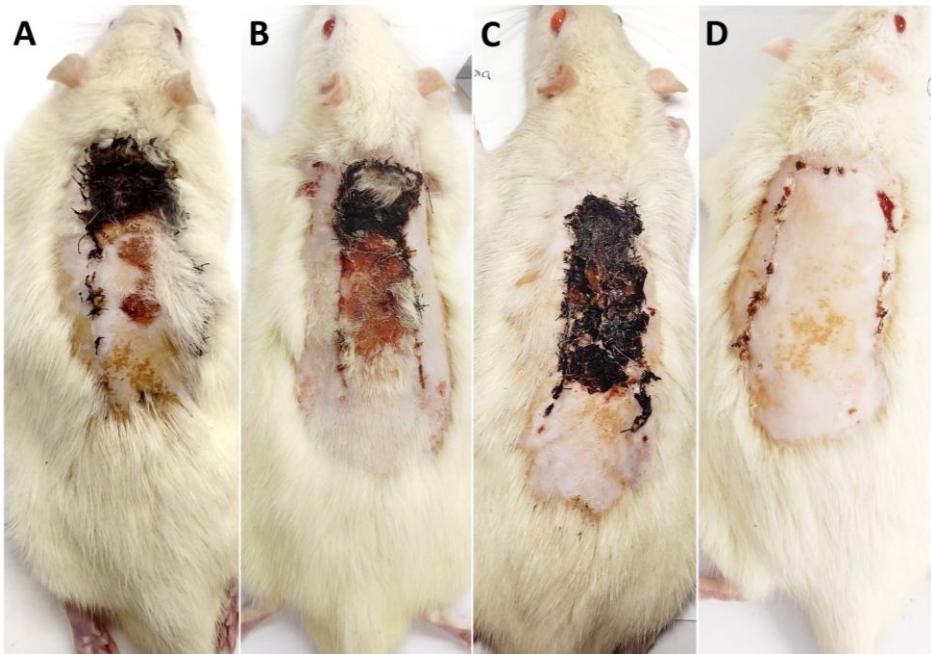


Figura 14 – Análise macroscópica dos retalhos dos animais ao final dos 7 dias de experimento (um exemplar por grupo). a. Grupo CNeg. b. Grupo pALGgel. c. Grupo ALGzAT. d. Grupo ALGzRm.

A Tabela 1 apresenta as estatísticas descritivas referentes às variáveis da área viável/total e da área necrosada/total. Embora não tenha sido observada diferença significativa entre os grupos, destaca-se que a média e a mediana do percentual de área viável em relação à área total foram menores no grupo ALGzAT (média de 58,92% e mediana de 71,98%). Em relação aos demais grupos, o ALGzRm apresentou a maior média de área viável (87,48%; mediana de 92,45%), seguido pelo grupo CNeg (média de 82,68%; mediana de 84,73%) e pelo grupo pALGgel (média de 81,07%; mediana de 81,87%). Quanto ao percentual de área necrosada em relação à área total, as maiores média e mediana foram registradas também no grupo ALGzAT (média de 41,08% e mediana de 28,04%). Consequentemente, quanto ao percentual de área necrosada, o grupo ALGzAT registrou os maiores valores (média de 41,08%; mediana de 28,04%). Em contraste, o grupo ALGzRm obteve a menor média de

necrose (12,52%; mediana de 7,55%), seguido pelos grupos CNeg (média de 17,32%; mediana de 15,27%) e pALGgel (média de 18,93%; mediana de 18,13%). O gráfico 1 evidencia as médias dos percentuais de área viável e de área necrosada em relação à área total de cada grupo experimental, possibilitando uma comparação visual gráfica entre os grupos.

Em especial, dois dos animais do grupo ALGzRm apresentaram viabilidade total do retalho, sem ocorrência de necrose, após os 7 dias do experimento. A figura 15 apresenta um destes animais.



Figura 15 – Exemplar do grupo ALGzRm em que o retalho permaneceu totalmente viável, com ausência de necrose.

Tabela 1 – Estatística descritiva da porcentagem da área viável/total e da área necrosada/total, para cada grupo experimental.

| Grupo      | n | Variável                               |                                       |
|------------|---|--|---------------------------------------|
|            |   | Área viável/total (%)                  | Área necrosada/total (%)              |
|            |   | Média ± DP<br>Mediana (P25; P75)       | Média ± DP<br>Mediana (P25; P75)      |
| CNeg       | 6 | 82,68 ± 7,83<br>84,73 (75,21; 89,31)   | 17,32 ± 7,83<br>15,27 (10,69; 24,79)  |
| pALGgel    | 5 | 81,07 ± 2,68<br>81,87 (78,27; 83,47)   | 18,93 ± 2,64<br>18,13 (16,53; 21,66)  |
| ALGzAT     | 5 | 58,92 ± 27,37<br>71,96 (29,31; 82,00)  | 41,08 ± 27,40<br>28,04 (18,05; 70,78) |
| ALGzRm     | 6 | 87,48 ± 14,47<br>92,45 (70,04; 100,00) | 12,52 ± 14,45<br>7,55 (0,00; 29,95)   |
| Valor de p |   | <b>p<sup>(1)</sup> = 0,214</b>         | <b>p<sup>(1)</sup> = 0,214</b>        |

(1) Teste Kruskal-Wallis

DP: Desvio padrão. n: número de animais por grupo. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

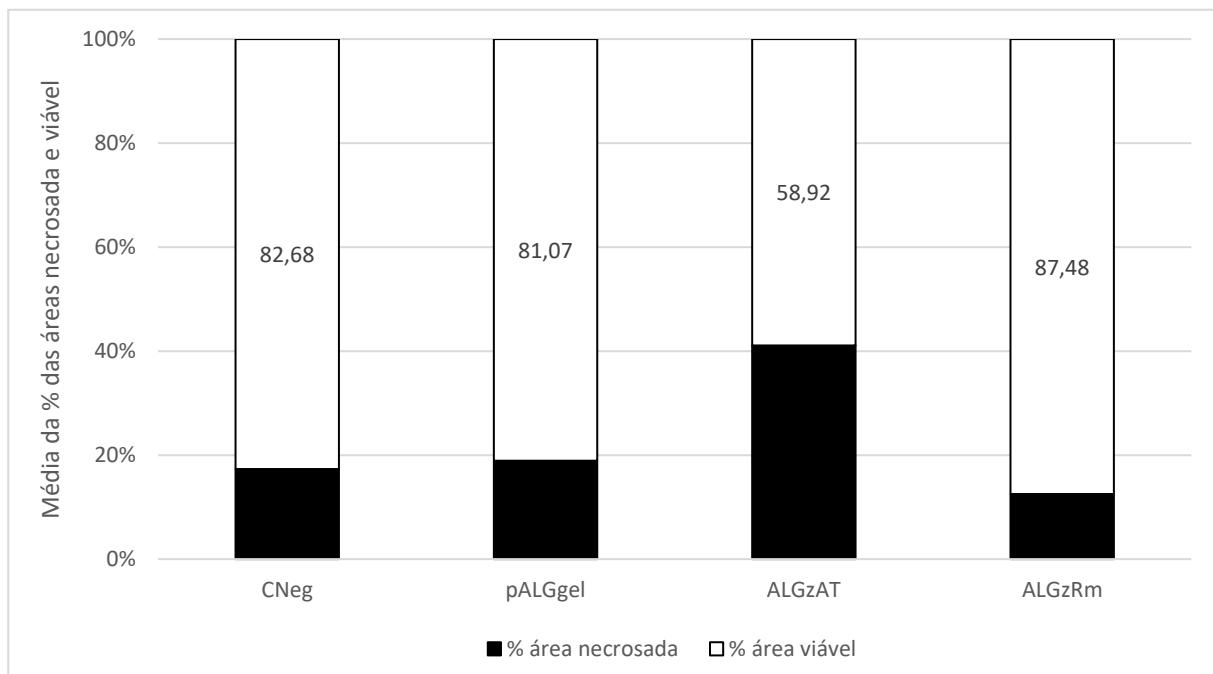


Gráfico 1 – Médias dos percentuais das áreas viável e necrosada em relação à área total, por grupo experimental. Observa-se a predominância de área viável no grupo ALGzRm, em contraste com a maior proporção de área necrosada no grupo ALGzAT.

### 5.3 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

Após a obtenção das lâminas histológicas, foram fotografados 5 campos por amostra de cada grupo, para contagem de fibroblastos, vasos sanguíneos e leucócitos. A figura 16 mostra um campo representando cada grupo experimental.

