

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO -  
PROPIEX**

**DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE  
MATERIAIS - PPGCEM**

**NATÁLIA MORELLI POSSOLLI**

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS ELETROFIADAS FUNCIONAIS PARA  
APLICAÇÃO EM FERIDAS CRÔNICAS CONTAMINADAS**

**CRICIÚMA  
2025**

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO -**  
**PROPIEX**  
**DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU***  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE**  
**MATERIAIS - PPGCEM**

**NATÁLIA MORELLI POSSOLLI**

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS ELETROFIADAS FUNCIONAIS PARA**  
**APLICAÇÃO EM FERIDAS CRÔNICAS CONTAMINADAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Sabrina Arcaro

Coorientador: Prof.<sup>o</sup> Dr. Paulo Cesar Lock  
Silveira

**CRICIÚMA**

**2025**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

P856d Possolli, Natália Morelli.

Desenvolvimento de membranas eletrofiadas funcionais para aplicação em feridas crônicas contaminadas / Natália Morelli Possolli. - 2025.

101 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Criciúma, 2025.

Orientação: Sabrina Arcaro.

Coorientação: Paulo Cesar Lock Silveira.

1. Materiais biomédicos. 2. Engenharia tecidual. 3. Feridas crônicas - Tratamento. 4. Cicatrização de feridas. 5. Curativos. 6. Nanopartículas de prata - Uso terapêutico. 7. Vidro bioativo. 8. Membranas eletrofiadas. I. Título.

CDD 23. ed. 610.28

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101  
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

Natália Morelli Possolli

Desenvolvimento de membranas eletrofiadas funcionais para aplicação em feridas crônicas contaminadas.

Esta Dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de Mestre(a) em Ciência e Engenharia de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - PPGCEM (Área de concentração: Tecnologia de Materiais) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Criciúma, SC, 13 de junho de 2025.

### **Banca Examinadora:**

Documento assinado digitalmente



**OSCAR RUBEM KLEGUES MONTEDO**

Data: 13/06/2025 17:04:25-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

### **Prof. Dr. Oscar Rubem Klegues Montedo**

Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

Documento assinado digitalmente



**ELIDIO ANGIOLETTO**

Data: 22/07/2025 09:46:27-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

### **Prof. Dr. Elídio Angioletto**

Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

Documento assinado digitalmente



**RACHEL PASSOS DE OLIVEIRA SANTOS**

Data: 16/06/2025 19:11:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

### **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rachel Passos de Oliveira Santos**

Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

Dedico esta dissertação à minha família, em especial meus pais, Sílvia e José Luiz, e ao meu irmão Enrico.

## **Agradecimentos**

Finalizar essa etapa não é apenas mérito meu, mas de uma rede de apoio indispensável para que eu chegasse até aqui.

Agradeço primeiramente à minha família, em especial a meus pais, José Luiz e Sílvia, e meu irmão Enrico, pela compreensão e apoio nos longos períodos dedicados ao estudo e construção desta pesquisa.

Todos os integrantes do grupo CerTec, em especial, professores Oscar e Sabrina, por sempre buscarem o aprimoramento da infraestrutura, organização e disponibilidade dos recursos do laboratório, possibilitando o desenvolvimento máximo dos trabalhos dos alunos. Agradeço especialmente a Henrique, Januara, Renata, Ronaldo e Cibele, que não hesitaram em dedicar seu tempo, energia e empenho para me ajudar, sem eles, a realização deste trabalho não seria possível.

À minha orientadora, professora Sabrina; pelos direcionamentos e redirecionamentos; pelas conversas e conselhos que me acalmaram em momentos angustiantes; por ir além de cumprir seu papel de orientadora, reunindo carinho e sabedoria para me guiar nesta jornada. Ao meu coorientador professor Paulo, pelas experiências e orientações passadas.

Também sou grata aos meus amigos e colegas de trabalho, por trazerem momentos de descontração e alegria, necessários para continuar nesta caminhada.

**“E não me esquecer, ao começar o trabalho, de me preparar para errar. Não esquecer que o erro muitas vezes se havia tornado o meu caminho. [...] Meu erro, no entanto, devia ser o caminho de uma verdade: pois só quando erro é que saio do que conheço e do que entendo. Se a "verdade" fosse aquilo que posso entender - terminaria sendo apenas uma verdade pequena, do meu tamanho.”**

**Clarice Lispector**

## Resumo

Feridas crônicas podem ocorrer devido à inflamação prolongada, infecção e deficiência angiogênica, impactando gravemente a qualidade de vida e gerando altos custos de tratamento. A contaminação bacteriana retarda ainda mais a regeneração da pele, e o uso de antibióticos vem causando problemas ambientais e criando bactérias mais resistentes. No entanto, os tratamentos disponíveis não são eficazes para acelerar a regeneração de feridas crônicas, e ainda não existem curativos comercializados com eficácia comprovada nesse processo. Membranas eletrofiadas surgem como alternativa promissora por promoverem suporte celular para regeneração tecidual. A combinação de polímeros biocompatíveis com compostos bioativos e antimicrobianos busca superar limitações dos curativos convencionais. Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver membranas eletrofiadas de PCL/PEO incorporadas com vidro bioativo LZS ( $\text{Li}_2\text{O-ZrO}_2\text{-SiO}_2$ ) e nanopartículas de prata (AgNPs), com propriedades adequadas para o reparo de feridas crônicas contaminadas. Foram definidos parâmetros de eletrofição variando-se vazão e tensão, e produzidas membranas com PCL, PEO, LZS e AgNPs. As membranas foram caracterizadas por MEV, FTIR, DSC-TG, e testes em soluções fisiológicas (ICP-OES, pH, intumescimento e bioatividade). Foram avaliadas também citotoxicidade, migração celular e atividade antibacteriana. As condições de eletrofição foram 16 kV, 0,16 mL/min e 15 cm de distância entre agulha e coletor sob 21 °C. A incorporação de PEO foi confirmada por FTIR e aumentou a molhabilidade, reduzindo o ângulo de contato em 9°. A adição de LZS promoveu bioatividade, evidenciada pela formação de fosfato de cálcio após imersão em SBF. As membranas não apresentaram citotoxicidade. Não foi possível correlacionar a taxa de recobrimento do arranhão com LZS e AgNPs, possivelmente devido à variação morfológica. Houve liberação de 39 % dos íons de lítio e 4,5 % da prata contidas nas membranas em 48 h de imersão. A atividade antibacteriana não comprovou a eficácia da introdução de AgNPs, que teve sua liberação aquém do necessário para inibir as bactérias nas condições testadas. Sendo assim, obtiveram-se membranas eletrofiadas compostas por PCL, PEO, LZS e AgNPs que apresentaram liberação dos íons ativos em fluidos fisiológicos e bioatividade. Embora ainda sejam necessários aprimoramentos morfológicos e reavaliação para liberação de prata, os curativos produzidos têm potencial para serem aplicados no tratamento de feridas crônicas contaminadas.