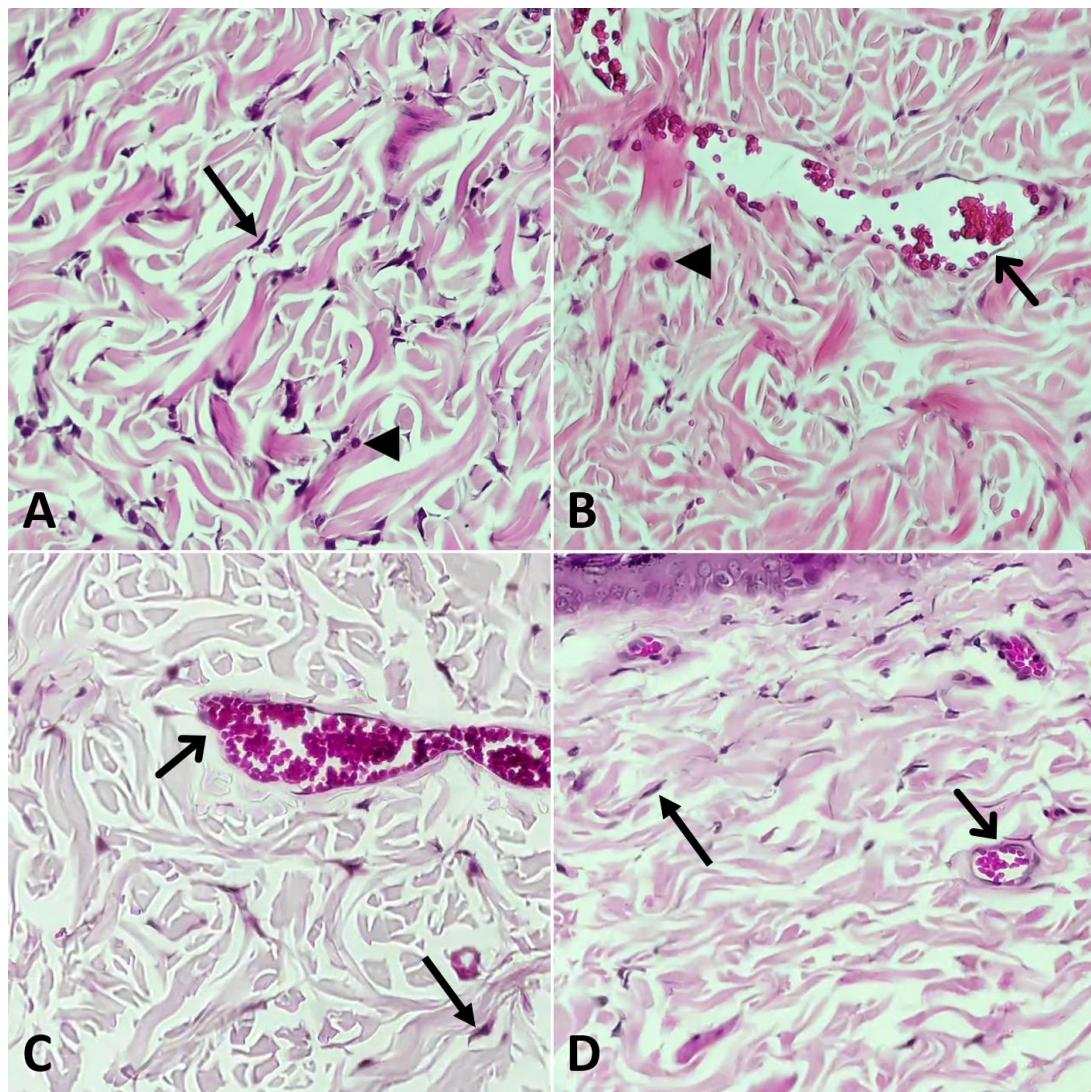


Figura 16 – Campos histológicos representando os grupos experimentais (ampliados em 20x e corados em HE). a. Grupo CNeg. b. Grupo pALGgel. c. Grupo ALGzAT. d. Grupo ALGzRm. Setas fechadas em A, C e D apontam para fibroblastos. Setas abertas em B, C e D apontam para vasos sanguíneos. Pontas de setas em A e B apontam para leucócitos.

Na Tabela 2, apresentam-se as estatísticas referentes à quantidade de fibroblastos, vasos sanguíneos e leucócitos observados nos campos obtidos de cada

animal, por grupo. Embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à contagem de fibroblastos por campo ( $p = 0,192$ ), o grupo ALGzAT apresentou a maior média (542,68; mediana de 499,00), enquanto o grupo pALGgel teve a menor média (392,96; mediana de 387,00). Os grupos CNeg e ALGzRm apresentaram médias semelhantes, de 434,07 e 431,27, com medianas de 398,50 e 422,50, respectivamente. Em relação ao número de vasos sanguíneos por campo, foi identificada diferença significativa entre os grupos ( $p = 0,015$ ), com a maior média observada no grupo ALGzAT (39,16; mediana de 40,00), seguido pelo CNeg (36,30; mediana de 28,50), ALGzRm (30,17; mediana de 26,50) e pALGgel, que apresentou a menor média (22,36; mediana de 20,00). Já na contagem de leucócitos por campo, a diferença entre os grupos também foi significativa ( $p < 0,001$ ). O grupo pALGgel destacou-se com a maior média (160,04; mediana de 83,00), enquanto o grupo ALGzRm teve a menor média (33,07; mediana de 29,00). O grupo CNeg apresentou média de 100,27 e o grupo ALGzAT apresentou média de 106,52, com medianas de 81,50 e 94,00, respectivamente.

Tabela 2 – Estatísticas da contagem de fibroblastos, vasos sanguíneos e leucócitos por campo, para cada grupo experimental.

| Grupo      | n  | Variável   |  |  |
|------------|----|--|--|--|
|            |    | Fibroblastos/campo<br>Média ± DP<br>Mediana (P25; P75) | Vasos sanguíneos/campo<br>Média ± DP<br>Mediana (P25; P75) | Leucócitos/campo<br>Média ± DP<br>Mediana (P25; P75) |
| CNeg       | 30 | 434,07 ± 159,38<br>398,50 (327,25; 516,00)             | 36,30 ± 49,94 (A)<br>28,50 (15,50; 40,25)                  | 100,27 ± 73,71 (A)<br>81,50 (55,50; 117,75)          |
| pALGgel    | 25 | 392,96 ± 124,34<br>387,00 (294,00; 501,50)             | 22,36 ± 15,94 (A)<br>20,00 (6,50; 35,00)                   | 160,04 ± 179,37 (A)<br>83,00 (26,00; 228,50)         |
| ALGzAT     | 25 | 542,68 ± 259,56<br>499,00 (396,50; 646,00)             | 39,16 ± 19,27 (B)<br>40,00 (18,50; 53,50)                  | 106,52 ± 70,99 (A)<br>94,00 (70,50; 122,50)          |
| ALGzRm     | 30 | 431,27 ± 119,31<br>422,50 (313,75; 531,75)             | 30,17 ± 15,19 (A)<br>26,50 (17,75; 39,75)                  | 33,07 ± 24,73 (B)<br>29,00 (16,00; 39,75)            |
| Valor de p |    | p <sup>(1)</sup> = 0,192                               | p <sup>(1)</sup> = 0,015*                                  | p <sup>(1)</sup> < 0,001*                            |

(\*) Diferença significativa ao nível de 5,0%

(1) Teste Kruskal-Wallis com comparações múltiplas de Conover

Obs. Se todas as letras entre parênteses são distintas, se comprova diferença significativa entre os grupos.  
DP: Desvio padrão. n: número de campos por grupo. P25: Percentil 25. P75: Percentil 75.

Os gráficos 2, 3 e 4 fornecem uma representação visual dos dados relativos à histomorfometria apresentados na tabela 2, facilitando a comparação entre os grupos avaliados. O gráfico 2 mostra a média da contagem de fibroblastos por campo,

destacando que o grupo ALGzAT apresentou a maior média (542,68), seguido pelos grupos CNeg (434,07), ALGzRm (431,27) e pALGgel, que teve a menor média (392,96). O gráfico 3 exibe a média da contagem de vasos sanguíneos por campo, sendo o grupo ALGzAT novamente o que apresentou a maior média (39,16), seguido pelos grupos CNeg (36,30), ALGzRm (30,17) e pALGgel, com a menor média (22,36). Já o gráfico 4 apresenta a média da contagem de leucócitos por campo, com o grupo pALGgel apresentando a maior média (160,04), seguido pelos grupos ALGzAT (106,52), CNeg (100,27) e ALGzRm, que teve a menor média (33,07).

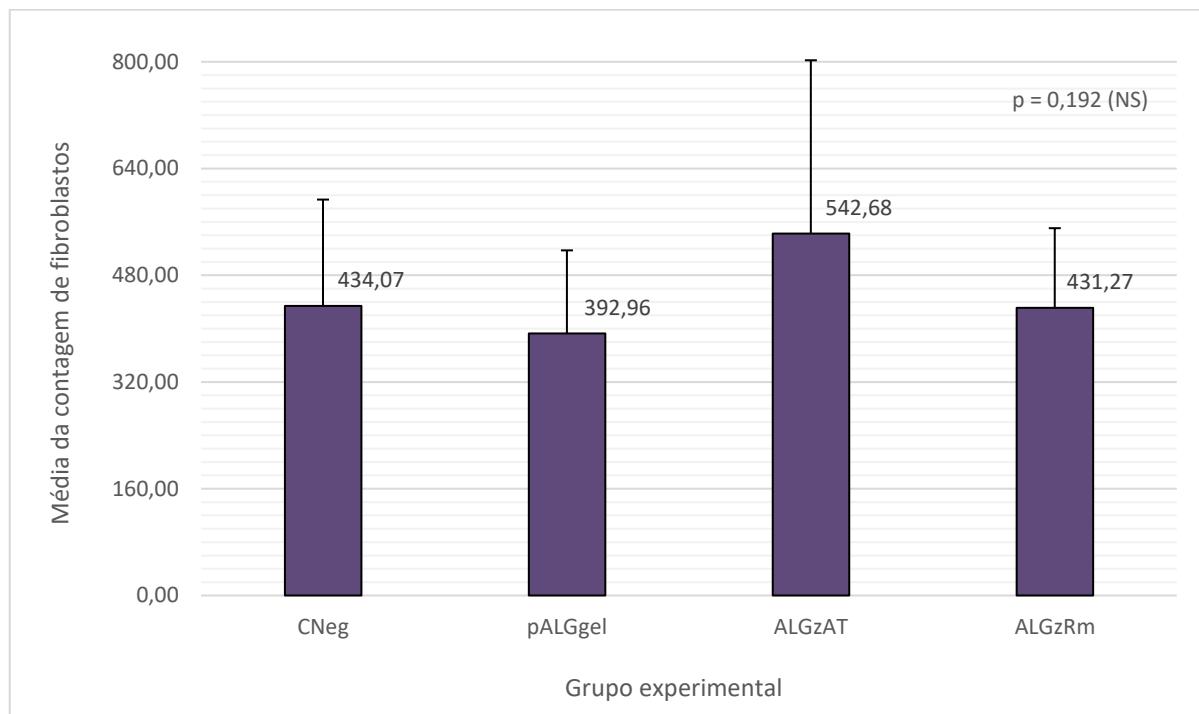


Gráfico 2 – Média do número de fibroblastos por grupo experimental. NS: Valor de  $p$  não significativo.