**Palavras-chave:** Feridas crônicas; Vidro Bioativo; LZS; Nanopartículas de prata; Membranas eletrofiadas.

## Abstract

Chronic wounds may arise due to prolonged inflammation, infection, and impaired angiogenesis, severely affecting quality of life and resulting in high treatment costs. Bacterial contamination further delays skin regeneration, while the widespread use of antibiotics has led to environmental concerns and the emergence of more resistant bacterial strains. Current treatments are not effective in accelerating chronic wound healing, and no commercial dressings have yet demonstrated proven efficacy in this process. Electrospun membranes emerge as a promising alternative by providing cellular support for tissue regeneration. Combining biocompatible polymers with bioactive and antimicrobial compounds aims to overcome the limitations of conventional dressings. Therefore, this study aimed to develop electrospun PCL/PEO membranes incorporated with bioactive glass LZS ( $\text{Li}_2\text{O-ZrO}_2\text{-SiO}_2$ ) and silver nanoparticles (AgNPs), with suitable properties for the treatment of contaminated chronic wounds. Electrospinning parameters were defined by varying flow rate and voltage, and membranes containing PCL, PEO, LZS, and AgNPs were produced. The membranes were characterized by SEM, FTIR, DSC-TG, and physiological solution testing (ICP-OES, pH variation, swelling, and bioactivity). Cytotoxicity, cell migration, and antibacterial activity were also evaluated. The electrospinning conditions were 16 kV, 0.16 mL/min and distance between needle and collector of 15 cm under 21 °C. PEO incorporation was confirmed by FTIR and increased wettability, reducing the contact angle by 9°. The addition of LZS enhanced bioactivity, evidenced by calcium phosphate formation after SBF immersion. The membranes showed no cytotoxicity. It was not possible to correlate scratch closure rate with LZS and AgNPs possibly due to morphological variations. There was a release of 39 % of lithium ions and 4.5 % of silver from the membranes after 48 h in buffer solution. The antibacterial activity did not confirm the effectiveness of AgNP incorporation, as their release was below the level required to inhibit bacteria under the tested conditions. Thus, electrospun membranes composed of PCL, PEO, LZS, and AgNPs were obtained, showing active ion release in physiological fluids and bioactivity. Although morphological improvements and reassessment of silver release are still needed, the produced dressings show potential for application in the treatment of contaminated chronic wounds.

**Keywords:** Chronic wounds; Bioactive glass; LZS; Silver nanoparticles; Electrospun membranes.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Pele humana .....	21
Figura 2: Linha cronológica da cicatrização de feridas cutâneas humanas normais.	24
Figura 3: Comparação do processo de cicatrização entre ferida crônica e ferida normal. ....	25
Figura 4: Componentes básicos de um equipamento de eletrofiação.....	31
Figura 5: Representação esquemática da classificação dos biomateriais usando o exemplo de um parafuso de implante. ....	33
Figura 6: Estrutura química do PCL. ....	36
Figura 7: Estrutura química do PEG/PEO. ....	36
Figura 8: Liberação de AgNPs de nanofibras e mecanismos de ação em células microbianas.....	39
Figura 9: Micrografias das membranas eletrofiadas em uma vazão de 0,16 mL/min em diferentes tensões. a) 11 kV; b) 16 kV e c) 20 kV .....	53
Figura 10: Micrografias das membranas eletrofiadas em uma tensão de 16 kV em diferentes vazões. a) 0,07 mL/min; b) 0,12 mL/min e c) 0,16 mL/min .....	54
Figura 11: Micrografias das membranas eletrofiadas: a) PCL; b) PCL/PEO; c) LZS; d) 1Ag e e)LZS/Ag .....	55
Figura 12: Ângulo de contato formado entre gota de água e a superfície das membranas no instante 0 e 3s .....	57
Figura 13: Espectro de infravermelho por Transformada de Fourier das membranas produzidas.....	60
Figura 14: Aproximação da escala do espectro FTIR das membranas produzidas ..	61
Figura 15: Termograma obtido pela análise de DSC-TG para as membranas produzidas.....	62
Figura 16: Termograma obtido pela análise de DSC-TG referente à perda de massa para as membranas produzidas .....	63
Figura 17: Liberação de íons de lítio obtidas por ICP-OES para as membranas que contém LZS .....	65
Figura 18: Liberação de íons de prata obtidas por ICP-OES para as membranas que contém AgNP .....	66

Figura 19: Variação de pH após períodos de imersão das membranas em solução de PBS.....	67
Figura 20: Micrografias das membranas eletrofiadas após 3 e 21 dias de imersão em SBF: a) PCL; b) PCL/PEO; c) LZS; d) Ag e e)LZS/Ag .....	71
Figura 21: Imagem obtida por EDS da membrana Ag após 3 dias de imersão em SBF .....	72
Figura 22: Imagem obtida por EDS da membrana LZS após 21 dias de imersão em SBF .....	73
Figura 23: Capacidade de intumescimento das membranas após 24h de imersão em PBS.....	74
Figura 24: Degradação das diferentes membranas ao longo do tempo em solução de PBS a 37°C .....	75
Figura 25: Viabilidade celular das membranas produzidas em linhagem celular de fibroblasto (NIH3T3) murino .....	77
Figura 26: Micrografias do arranhão nos tempos 0 <sup>o</sup> h e 24 <sup>o</sup> h: a) Controle, b) PCL, c) PCL/PEO, d) LZS, e) Ag e f) LZS/Ag .....	78
Figura 27: Crescimento bacteriano para cada membrana e controles positivo e negativo. Expresso em % da densidade óptica a 600 nm obtida para o controle positivo .....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição de cada membrana e sua nomenclatura .....	43
Tabela 2: Variação do diâmetro de fibra, molhabilidade por ângulo de contato e porosidade das membranas com a tensão ao fixar a vazão em 0,16 mL/min.....	53
Tabela 3: Variação do diâmetro de fibra, molhabilidade por ângulo de contato e porosidade das membranas com a vazão ao fixar a tensão em 16 kV .....	54
Tabela 4: Porosidades e diâmetros de fibra das membranas produzidas .....	56
Tabela 5: Fechamento da ferida ( %) avaliado pela migração celular na presença das membranas. ....	80

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNP	Nanopartículas de prata
BG	Vidro bioativo
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
DM	Diabetes mellitus
DMEM	<i>Modified Eagle Medium</i>
DO	Densidade Óptica
DSC - TG	Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial e Termogravimétrica
ECM	Matriz extracelular
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier
ICP-OES	Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado
LZS	$\text{Li}_2\text{O-ZrO}_2\text{-SiO}_2$
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
ND	Curativo nanofibrado
NP	Nanopartículas
PBAT	Poli(butileno adipato co-tereftalato)
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PCL	Policaprolactona
PEO	Polietilenoglicol
PET	Polietileno tereftalato
PGA	Ácido poliglicólico
PHA	Poli-hidroxiácidos
PLA	Ácido polilactídeo
PLGA	Poli (ácido láctico-co-glicólico)
PVA	Álcool polivinílico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SBF	Fluido corporal simulado
UFC	Unidade formadora de colônia

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>20</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	20
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>21</b>
3.1	PELE.....	21
3.2	FERIDAS E CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS.....	22
3.3	CURATIVOS.....	27
3.4	ELETROFIAÇÃO.....	30
3.5	BIOMATERIAIS.....	33
<b>3.5.1</b>	<b>Polímeros bioabsorvíveis.....</b>	<b>34</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Vidros bioativos.....</b>	<b>36</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Biomateriais metálicos nanométricos.....</b>	<b>38</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
4.1	MATERIAIS.....	41
<b>4.1.1</b>	<b>Polímeros.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Solvente.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1.3</b>	<b>Vidro bioativo.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1.4</b>	<b>Nanopartículas de prata.....</b>	<b>42</b>
4.2	MÉTODOS.....	42
<b>4.2.1</b>	<b>Preparação das suspensões.....</b>	<b>42</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Eletrofiação.....</b>	<b>43</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Caracterização das membranas eletrofiadas.....</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>52</b>
5.1	PARÂMETROS DA ELETROFIAÇÃO.....	52
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS.....	54
<b>5.2.1</b>	<b>Análises morfológicas.....</b>	<b>54</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Molhabilidade por ângulo de contato.....</b>	<b>56</b>
<b>5.2.3</b>	<b>Análise dos grupos funcionais.....</b>	<b>59</b>
<b>5.2.4</b>	<b>Análise térmica.....</b>	<b>61</b>