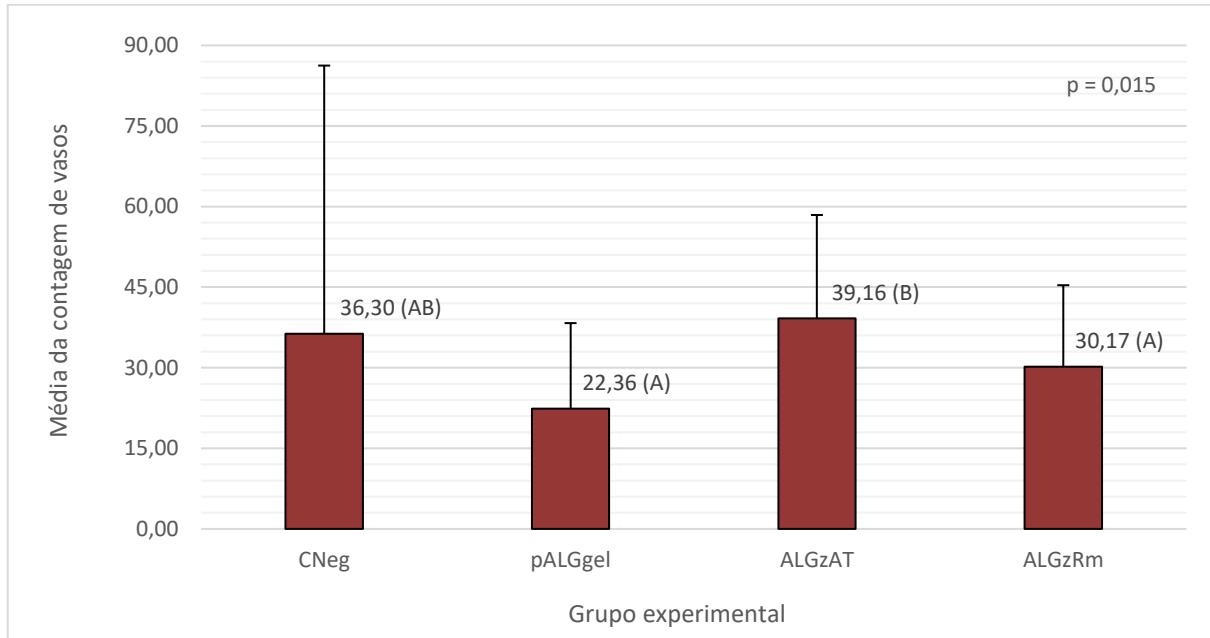
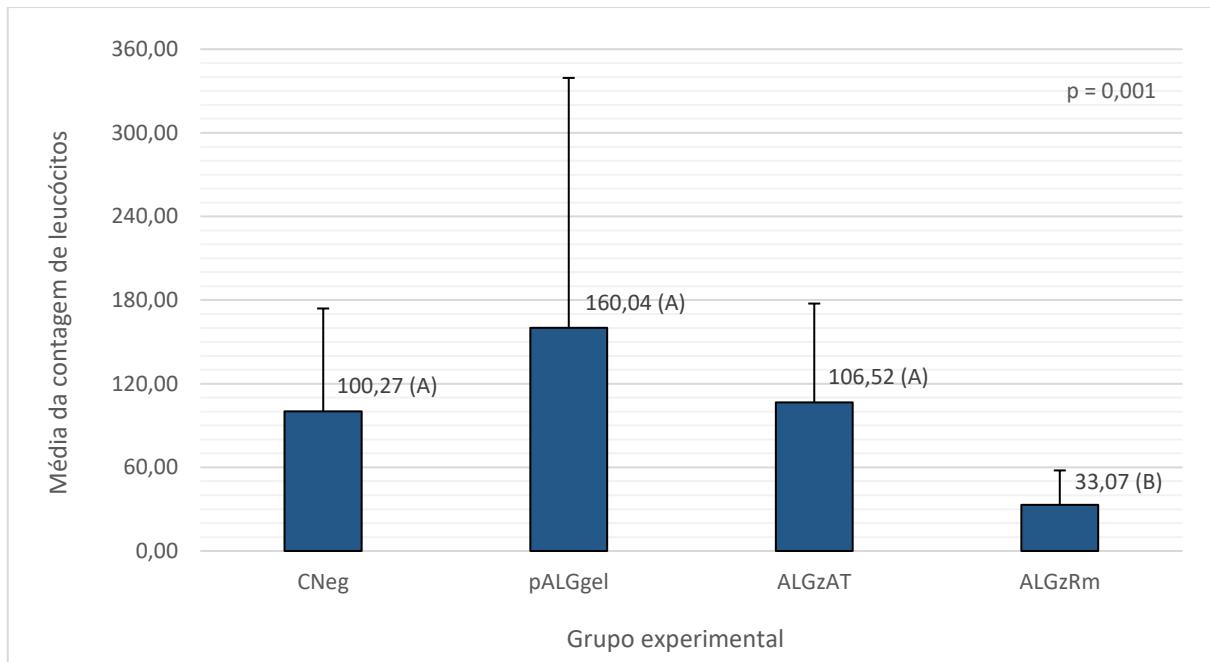


Gráfico 3 – Média do número de vasos sanguíneos por grupo experimental. Obs: Letras diferentes entre parênteses indicam diferença significativa entre os grupos.



## 6 DISCUSSÃO

A viabilidade de retalhos cutâneos, procedimento frequente em cirurgias plásticas e de reconstrução, é constantemente ameaçada pelo risco de necrose tecidual do RCI. Esse desafio clínico impulsiona a busca por novas estratégias terapêuticas, com especial interesse em compostos de origem natural. Estudos prévios já demonstraram efeito benéfico do extrato de *R. mangle* na viabilização de RCIs (Oliveira, 2018; Silva *et al.*, 2022). Adicionalmente, o estudo pioneiro de Marinho (2018) associou *R. mangle* ao AT em base creme para tratamento de feridas, mostrando potencial cicatrizante favorável. Já o estudo de Silva *et al.* (2022) aplicou o extrato de *R. mangle* na forma de hidrogel, o qual também mostrou um resultado positivo. Neste cenário, os hidrogéis à base de polímeros naturais destacam-se como veículos promissores, dada sua semelhança com tecidos biológicos e sua capacidade de atuar como sistemas de liberação controlada para compostos bioativos (Ullah *et al.*, 2015; Li; Mooney, 2016). O presente estudo avaliou, portanto, o potencial de diferentes formulações de ALGgel na prevenção da necrose tecidual de RCIs.

Para realização do experimento, este trabalho utilizou o modelo de retalho cutâneo apresentado por McFarlane, DeYoung, Henry (1965) adaptado por Adamson *et al.* (1966). McFarlane, DeYoung e Henry (1965) apresentaram pela primeira vez o modelo experimental de retalho de pele retangular, para estudo da necrose dos mesmos e sua prevenção. O retalho de McFarlane é amplamente conhecido e utilizado na literatura, onde encontram-se variadas adaptações deste modelo, como é descrito no estudo de Lee *et al.* (2022). Trata-se de um retalho cutâneo realizado no dorso de ratos, com base cranial e largura de 4 cm por 10 cm de comprimento. Dentre os variados modelos criados a partir do modelo de McFarlane, a modificação mais comum descrita por Lee *et al.* (2022) a ser utilizada é o retalho com 3 cm x 9 cm (Fan *et al.*, 2021; Luo *et al.*, 2021; Masaoka *et al.*, 2016). Da mesma forma, o modelo de McFarlane adaptado por Adamson *et al.* (1966), o qual difere do original tanto pelas dimensões do retalho (3 cm x 9 cm) quanto pela posição da base, localizada na extremidade posterior do quadril do animal, tem sido utilizado em pesquisas com ratos Wistar, para o estudo de prevenção de necrose de retalhos cutâneos isquêmicos (Oliveira, 2018; Silva *et al.*, 2022).