5.3	LIBERAÇÃO DE ÍONS.....	63
5.4	ANÁLISE DE PH DA SUPERFÍCIE.....	67
5.5	BIOATIVIDADE .....	69
5.6	CAPACIDADE DE INTUMESCIMENTO .....	73
5.7	DEGRADAÇÃO.....	75
5.8	CITOTOXICIDADE.....	76
5.9	MIGRAÇÃO CELULAR .....	77
5.10	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA .....	80
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>83</b>
<b>7</b>	<b>TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>85</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atuando como barreira química, física e biológica, a pele é o maior órgão do corpo humano. Além disso, possui mecanismos de defesa importantes tanto para a proteção contra infecções quanto para reparo tecidual. De maneira geral, a pele é formada por três principais camadas, a mais externa é a epiderme, formada basicamente por células epiteliais. Abaixo, se encontra a derme, camada mais espessa que abriga os folículos capilares, glândulas sebáceas e sudoríparas, assim como fibroblastos e células do sistema imunológico. Os fibroblastos são responsáveis por sintetizar uma matriz extracelular (ECM) composta por proteínas como o colágeno, que promove integridade da estrutura da derme. A hipoderme é onde se encontra a gordura subcutânea. Essa última camada é principalmente composta por adipócitos e também contém células do sistema imunológico (Nguyen e Soulika, 2019).

Uma desintegração na função de defesa da pele é o que se chama de ferida. A resposta do corpo para essa desintegração consiste em quatro principais etapas que levam à reparação do tecido danificado, elas englobam a interrupção do sangramento, a eliminação de bactérias, reconstrução do tecido conjuntivo e de vasos sanguíneos, e a remodelação do tecido cicatricial formado (Sorg *et al.*, 2017). O processo de cicatrização é afetado por fatores locais da ferida assim como fatores sistêmicos, como nutrição, idade e condições patofisiológicas. A *diabetes mellitus* (DM) promove efeitos sistêmicos que incluem a hiperglicemia, neuropatia e adaptação vascular prejudicada, que impactam na cicatrização de feridas de forma a prejudicar as etapas da reconstrução tecidual (Matoori, Veves e Mooney, 2021). As feridas podem ser agudas, quando seguem uma cicatrização ordenada, com infecções sendo contidas pelo sistema imunológico, e que recuperam sua integridade anterior naturalmente. As chamadas feridas crônicas são as que sofrem perturbações nos processos de cicatrização, não alcançando a integridade funcional anterior da pele (Hurlow e Bowler, 2022).

A DM, doenças vasculares e lesões de pressão são as principais causadoras de feridas crônicas. A falha na cicatrização dessas feridas está associada a respostas de inflamação prolongada e deficiência angiogênica, que limita o suprimento de oxigênio e nutrientes (Eming, Martin e Tomic-Canic, 2014). A desorganização da ECM também implica no impedimento da migração e proliferação celular no local da lesão (Jiang *et al.*, 2021), assim como infecções persistentes

incluindo a presença de bactérias patogênicas e com propriedades aderentes, como os biofilmes (Sibbald *et al.*, 2011). Os tratamentos convencionais de debridamento e recobrimento com curativos comuns carecem de bioatividade e falham em tratar biofilmes e inflamações (Aswathanarayan *et al.*, 2022). Essas lesões não cicatrizantes muitas vezes levam à amputação de membros inferiores, afetando significativamente a qualidade de vida, além de demandarem altos custos para seu tratamento. O gasto global com essas feridas pode chegar a 11,05 bilhões de dólares em 2027 (Burgess *et al.*, 2021). No Brasil, o Ministério da Saúde reportou que a cada minuto duas pessoas são submetidas a um procedimento de amputação devido a pequenas lesões infectadas que não foram tratadas da maneira adequada. O número de amputações em um ano gera um custo de R\$ 18,2 milhões para o sistema público de saúde brasileiro, representando 38,4 % do custo total (Otaviano *et al.*, 2021).

O tratamento padrão atual para essas lesões que não cicatrizam consiste em cuidado local na ferida e otimização do controle metabólico, sendo indicado debridamento da ferida e aplicação de algum curativo que mantenha o local úmido, como gazes de algodão. Quando não há resposta positiva na cicatrização, são indicados curativos biológicos, que promovem cuidado mais intenso. Apenas quatro produtos são aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) ou Administração de Alimentos e Medicamentos, atuante nos Estados Unidos. Apesar de serem amplamente utilizados, o custo para o uso desses produtos é elevado, e a proporção de pacientes que não respondem ao tratamento é elevada. Além disso, a recorrência desse tipo de lesão ainda é um problema (Matoori, Veves e Mooney, 2021).

As matrizes de bioengenharia são tecidos sintéticos que imitam a pele e permitem alta interação com fibroblastos e citocinas, atuando como a ECM original presente na pele (Stetkevich *et al.*, 2023). Essas matrizes podem ser obtidas, mais comumente, pelos métodos de evaporação de solvente, eletrofiação, eletropulverização e impressão 3D (Naseri e Ahmadi, 2022).

Uma das técnicas de fabricação de membranas que tem potencial para tratamento de lesões epiteliais que vem sendo investigada nos últimos anos é o *electrospinning* (eletrofiação). Esse processo possibilita a formação de uma rede de fibras sobrepostas, estrutura que facilita a adesão e infiltração celular nos seus interstícios, levando ao desenvolvimento de nova pele. Os chamados curativos nanofibrados são uma coleção de fibras com diâmetros variando de nanômetros a micrômetros; essa configuração possibilita produtos flexíveis e macios, com micro-

porosidade e alta área superficial (Rahmati *et al.*, 2021). A porosidade e capacidade de encapsular medicamentos ou biomoléculas dentro das fibras, de forma fácil e de baixo custo chama atenção para o uso deste método para o tratamento de problemas relacionados à pele, em especial para pacientes com diabetes (Vellayappan *et al.*, 2016).

A seleção de materiais para a produção de membranas por eletrofiação aplicáveis em tratamentos de reparo tecidual deve ser criteriosa ao definir propriedades compatíveis com o tecido a ser aplicado e que promovam respostas biológicas adequadas para alcançar a cicatrização. É preciso que o material seja biocompatível, biodegradável, não citotóxico e quimicamente compatível com soluções fisiológicas relevantes. Para a eletrofiação, são utilizadas soluções poliméricas diversas, que podem ser de polímeros com origem sintética, como o ácido polilactídeo (PLA), ácido poliglicólico (PGA), policaprolactona (PCL), polietilenoglicol (PEO) e álcool polivinílico (PVA). Já os principais polímeros de origem natural para eletrofiação e aplicação na cicatrização de feridas são colágeno, quitosana, ácido hialurônico, celulose e alginato. Há algumas limitações no uso de polímeros naturais, como a maior dificuldade de processamento e propriedades mecânicas aquém do desejado (Juncos Bombin, Dunne e McCarthy, 2020).

Policaprolactona (PCL) é um poliéster semicristalino de fácil processamento, por ser solúvel em diversos solventes. Possui uma temperatura de fusão entre 55 e 60 °C e se submete à degradação hidrolítica em uma taxa relativamente baixa, entre 2 e 3 anos. Esse polímero vem sendo amplamente investigado para aplicação em *scaffolds* para engenharia tecidual por sua excelente biocompatibilidade, baixa taxa de degradação, alta permeabilidade para medicamentos, não toxicidade e capacidade de formar misturas homogêneas com uma ampla faixa de polímeros (Nair e Laurencin, 2007). Sua solubilidade em alguns “*green solvents*” como o ácido fórmico e o ácido acético, são importantes para um processamento com menor impacto ambiental e toxicidade. Entretanto, sua natureza hidrofóbica pode limitar sua aplicação como membrana para tratamento de feridas, visto que, especialmente para feridas crônicas de diabéticos, é necessário que seja mantido úmido o local da lesão. Nesse sentido, uma das formas de melhorar esse aspecto é sua mistura com um polímero hidrofílico. O PEO é um polímero biocompatível com alta hidrofiliicidade; porém, sua rápida taxa de degradação prejudica seu uso como único componente de uma membrana. A adição de frações

de PEO ao PCL desenvolve hidrofiliçidade na membrana desenvolvida, a adequando para engenharia tecidual (Sowmya e Panda, 2022b).