A escolha de utilizar ratos machos, diferente de Silva *et al.* (2022), que utilizou fêmeas, é uma diferença metodológica notável que pode ter contribuído para a clareza dos

resultados deste estudo. Achados na literatura demonstram que hormônios como o estrógeno, progesterona e estradiol são mediadores críticos que influenciam na cicatrização de feridas, angiogênese e remodelamento de colágeno (Biondo-Simões *et al.*, 2005; Nicolau *et al.*, 2014). De acordo com Silva *et al.* (2022), o ciclo estral das fêmeas pode ter introduzido uma variabilidade hormonal durante a cicatrização dos RCIs em seu estudo. Nesse sentido, a escolha de utilizar ratos machos neste trabalho, assim como Oliveira (2018), representa uma vantagem metodológica, garantindo que os desfechos observados refletem de forma mais direta a eficácia das formulações testadas, sem a interferência de flutuações hormonais.

A análise morfométrica do presente estudo demonstrou algumas tendências quanto ao potencial das diferentes formulações de hidrogel na prevenção da necrose, no entanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p = 0,214$ ). Sendo assim, os resultados desse estudo sugerem que o tratamento com ALG-ZIF-8 e *R. mangle* (grupo ALGzRm) esteve associado aos desfechos mais favoráveis. Conforme detalhado na Tabela 1 e ilustrado no Gráfico 1, o grupo ALGzRm obteve a maior média de viabilidade dos retalhos (87,48%). Essa prevalência também foi evidente na análise macroscópica (Figura 13d), onde os animais deste grupo apresentaram retalhos com excelente aspecto, inclusive com dois casos de ausência total de necrose (Figura 14). Tais resultados podem ser devido às já conhecidas propriedades do extrato de *R. mangle*, como seus efeitos antioxidante, anti-inflamatório, cicatrizante e angiogênico (Marrero *et al.*, 2006; Fernandez *et al.*, 2002). Os achados deste estudo corroboram com estudos prévios que demonstraram o potencial terapêutico do extrato em diferentes formulações, como cremes, filmes e hidrogéis (Araújo, 2015; Oliveira, 2018; Santana *et al.*, 2023), e mais diretamente com o trabalho de Silva *et al.* (2022), cujos resultados, assim como os deste trabalho, demonstraram que o tratamento utilizando hidrogel como base com o extrato de *R. mangle* a 5% resultou na diminuição de necrose de RCIs.

Além disso, a eficácia do grupo ALGzRm pode ser atribuída à presença do ZIF-8 na formulação testada. No estudo de Silva *et al.* (2022), foi reportada uma média de necrose de 34,25% no grupo em que foi testado o hidrogel de goma xantana com extrato de *R. mangle* a 5%. Em contrapartida, este valor é substancialmente superior ao encontrado neste estudo para o grupo ALGzRm (12,52%), que utilizou a mesma concentração de extrato. Esta diferença expressiva sugere que a inclusão da rede metalorgânica ZIF-8 foi crucial para potencializar o efeito terapêutico do extrato de *R. mangle*.

*mangle*, atuando como um DDS e otimizando a formulação. Suas propriedades como carreador poroso e biocompatível (Hoop *et al.*, 2018) podem ter garantido uma ação terapêutica mais eficaz e prolongada, o que se traduziu diretamente na maior preservação tecidual do RCI.

Em contrapartida, a formulação de ALG-ZIF-8 com AT (ALGzAT) demonstrou um efeito aparentemente prejudicial, resultando na maior média de necrose entre todos os grupos (41,08%), enquanto os grupos CNeg e pALGgel apresentaram resultados intermediários e semelhantes entre si. Essa observação macroscópica é corroborada pelos achados histomorfométricos (Tabela 2), que apontam para um intenso processo inflamatório neste grupo. O grupo ALGzAT apresentou a maior contagem média de fibroblastos observada no Gráfico 2 (542,68), apesar de não haver diferença significativa. Adicionalmente, essa demasiada resposta inflamatória pode ser confirmada pela maior contagem média de vasos sanguíneos (39,16;  $p = 0,015$ ), e pela elevada contagem média de leucócitos (106,52;  $p < 0,001$ ), sendo ambas estatisticamente significativas (Gráfico 2), indicando também um processo de angiogênese exacerbada. Uma hipótese para justificar este desfecho negativo é comportamento duplo de taninos e outros polifenóis (Eghbaliferiz; Iranshahi, 2016). Embora seja antioxidante em baixas concentrações, em concentrações mais elevadas o AT pode se tornar pró-oxidante, aumentando a geração de ROS e induzindo dano celular (Khan; Ahmad; Hadi, 2000; Labieniec; Gabryelak; Falcioni, 2003; Bouki *et al.*, 2013).

A escolha da concentração de AT a 5% foi baseada em estudos prévios, como o de Guimarães (2022), que utilizou esta mesma concentração em duas formulações (um gel-creme base e uma solução aquosa) para avaliar o efeito fotoprotetor de AT e estudar sua fluorescência, permeação e retenção cutânea *in vitro*, e de Marinho (2018), que desenvolveu uma formulação em creme a 5%, combinando extrato de *R. mangle* a 2,5% e AT a 2,5%, para tratar feridas cutâneas. É relevante notar que, nesse estudo, a abordagem que combinava a concentração de AT a 2,5% com o extrato de *R. mangle* obteve um desfecho cicatrizante positivo. Enquanto isso, os resultados de Guimarães (2022) demonstraram que, sem um sistema de liberação eficaz, o AT ficou retido na epiderme, não atingindo as camadas mais profundas da pele. No entanto, na formulação deste trabalho, a presença do ZIF-8 como um DDS provavelmente facilitou a permeação do AT através da epiderme, entregando uma dose efetivamente alta e pró-oxidante diretamente ao tecido isquêmico. Isso explicaria a intensa resposta

inflamatória e a proliferação de fibroblastos. A angiogênese observada em ALGzAT, por sua vez, pode ser caracterizada como um processo patológico que, uma vez iniciado pelo estresse oxidativo presente no tecido, tende a persistir de forma descontrolada e não resolvida (Chung; Ferrara, 2011). Portanto, esse conjunto de respostas histológicas (inflamação crônica e angiogênese patológica), em vez de ser reparador, culminou em uma considerável morte tecidual. Tal fato levanta a hipótese de que a concentração terapêutica segura para o AT seja inferior a 5%, e possivelmente mais próxima de 2,5% utilizada por Marinho (2018). Não se pode descartar, ainda, que o extrato de *R. mangle* presente naquela formulação possa ter contribuído para atenuar o potencial pró-oxidante do AT. Sendo assim, torna-se evidente a necessidade de estudos futuros de dose-resposta para determinar a concentração ideal e segura do AT para esta aplicação, bem como de ensaios *in vitro* para avaliar diretamente seu potencial de estresse oxidativo em diferentes concentrações. Além disso, estudos que avaliem o uso do AT na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos não foram encontrados na literatura, limitando a discussão comparativa dos achados. Contudo, o uso bem-sucedido de *R. mangle*, que contém taninos em sua composição (Oliveira, 2018; Lima *et al.*, 2021; Sá *et al.*, 2023), justifica o interesse em investigar o AT de forma isolada para melhorar a viabilidade de RCIs.

Os resultados dos grupos CNeg e o pALGgel podem contextualizar os demais resultados. O grupo CNeg, tratado com salina, apresentou área de necrose de 17,32%, valor inferior aos observados nos grupos controle de Oliveira (2018) e de Silva *et al.* (2022) (48,88% e 50,66%, respectivamente). Enquanto isso, o grupo pALGgel (placebo) obteve 18,93% de área de necrose, um resultado mais favorável do que o do grupo de Silva *et al.* (2022), tratado com hidrogel de goma xantana + placebo (37,44%). Entretanto, ao comparar os grupos CNeg e pALGgel, nota-se que o placebo isoladamente não foi capaz de melhorar a viabilidade do retalho em relação ao controle negativo.

A análise histomorfométrica realizada neste estudo favorece a compreensão dos eventos observados nos resultados macroscópicos. A relevância dessa análise é corroborada por Marinho (2018), cujo trabalho apontou a histomorfometria como crucial para mensurar o grau de reparo tecidual da lesão. Embora as áreas de necrose do CNeg e pALGgel sejam menores do que as de Oliveira (2018) e Silva *et al.* (2022), e o pALGgel tenha área de necrose inferior ao placebo de Silva *et al.* (2022), a

histomorfometria resultante condiz com um quadro de falha no reparo de ambos os grupos. Tanto o CNeg quanto o pALGgel apresentaram um processo inflamatório intenso, sustentado pelas altas contagens médias de leucócitos (100,27 e 160,04, respectivamente), sendo que o grupo placebo apresentou a maior média de todo o estudo, acompanhadas por uma angiogênese patológica (36,30 e 22,36, respectivamente).

Em relação à contagem dos fibroblastos, não houve diferença estatística entre os grupos. De acordo com Oliveira (2018), a fixação adequada do retalho cutâneo ao seu leito e aos tecidos vizinhos é determinante para o processo de cicatrização tecidual. Acredita-se que o processo de cicatrização de feridas seja grandemente regulado pelos fibroblastos, que são as células aderentes mais abundantes encontradas no tecido conjuntivo cutâneo (Lu *et al.*, 2000). Durante a fase proliferativa da cicatrização, os fibroblastos são responsáveis por produzir a nova matriz extracelular que fornece o suporte para o crescimento de outras células (Mendonça; Coutinho-Netto, 2009). De forma semelhante, os estudos de Silva *et al.* (2022) e Oliveira (2018) também não identificaram diferenças significativas na contagem de fibroblastos entre seus grupos. Além disso, assim como Silva *et al.* (2022), neste estudo não obteve indícios de estímulo à proliferação de fibroblastos utilizando formulações que contenham *R. mangle*.