Embora apresente muitas vantagens para ser usado como biomaterial, o PCL não é bioativo (Chouzouri e Xanthos, 2007). Uma das principais estratégias para usufruir dos benefícios do polímero e ainda acelerar a regeneração tecidual (bioatividade) é a combinação com substâncias inorgânicas bioativas (Chen *et al.*, 2019; Chouzouri e Xanthos, 2007; Ghorbani *et al.*, 2023; Homaeigohar, Li e Boccaccini, 2022; Jana *et al.*, 2022; Moura *et al.*, 2017; Naseri, Lepry e Nazhat, 2017). A bioatividade na cicatrização da pele pode trazer benefícios chaves como a promoção da angiogênese, estimulação dos fibroblastos para reestruturação da ECM e aumento da viabilidade e proliferação celular (Shakiba *et al.*, 2024). Dentre esses materiais com bioatividade, os vidros bioativos (BGs), que além de promoverem reparação de tecidos duros, vem sendo avaliados quanto à capacidade de regeneração de tecidos moles, em especial a pele (Naseri, Lepry e Nazhat, 2017). A bioatividade desses materiais consiste na ligação química com o tecido hospedeiro por meio da formação de uma camada de hidroxiapatita em sua superfície após a implantação no corpo (Kokubo e Takadama, 2006a).

Os BGs mais utilizados são o Bioglass® 45S5, a base de silicato e o 13-93B3, a base de borato. Aponta-se que a já conhecida habilidade de liberação de íons provenientes dos BGs pode estimular o processo de hemostasia, angiogênese, migração de células epiteliais, proliferação de fibroblastos e atividade antibacteriana (Naseri, Lepry e Nazhat, 2017). Os vidros do sistema LZS ( $\text{Li}_2\text{O}-\text{ZrO}_2-\text{SiO}_2$ ) são uma nova classe de vidros bioativos que estão recentemente sendo estudadas (Arcaro *et al.*, 2016a; Arcaro *et al.*, 2016b; Arcaro *et al.*, 2017). Esse sistema vitrocerâmico teve sua bioatividade comprovada, além de não ser citotóxico (Possolli *et al.*, 2021). Não existe estudos ainda que investiguem a capacidade desse sistema para aplicação em tratamento de feridas e, sabendo de sua habilidade de formação de camada de hidroxiapatita quando em contato com fluido corporal simulado (SBF), deseja-se avaliar o potencial do LZS para promover a aceleração de cicatrização tecidual.

A incorporação de componentes antibacterianos para combater e prevenir infecções no local de ferida também se destaca como estratégia de funcionalizar membranas eletrofiadas (Mohammadi *et al.*, 2016). O uso de antibióticos vem levantando preocupações quanto ao surgimento de novos microrganismos patogênicos resistentes à medicamentos. Uma alternativa para evitar corroborar com

o aumento de resistência à antibióticos e ainda alcançar melhores respostas biológicas na cicatrização tecidual, é a adição de nanopartículas (NPs) com propriedades antibacterianas em membranas eletrofiadas, principalmente de prata e zinco (Cai *et al.*, 2023).

Nanopartículas de prata (AgNPs) apresentam uma forte atividade antimicrobiana, danificando o RNA e DNA das bactérias e impedindo sua reprodução. Além disso, as fibras de membranas poliméricas eletrofiadas podem potencializar o efeito da aplicação de nanopartículas antibacterianas (Villarreal-Gómez *et al.*, 2021).

Nesse contexto, pela primeira vez, membranas eletrofiadas funcionais compostas por PCL, PEO, vidro bioativo do sistema LZS e AgNPs foram desenvolvidas, visando obter-se propriedades específicas para reparo tecidual de feridas crônicas contaminadas.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é desenvolver membranas eletrofiadas de policaprolactona (PCL) e polietilenoglicol (PEO), incorporando partículas de vidro bioativo do sistema LZS e nanopartículas de prata (AgNPs), com propriedades adequadas para aplicação para reparo tecidual de feridas crônicas contaminadas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