A contagem de vasos sanguíneos, que reflete o processo de angiogênese, revelou uma diferença significativa entre os grupos ( $p = 0,015$ ), assim como a contagem de leucócitos ( $p < 0,001$ ), de modo que a análise conjunta destas duas variáveis oferece explicação a nível celular para os resultados macroscópicos discutidos previamente. A resposta inflamatória no grupo ALGzAT é validada pela alta contagem de leucócitos e vasos sanguíneos, e estão diretamente associadas à angiogênese patológica, justificando a extensa necrose. Em compensação, o resultado favorável observado no grupo ALGzRm se deve à potente ação anti-inflamatória, confirmada pela menor contagem de leucócitos deste estudo juntamente com uma angiogênese fisiológica e controlada, resultado na maior viabilidade do retalho.

Estes resultados observados no presente estudo representam um avanço em relação a trabalhos anteriores. Silva *et al.* (2022), por exemplo, observou uma tendência pró-angiogênica com *R. mangle*, porém sem significância estatística nem contagem de leucócitos, limitando uma interpretação mais completa do fenômeno. Já

Oliveira (2018), que avaliou ambas as variáveis, não encontrou diferença significativa para nenhuma delas. Em vista disso, os resultados estatisticamente fortes deste trabalho para contagem de vasos sanguíneos e leucócitos demonstram não apenas a eficácia da formulação ALGzRm, mas também elucidam que o controle da inflamação é um aspecto de grande importância na qualidade da resposta angiogênica e, consequentemente, no sucesso do tratamento para viabilidade de RCIs.

Algumas limitações do presente estudo devem ser reconhecidas. Primeiro, uma avaliação funcional da perfusão do retalho não foi realizada. Pesquisas futuras se beneficiariam da incorporação de técnicas como imagem por Laser Doppler para medir dinamicamente o fluxo sanguíneo. Adicionalmente, o estudo não incluiu um componente preliminar *in vitro*. Investigações futuras são, portanto, sugeridas para avaliar os efeitos de *R. mangle* e AT em linhagens celulares – como HUVECs para potencial angiogênico, e fibroblastos (NIH/3T3) ou queratinócitos (HaCaT) para estudos de citotoxicidade e proliferação – como um passo preliminar importante para otimizar as formulações antes de novos testes *in vivo*. Além disso, o cegamento só pôde ser empregado durante as análises histomorfométrica e estatística. Para minimizar melhor o viés potencial, estudos futuros semelhantes devem visar implementar um protocolo de duplo-cegamento mais abrangente, incluindo durante a aplicação dos tratamentos.

Em suma, este estudo destaca o potencial de novas formulações de ALG-ZIF-8 para modular os desfechos em retalhos isquêmicos. A formulação de ALG-ZIF-8 com *R. mangle* demonstrou ser promissora para o reparo tecidual, provavelmente mediado por sua capacidade de controlar a resposta inflamatória. Em contrapartida, a formulação de ALG-ZIF-8 com AT pareceu deletéria, conforme evidenciado pela inflamação exacerbada e angiogênese patológica. O ZIF-8 como DDS provavelmente desempenhou um papel chave nessas distintas respostas celulares. Estes achados ressaltam o potencial translacional de ALG-ZIF-8 com *R. mangle* como uma plataforma para melhorar a viabilidade do retalho. Futuramente, é essencial avaliar efeitos dose-dependentes do AT para determinar sua janela terapêutica para esta aplicação.

## 7 CONCLUSÃO

- As novas formulações de ALG-ZIF-8 são plataformas com potencial para modular os desfechos em retalhos cutâneos isquêmicos.
- Na análise morfométrica não foi observada diferença significativa entre as médias das áreas viável e necrosada dos grupos experimentais.
- Na análise histomorfométrica, observou-se diferença significativa entre os grupos para a contagem de vasos sanguíneos e de leucócitos, mas não foi observada diferença significativa para a contagem de fibroblastos.
- A formulação de ALG-ZIF-8 com *R. mangle* a 5% tendeu a apresentar um perfil promissor para o reparo tecidual, um efeito que parece estar ligado à uma possível capacidade de controlar a resposta inflamatória.
- A formulação de ALG-ZIF-8 com AT a 5% aparentou ter um efeito deletério, que esteve associado à inflamação exacerbada e à angiogênese patológica observadas.
- A incorporação do ZIF-8 pareceu ser determinante nas distintas respostas celulares observadas entre os grupos.

## REFERÊNCIAS

- Adamson, J. E.; Horton, C. E.; Crawford, H. H.; Ayers Junior, W. R.. The effects of dimethyl sulfoxide on the experimental pedicle flap: a preliminary report. **Plastic And Reconstructive Surgery**, Norfolk, v. 37, n. 2, p. 105-110, 1966.
- Afrooghe, A.; Damavandi, A. R.; Ahmadi, E.; Jafari, R. M.; Dehpour, A. R.. The current state of knowledge on how to improve skin flap survival: a review. **Journal Of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery**, v. 82, p. 48-57, 2023.
- Aglyamov, S. R.; Larin, K. V.. Optical coherence tomography for noninvasive monitoring of drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 220, p. 115571, 2025.
- Almeida, V. L. S.; Gomes, J. V.; Barros, H. M.; Navaes, A.. Produção de mudas de mangue-vermelho (*Rhizophora mangle*) e mangue-branco (*Laguncularia racemosa*) na tentativa de conservação dos manguezais em comunidades carentes do Litoral Norte do Estado de Pernambuco. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA - I CBEU, 1., 2002, Universidade Federal da Paraíba - UFPB. **Anais - Meio Ambiente**. João Pessoa: EDUFPB, 2003. v. 1, p. 1-5. Disponível em: [http://www.prac.ufpb.br/anais/lcbeu\\_anais/anais/meioambiente/racemosa.pdf](http://www.prac.ufpb.br/anais/lcbeu_anais/anais/meioambiente/racemosa.pdf). Acesso em: 23 mar. 2024.
- Almeida, V. S.. **Investigação da atividade citotóxica, antibacteriana e imunomoduladora do extrato metanólico de *Rhizophora mangle Linneus (Rhizophoraceae)***. 2017. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia, Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.
- Alves, N. C.. Penetração de Ativos na Pele: revisão bibliográfica. **Amazônia Science & Health**, v. 3, n. 4, p. 36-43, 2015.
- Altman, D. G.. **Practical Statistics for Medical Research**. London: Chapman And Hall, 1991. 611 p.
- Arda, O.; Göksügür, N.; Tüzün, Y.. Basic histological structure and functions of facial skin. **Clinics In Dermatology**, v. 32, n. 1, p. 3-13, 2014.
- Araújo, J. G.. **Desenvolvimento de creme de *Rhizophora mangle* I.: avaliação do potencial cicatrizante em feridas cutâneas**. 2015. 132 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
- Atalay, C.; Koçkaya, E. A.; Çetin, B.; Kismet, K.; Akay, M. T.. Efficacy of topical nitroglycerin and transcutaneous electrical nerve stimulation on survival of random-pattern skin flaps in rats. **Scandinavian Journal Of Plastic And Reconstructive Surgery And Hand Surgery**, v. 37, n. 1, p. 10-13, 2003.
- Baldwin, A.; Booth, B. W.. Biomedical applications of tannic acid. **Journal Of Biomaterials Applications**, v. 36, n. 8, p. 1503-1523, 2022.

Barati, B.; Zandi, A.; Asadi, M.. Enhancement the skin flap survival in mice applying topical and systemic atorvastatine: a randomized clinical trial study. **Advances In Oral And Maxillofacial Surgery**, v. 2, p. 100049, 2021.

Batten, S. R.; Champness, N. R.; Chen, X. -M.; Garcia-Martinez, J.; Kitagawa, S.; Öhrström, L.; O'keeffe, M.; Suh, M. P.; Reedijk, J.. Terminology of metal-organic frameworks and coordination polymers (IUPAC Recommendations 2013). **Pure And Applied Chemistry**, v. 85, n. 8, p. 1715-1724, 2013.

Berenguer, B.; Sánchez, L. M.; Quílez, A.; López-Barreiro, M.; Haro, O. de; Gálvez, J.; Martín, M. J.. Protective and antioxidant effects of Rhizophora mangle L. against NSAID-induced gastric ulcers. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 194-200, 2006.

Bharadwaj, A.. An Overview on Biomaterials and Its Applications in Medical Science. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 1116, n. 1, p. 012178, 2021.

Biondo-Simões, M. L. P.; Zimmermann, E.; Daher, T. S.; Borsato, K. S.; Noronha, L.. Efeitos da terapia de reposição hormonal na cicatrização de anastomoses de colón. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 237-242, 2005.

Bouki, E.; Dimitriadis, V. K.; Kaloyianni, M.; Dailianis, S.. Antioxidant and pro-oxidant challenge of tannic acid in mussel hemocytes exposed to cadmium. **Marine Environmental Research**, v. 85, p. 13-20, 2013.

Boy, H. I. A.; Rutilla, A. J. H.; Santos, K. A.; Ty, A. M. T.; Yu, A. I.; Mahboob, T.; Tangpoong, J.; Nissapatorn, V.. Recommended Medicinal Plants as Source of Natural Products: a review. **Digital Chinese Medicine**, v. 1, n. 2, p. 131-142, 2018.

Brandão, L. F. G.; Costa, C. M. D.; Lacerda, D. P.; Siqueira, J. M.. Controle de qualidade do ácido tânico de algumas farmácias de manipulação de Campo Grande (MS), Brasil. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 5, n. 3, p. 33-38, 2008. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/REF/article/view/5369>. Acesso em: 01 abr. 2024.

Cai, W.; Chu, C. -C.; Liu, G.; Wáng, Y. -X. J.. Metal-Organic Framework-Based Nanomedicine Platforms for Drug Delivery and Molecular Imaging. **Small**, v. 11, n. 37, p. 4806-4822, 2015.

Casey, G.. Physiology of the skin. **Nursing Standard**, v. 16, n. 34, p. 47-51, 2002.

Cavallaro, G.; Gianguzza, A.; Lazzara, G.; Milioto, S.; Piazzese, D.. Alginate gel beads filled with halloysite nanotubes. **Applied Clay Science**, v. 72, p. 132-137, 2013.

Chen, B.; Yang, Z.; Zhu, Y.; Xia, Y.. Zeolitic imidazolate framework materials: recent progress in synthesis and applications. **J. Mater. Chem. A**, v. 2, n. 40, p. 16811-16831, 2014.

- Chen, C.; Yang, H.; Yang, X.; Ma, Q.. Tannic acid: a crosslinker leading to versatile functional polymeric networks. **Rsc Advances**, v. 12, n. 13, p. 7689-7711, 2022.
- Chen, Y.; Tian, L.; Yang, F.; Tong, W.; Jia, R.; Zou, Y.; Yin, L.; Li, L.; He, C.; Liang, X.; Ye, G.; Lv, C.; Song, X.; Yin, Z.. Tannic Acid Accelerates Cutaneous Wound Healing in Rats Via Activation of the ERK 1/2 Signaling Pathways. **Advances In Wound Care**, v. 8, n. 7, p. 341-354, 2019.
- Chien, Y. W.; Lin, S.. Optimisation of Treatment by Applying Programmable Rate-Controlled Drug Delivery Technology. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 41, n. 15, p. 1267-1299, 2002.
- Chung, A. S.; Ferrara, N.. Developmental and Pathological Angiogenesis. **Annual Review Of Cell And Developmental Biology**, v. 27, n. 1, p. 563-584, 2011.
- Coelho-Ferreira, M.. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 126, n. 1, p. 159-175, 2009.
- Conover, W. J.. **Practical Nonparametric Statistics**. 2. ed. Nova York: John Wiley & Sons, 1980. 495 p.
- Cordeiro, P. G.; Mastorakos, D. P.; Hu, Q. Y.; Kirschner, R. E.. The Protective Effect of L-Arginine on Ischemia-Reperfusion Injury in Rat Skin Flaps. **Plastic And Reconstructive Surgery**, v. 100, n. 5, p. 1227-1233, 1997.
- Cunha, D. P. da. **Redes de Coordenação**: novos sistemas carreadores de fármacos. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.
- Deng, L.; Qi, Y.; Liu, Z.; Xi, Y.; Xue, W.. Effect of tannic acid on blood components and functions. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, v. 184, p. 110505, 2019.
- Deria, P.; Mondloch, J. E.; Karagiari, O.; Bury, W.; Hupp, J. T.; Farha, O. K.. Beyond post-synthesis modification: evolution of metal-organic frameworks via building block replacement. **Chem. Soc. Rev.**, v. 43, n. 16, p. 5896-5912, 2014.
- Dhandayuthapani, B.; Yoshida, Y.; Maekawa, T.; Kumar, D. S.. Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: a review. **International Journal Of Polymer Science**, v. 2011, n. 290602, p. 1-19, 2011.
- Diniz, F. R.; Maia, R. C. A. P.; Andrade, L. R. M. de; Andrade, L. N.; Chaud, M. V.; Silva, C. da; Corrêa, C. B.; R. L. C. A. Junior; Costa, L. P. da; Shin, S. R.; Hassan, S.; Sanchez-Lopez, E.; Souto E. B.; Severino, P.. Silver Nanoparticles-Composing Alginate/Gelatine Hydrogel Improves Wound Healing In Vivo. **Nanomaterials**, v. 10, n. 2, p. 390, 2020.

Dokoumetzidis, A.; Macheras, P.. A century of dissolution research: from noyes and whitney to the biopharmaceutics classification system. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 321, n. 1-2, p. 1-11, 2006.

Duarte, I. da S.; Gomes, H. F. de C.; Ferreira, L. M.. Effect of Dimethyl Sulphoxide On Necrosis of Skin Flaps in Rats. **Canadian Journal of Plastic Surgery**, v. 6, n. 2, p. 93-97, 1998.

Eghbaliferiz, S.; Iranshahi, M.. Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: updated review of mechanisms and catalyzing metals. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 9, p. 1379-1391, 2016.

Fan, W.; Liu, Z.; Chen, J.; Liu, S.; Chen, T.; Li, Z.; Lin, D.. Effect of memantine on the survival of an ischemic random skin flap and the underlying mechanism. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 143, n. 112163, p. 1-8, 2021.

Fernandez, O.; Capdevila, J. Z.; Dalla, G.; Melchor, G.. Efficacy of Rhizophora mangle aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. **Fitoterapia**, v. 73, n. 7-8, p. 564-568, 2002.

Ferreira, F. S., Santos, S. C., Barros, T. F., Rossi-Alva, J. C., Fernandez, L. G. Atividade antibacteriana in vitro de extratos de Rhizophora mangle L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 3, p. 305-310, 2011.

Foroughi, J.; Mirabedini, A.; Warren, H.. Hydrogels Fibers. In: Haider, S.; Haider, A.. **Hydrogels**. London: IntechOpen, 2018. Cap. 6. p. 121-140. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68817>. Acesso em: 25 mar. 2024.

Gaboriau, H. P.; Murakami, C. S.. Skin anatomy and flap physiology. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v. 34, n. 3, p. 555-569, 2001.

Gdalevitch, P.; Laeken, N. V.; Bahng, S.; Ho, A.; Bovill, E.; Lennox, P.; Brasher, P.; Macadam, S.. Effects of Nitroglycerin Ointment on Mastectomy Flap Necrosis in Immediate Breast Reconstruction. **Plastic And Reconstructive Surgery**, v. 135, n. 6, p. 1530-1539, 2015.

Goding, G.; Hom, D. B.. **Skin Flap Physiology**. 2016. Disponível em: <https://plasticsurgerykey.com/skin-flap-physiology/>. Acesso em: 20 mar. 2024.

Gözü, A.; Poda, M.; Taşkin, E. İ.; Turgut, H.; Erginel-Ünaltuna, N.; Doğruman, H.; Özsoy, Z.. Pretreatment with Octreotide Modulates iNOS Gene Expression, Mimics Surgical Delay, and Improves Flap Survival. **Annals Of Plastic Surgery**, v. 65, n. 2, p. 245-249, 2010.

Guimarães, E. B.. **Efeito fotoprotetor do ácido tântico em gel-creme e estudos de fluorescência, permeação e retenção cutânea in vitro**. 2022. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

Gwak, M. A.; Hong, B. M.; Park, W. H.. Hyaluronic acid/tannic acid hydrogel sunscreen with excellent anti-UV, antioxidant, and cooling effects. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 191, p. 918-924, 2021.

Hasirci, V.; Hasirci, N.. **Fundamentals of biomaterials**. NY: Springer New York, 2018. 338 p.

Hoffman, A. S.. The origins and evolution of “controlled” drug delivery systems. **Journal Of Controlled Release**, v. 132, n. 3, p. 153-163, 2008.

Honrado, C. P.; Murakami, C. S.. Wound healing and physiology of skin flaps. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 13, n. 2, p. 203-214, 2005.

Hoop, M.; Walde, C. F.; Riccò, R.; Mushtaq, F.; Terzopoulou, A.; Chen, X. -Z.; Demello, A. J.; Doonan, C. J.; Falcaro, P.; Nelson, B. J.; Puigmartí-Luís, J.; Pané, S.. Biocompatibility characteristics of the metal organic framework ZIF-8 for therapeutical applications. **Applied Materials Today**, v. 11, p. 13-21, 2018.

Hoseinpour, V.; Shariatinia, Z.. Applications of zeolitic imidazolate framework-8 (ZIF-8) in bone tissue engineering: a review. **Tissue And Cell**, v. 72, n. 101588, p. 1-13, 2021.

Ibrahim, A. M. S.; Kim, P. S.; Rabie, A. N.; Lee, B. T.; Lin, S. J.. Vasopressors and Reconstructive Flap Perfusion. **Annals Of Plastic Surgery**, v. 73, n. 2, p. 245-248, 2014.

IBGE (ed.). **Manual Técnico de Vegetação Brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. 272 p.

Jayachandrababu, K. C.; Sholl, D. S.; Nair, S.. Structural and Mechanistic Differences in Mixed-Linker Zeolitic Imidazolate Framework Synthesis by Solvent Assisted Linker Exchange and de Novo Routes. **Journal Of The American Chemical Society**, v. 139, n. 16, p. 5906-5915, 2017.

Jing, W; Xiaolan, C.; Yu, C.; Feng, Q.; Haifeng, Y.. Pharmacological effects and mechanisms of tannic acid. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 154, p. 113561, 2022.

Johns Hopkins Medicine (Baltimore) (org.). **Anatomy of the Skin**: skin layers diagram. Skin Layers Diagram. 2024. Disponível em: <https://www.hopkinsmedicine.org/health/skin/anatomy-of-the-skin>. Acesso em: 29 mar. 2024.

Junqueira, L. C. U.; Carneiro, J. **Histologia Básica – Texto & Atlas**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2013. 556 p.

Kaur, H.; Mohanta, G. C.; Gupta, V.; Kukkar, D.; Tyagi, S.. Synthesis and characterization of ZIF-8 nanoparticles for controlled release of 6-mercaptopurine drug. **Journal Of Drug Delivery Science And Technology**, v. 41, p. 106-112, 2017.

Kaushik, K.; Sharma, R. B.; Agarwal, S.. Natural Polymers and their Applications. **International Journal Of Pharmaceutical Sciences Review And Research**, v. 37, n. 2, p. 30-36, 2016.

Khan, N. S.; Ahmad, A.; Hadi, S. M.. Anti-oxidant, pro-oxidant properties of tannic acid and its binding to DNA. **Chemico-Biological Interactions**, v. 125, n. 3, p. 177-189, 2000.

Kim, T. J.; Silva, J. L.; Jung, Y. S.. Enhanced functional properties of tannic acid after thermal hydrolysis. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 116-120, 2011.

Kolmykov, O.; Commenge, J. -M.; Alem, H.; Girot, E.; Mozet, K.; Medjahdi, G.; Schneider, R.. Microfluidic reactors for the size-controlled synthesis of ZIF-8 crystals in aqueous phase. **Materials & Design**, v. 122, p. 31-41, 2017.

Labieniec, M.; Gabryelak, T.; Falcioni, G.. Antioxidant and pro-oxidant effects of tannins in digestive cells of the freshwater mussel *Unio tumidus*. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, v. 539, n. 1-2, p. 19-28, 2003.

Lacroix, M.; Tien, C. L.. Edible films and coatings from non-starch polysaccharides. In: Han, J. H. (ed.). **Innovations in Food Packaging**. London: Academic Press, 2005. Cap. 20. p. 338-361.

Laftah, W. A.; Hashim, S.; Ibrahim, A. N.. Polymer Hydrogels: a review. **Polymer-Plastics Technology And Engineering**, v. 50, n. 14, p. 1475-1486, 2011.

Lee, K. Y.; Mooney, D. J.. Alginate: Properties and biomedical applications. In **Progress in Polymer Science (Oxford)**: Elsevier Ltd. v. 37, n. 1, p. 106-126, 2012.

Lee, J. -H.; You, H. -J.; Lee, T. -Y.; Kang, H. J.. Current Status of Experimental Animal Skin Flap Models: ischemic preconditioning and molecular factors. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 5234, 2022.

Li, J.; Mooney, D. J.. Designing hydrogels for controlled drug delivery. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 12, p. 16071, 2016.

Lima, G. da C., M. A. S. da Costa, J. B. da S. Júnior, R. B. da Silva, I. A. de Souza, A. F. M. de Oliveira, and J. P. de Medeiros. "Perfil fitoquímico, atividades citotóxica e genotóxica do extrato aquoso de *Rhizophora mangle* L / Phytochemical screening, cytotoxic and genotoxic activity of the aqueous extract of *Rhizophora mangle* L.". **Brazilian Journal of Development**, vol. 7, n. 3, p. 26458-74, 2021.

Lin, J.; Jia, Chang; Wang, Y.; Jiang, S.; Jia, Z.; Chen, N.; Sheng, S.; Li, S.; Jiang, L.; Xu, H.; Zhou, K.; Chen, Y.. Therapeutic potential of pravastatin for random skin flaps necrosis: involvement of promoting angiogenesis and inhibiting apoptosis and oxidative stress. **Drug Design, Development And Therapy**, v. 13, n. 1, p. 1461-1472, 2019a.

Lin, J.; Lin, R.; Li, S.; Wu, H.; Ding, J.; Xiang, G.; Li, S.; Wang, Y.; Lin, D.; Gao, W.; Kong, J.; Xu, H.; Zhou, K.. Protective effects of resveratrol on random-pattern skin flap survival: an experimental study. **American journal of translational research**, v. 1, n 11, p. 379-392, 2019b.

Lorenzo, C. A.; Concheiro, A.. Smart drug delivery systems: from fundamentals to the clinic. **Chem. Commun.**, v. 50, n. 58, p. 7743-7765, 2014.

Lu, W. W.; Ip, W. Y.; Holmes, A. D.; Chow, S. P.; Jing, W. M.. Biomechanical properties of thin skin flap after basic fibroblast growth factor (bFGF) administration. **British Journal Of Plastic Surgery**, v. 53, n. 3, p. 225-229, 2000.

Lucas, J. B.. The Physiology and Biomechanics of Skin Flaps. **Facial Plastic Surgery Clinics of North America**, v. 25, n. 3, p. 303-311, 2017.

Luo, Z.; Bian, Y.; Zheng, G.; Wang, H.; Yan, B.; Su, W.; Dong, W.; Hu, Z.; Ding, J.; Wang, A.; Li, S.; Fu, W.; Xue, J.. Chemically Modified SDF-1 $\alpha$  mRNA Promotes Random Flap Survival by Activating the SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 Axis in Rats. **Frontiers In Cell And Developmental Biology**, v. 9, n. 623959, p. 1-16, 2021.

Machado, M. M. D.. **Degradação biológica de polifenóis**: isolamento e caracterização de bactérias mesofílicas e termofílicas de água de cozedura de cortiça. 2005. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2005.

Marinho, A. G. C.. **Rhizophora mangle e ácido tântico: uma associação em creme para o tratamento de feridas**. 2018. 106 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

Marrero, E.; Sánchez, J.; Armas, E. de; Escobar, A.; Melchor, G.; Abad, M. J.; Bermejo, P.; Villar, A. M.; Megías, J.; Alcaraz, M. J.. COX-2 and sPLA2 inhibitory activity of aqueous extract and polyphenols of Rhizophora mangle (red mangrove). **Fitoterapia**, v. 77, n. 4, p. 313-315, 2006.

Masaoka, K.; Asato, H.; Umekawa, K.; Imanishi, M.; Suzuki, A.. Value of remote ischaemic preconditioning in rat dorsal skin flaps and clamping time. **Journal Of Plastic Surgery And Hand Surgery**, v. 50, n. 2, p. 107-110, 2016.

Mattos, T. C. G.. **Mecanismos da ação antioxidante dos ácidos caféico e tântico em sistemas contendo íons ferro**. 2009. 206 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

Melchor, G.; Armenteros, M.; Fernández, O.; Linares, E.; Fragas, I.. Antibacterial activity of Rhizophora mangle bark. **Fitoterapia**, v. 72, n. 6, p. 689-691, 2001.

McCloud. T.; Nemec J.; Muschik G.; Sheffield H.; Quesenberry P.; Suffness M., et al. Extraction of bioactive molecules from plants. **Proceedings of the International Congress on Natural Products Research**, p. 17-21, 1988.

McFarlane, R. M.; DeYoung, G.; Henry, R. A.. The design of a pedicle flap in the rat to study necrosis and its prevention. **Plastic And Reconstructive Surgery**, v. 35, n. 2, p. 177-182, 1965.

McKinlay, A. C.; Morris, R. E.; Horcajada, P.; Férey, G.; Gref, R.; Couvreur, P.; Serre, C.. BioMOFs: metal-organic frameworks for biological and medical applications. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, n. 36, p. 6260-6266, 2010.

Mendonça, R. J.; Coutinho-Netto, J.. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 257-262, 2009.

Mobaraki, M.; Bizari, D.; Soltani, M.; Khshmohabat, H.; Raahemifar, K.; Amirdehi, M. A.. The Effects of Curcumin Nanoparticles Incorporated into Collagen-Alginate Scaffold on Wound Healing of Skin Tissue in Trauma Patients. **Polymers**, v. 13, n. 24, p. 4291, 2021.

Moore, K. L.; Dalley, A. F.; Agur, A. M. R.. **Moore**: Anatomia orientada para a clínica. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2019. 1095 p.

Naus, P. J.; Henson, R.; Bleeker, G.; Wehbe, H.; Meng, F.; Patel, T.. Tannic acid synergizes the cytotoxicity of chemotherapeutic drugs in human cholangiocarcinoma by modulating drug efflux pathways. **Journal Of Hepatology**, v. 46, n. 2, p. 222-229, 2007.

Neves, R. C. S.. **Plataforma multifuncional a base de gel aplicada à terapia fotodinâmica e fototérmica para câncer de pele**. 2019. 160 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

Nicolau, J. A. Z.; Faria, P. F.; Marques, L. O.; Hoepers, D. F.; Rocha, A. D.; Sobral, A. C. L.. Análise do efeito do estradiol e progesterona tópicos na cicatrização de feridas em ratos. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 6, n. 2, p. 126-129, 2014.

Okuda, T.; Ito, H.. Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants—Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. **Molecules**, v. 16, n. 3, p. 2191-2217, 2011.

Oliveira, C.; Sousa, D.; Teixeira, J. A.; Ferreira-Santos, P.; Botelho, C. M.. Polymeric biomaterials for wound healing. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 11, n. 1136077, p. 1-19, 2023a.

Oliveira, J. A. V.. **Aplicação da Rhizophora mangle associada ao biopolímero de betaglucana em retalhos cutâneos isquêmicos em ratos**. 2018. 87 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

Oliveira, J. A. V.; Santana, E. S.; Silva, L. A.; Fernandes, F. H. P.; Lira, E. C.; Vieira, J. R. C.. Ischemic skin flaps: what to use to save them? a narrative review. **Revista Foco**, v. 16, n. 1(e728), p. 1-16, 17, 2023b.

Olatunji, O. (ed.). **Natural Polymers**: industry techniques and applications. Lagos: Springer Cham, 2016. 370 p. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-26414-1>. Acesso em: 17 maio 2025.

Park, K. S.; Ni, Z.; Côté, A. P.; Choi, J. Y.; Huang, R.; Uribe-Romo, F. J.; Chae, H. K.; O'keeffe, M.; Yaghi, O. M.. Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, v. 103, n. 27, p. 10186-10191, 2006.

Peppas, N. A.; Bures, P.; Leobandung, W.; Ichikawa, H.. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 27-46, 2000.

Pires, A. L. R.; Bierhalz, A. C. K.; Moraes, Â. M.. Biomaterials: types, applications, and market. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

Pu, C.; Liu, C.; Liang, C.; Yen, Y.; Chen, S.; Jiang-Shieh, Y.; Chien, C. -L.; Chen, Y. - C.; Chen, Y. -L.. Adipose-Derived Stem Cells Protect Skin Flaps against Ischemia/Reperfusion Injury via IL-6 Expression. **Journal Of Investigative Dermatology**, v. 137, n. 6, p. 1353-1362, 2017.

Qi, Z.; Gu, Y.; Kim, D.; Hiura, A.; Sumi, S.; Inoue, K.. The Effect of Fibrin on the Survival of Ischemic Skin Flaps in Rats. **Plastic And Reconstructive Surgery**, v. 120, n. 5, p. 1148-1155, 2007.

Qian, Q.; Asinger, P. A.; Lee, M. J.; Han, G.; Rodriguez, K. M.; Lin, S.; Benedetti, F. M.; Wu, A. X.; Chi, W. S.; Smith, Z. P.. MOF-Based Membranes for Gas Separations. **Chemical Reviews**, v. 120, n. 16, p. 8161-8266, 2020.

Regalado, A. I.; Sánchez, L. M.; MAncebo, B.. Rhizophora mangle L. (red mangrove): a species with potential therapeutic uses. **Journal Of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 4, n. 1, p. 1-17, 2016.

Rezende, R.; Rezende, M. C.; M. Filho, R.; Bárto, P. J. S.; Mendes, A.. Genetic algorithms for optimizing alginated-scaffolds for tissue engineering. **Chemical Engineering Transactions**, v. 17, p. 1305-1310, 2009.

Sá, J. G. de A.; Brandão, W. F. de M.; Santana, M. A. N.; da Silva, L. A.; de Santana, E. S.; da Silva, E. C.; de Carvalho, E. A. B.; de Carvalho, E. A. B.. Avaliação da citotoxicidade e caracterização do perfil fitoquímico de *Rhizophora mangle* L. do mangue brasileiro. **Seven Editora**, p. 528-539, 2023.

Sahiner, N.; Sagbas, S.; Sahiner, M.; Silan, C.; Aktas, N.; Turk, M.. Biocompatible and biodegradable poly(Tannic Acid) hydrogel with antimicrobial and antioxidant

properties. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 150-159, 2016.

Sánchez, L. M. P.; Melchor, G.; Alvarez, S.; Bulnes, C.. Chemical and toxicological characterization of one wound healing formulation form *Rhizophora mangle* L. **Rev. Salud Anim.**, v. 20, n. 2, p. 69-72, 1998.

Santana, E. S.; Leal, L. B.; Silva, L. A.; Barbosa, I. C. F.; Melo, C. M. L.; Santos, D. K. D. N.; Vieira, J. R. C.. Association of *Rhizophora mangle* and ascorbic acid in hydrogels: evaluation of cytotoxic and immunomodulatory effects. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v. 59, n. e20179, p. 1-14, 2023.

Schein, O.; Westreich, M.; Shalom, A.. Effect of intradermal human recombinant copper-zinc superoxide dismutase on random pattern flaps in rats. **Head & Neck**, v. 35, n. 9, p. 1265-1268, 2012.

Sershen, S.; West, J.. Implantable, polymeric systems for modulated drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 9, p. 1225-1235, 2002.

Silva, L. A.. **Aplicação de hidrogel de *Rhizophora mangle* L. na prevenção de necrose em retalhos cutâneos isquêmicos**. 2020. 95 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia, Histologia e Embriologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

Silva, L. A.; Lira, E. C.; Leal, L. B.; Santana, E. S.; Barbosa, I. C. F.; Silva, Y. J. A.; A. Junior, S.; Vieira, J. R. C.. Prevention of necrosis in ischemic skin flaps using hydrogel of *Rhizophora mangle*. **Injury**, v. 53, n. 7, p. 2462-2469, 2022.

Silva, Y. J. A.. **Design de ZIF-8-90 bioconjugada para drug delivery no tratamento da tuberculose pulmonar**. 2019. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

Tanaka, S.; Kimura, Y.; Fuku, K.; Ikenaga, N.; Nakagawa, K.. Zinc-imidazole-based metal-organic framework nanosheet membrane for H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> separation. **Iop Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 1318, n. 1, p. 012035, 2024.

Tian, Z.; Yao, X.; Zhu, Y.. Simple synthesis of multifunctional zeolitic imidazolate frameworks-8/graphene oxide nanocrystals with controlled drug release and photothermal effect. **Microporous And Mesoporous Materials**, v. 237, p. 160-167, 2017.

Törkvist, L.; Löfberg, R.; Raud, J.; Thorlacius, H.. Heparin protects against skin flap necrosis: relationship to neutrophil recruitment and anti-coagulant activity. **Inflammation Research**, v. 53, n. 1, p. 1-3, 2004.

Turolla, M. S. R.; Nascimento, E. S.. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

Ullah, F.; Othman, M. B. H.; Javed, F.; Ahmad, Z.; Akil, H.. Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 57, p. 414-433, 2015.

Vishakha, K.; Kishor, B.; Sudha, R.. Natural Polymers: a comprehensive review. **International Journal Of Research In Pharmaceutical And Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1597-1613, 2012.

Vlierberghe, S. V.; Dubrule, P.; Schacht, E.. Biopolymer-Based Hydrogels As Scaffolds for Tissue Engineering Applications: a review. **Biomacromolecules**, v. 12, n. 5, p. 1387-1408, 2011.

Williams, D. F.. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897-5909, 2009.

Wikimedia Commons contributors (org.). **File:Tannic acid.svg**. 2020. Disponível em: <https://w.wiki/9ZS2>. Acesso em: 25 mar. 2024.

Yaghi, O., Li, G. & Li, H.. Selective binding and removal of guests in a microporous metal-organic framework. **Nature**, v. 378, n. 6558, p. 703-706, 1995.

Yang, J.; Yang, Y. -W.. Metal-Organic Frameworks for Biomedical Applications. **Small**, v. 16, n. 10, p. 1906846, 2020.

Youness, R. A.; Kamel, R.; Elkasabgy, N. A.; Shao, P.; Farag, M. A.. Recent Advances in Tannic Acid (Gallotannin) Anticancer Activities and Drug Delivery Systems for Efficacy Improvement; A Comprehensive Review. **Molecules**, v. 26, n. 5, p. 1486, 2021.

Zaidi, Z.; Lanigan, S. W.. Skin: structure and function. In: **Dermatology in Clinical Practice**. London: Springer London, 2010. Cap. 1. p. 1-15.

## ANEXO A – CARTA DE ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA



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

Recife, 17 de junho de 2025

Ofício nº 68/25

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

Prof. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira  
 Departamento de Histologia e Embriologia/ CB  
 Processo nº0072/2023

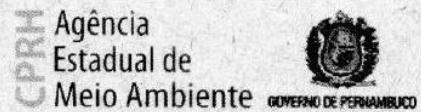
Certificamos que a proposta intitulada **“Análise debiomateriais na prevenção de necrose em Retalhos Cutâneos Isquêmicos em ratos”**. Registrado com nº0072/2023 sob a Responsabilidade do Prof. **Jeymesson Raphael Cardoso Vieira**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), Ad referendum em **03/06/2025**

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| Finalidade                          | ( <input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica           |
| Vigência da autorização             | 01/01/2024 a 31/01/2025   |
| Espécie/linhagem/raça               | Rato heterogênico wistar (Rattus Norvegicus)  |
| Nº de animais                       | 30 Animais  |
| Peso/Idade                          | 220-275g/ 8-12 semanas  |
| Sexo                                | Macho (30)  |
| Origem: Biotério de Criação         | Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE                                       |
| Destino: Biotério de Experimentação | Laboratório Neuroendocrinologia e Metabolismo do departamento de Fisiologia e farmacologia CCS/UFPE |

Atenciosamente

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

## ANEXO B – AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES CIENTÍFICAS



CA DRFB Nº 120/2014

24 de outubro de 2014.

Ao Senhor

**JEYMESSON RAPHAEL CARDOSO VIEIRA**

Prezado Senhor,

Cumprimentando Vossa Senhoria, nos reportamos ao Processo CPRH nº 013520/2014, referente ao requerimento para realização de atividades de pesquisa na APA de Santa Cruz e na APA Estuarina de Santa Cruz, sendo o local de coleta às margens do Canal de Santa Cruz e Rio Paripe, próximo a Vila Velha, Ilha de Itamaracá - PE.

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

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

Atenciosamente,

*Cinthia Renata Vieira de Lima*  
CINTHIA RENATA VIEIRA DE LIMA

Diretoria de Recursos Florestais e Biodiversidade