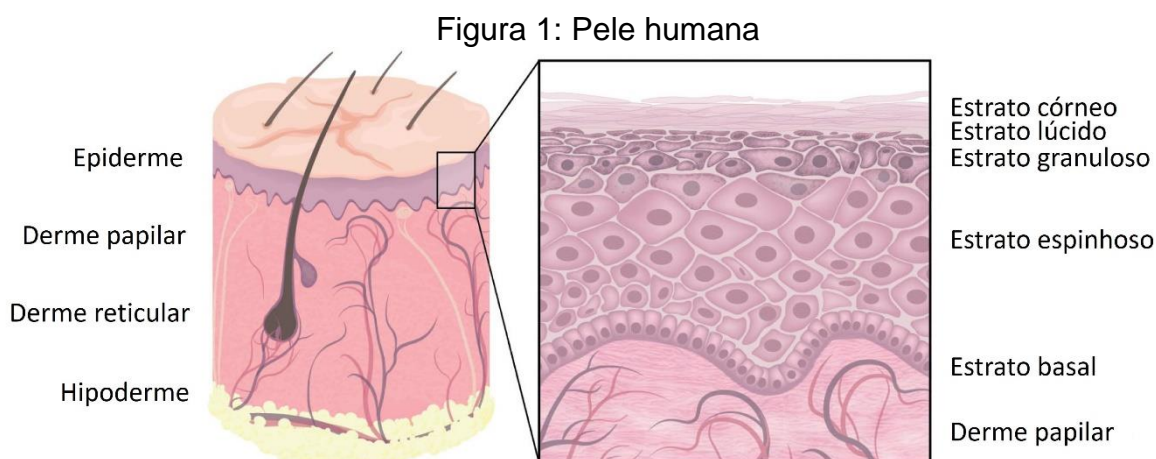
Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Determinar as melhores condições do processamento de eletrofição de membranas de PCL;
- Investigar a influência do PEO na molhabilidade da superfície das membranas;
- Analisar o efeito da adição do vidro bioativo na bioatividade das membranas;
- Avaliar a atividade antimicrobiana das membranas com e sem presença de AgNPs;
- Investigar citotoxicidade, migração e proliferação celular nas membranas produzidas.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PELE

Com uma área de aproximadamente 2 m<sup>2</sup>, a pele é o maior órgão do corpo humano (Wang *et al.*, 2021). Sua função principal é atuar como uma barreira protetiva química, física e imunológica entre o interior e exterior do corpo (Lee e Kim, 2022). Promove uma ampla variedade de complexas funções, ao mesmo tempo em que separa os tecidos internos do ambiente externo, garante a passagem de substâncias e o recebimento de estímulos. Protege contra agentes biológicos, como microrganismos patogênicos, agentes químicos que possam corroer e irritar, e fatores físicos como radiação e fatores mecânicos e térmicos. A barreira epidérmica e glândulas sudoríparas são importantes para controle de água e equilíbrio de eletrólitos. A pele também é responsável pela termorregulação do corpo, além de respostas imunológicas e sensoriais (Michalak *et al.*, 2021). Sua estrutura pode ser dividida em três principais camadas, a epiderme, derme (papilar e reticular) e hipoderme, conforme apresentado na Figura 1.



Fonte: Adaptado de Pfisterer *et al.* (2021)

A epiderme é composta majoritariamente por queratinócitos, células que produzem queratina, proteína estrutural que confere resistência mecânica à pele. Sendo a camada mais externa, é responsável pela proteção contra danos e estresses e pela limitação da passagem de água e absorção química. Ela pode ser subdividida

em cinco estratos diferentes: o córneo, lúcido, granuloso, espinhoso e basal (Jo *et al.*, 2021).

A epiderme e a camada subsequente (derme) são separadas pela membrana basal, uma mistura de proteínas da matriz extracelular (ECM) e fibras. A ECM interage fortemente com os fibroblastos, células imunológicas e vasculares, promovendo suporte físico para essas células (Pfisterer *et al.*, 2021). Essa matriz é formada principalmente por colágeno (diferentes tipos) (Watt e Fujiwara, 2011). Abordagens recentes para o tratamento de feridas tentam reproduzir a estrutura da ECM, suas propriedades mecânicas, composição e função. Esse interesse vem pela atuação dessa matriz, que vai além de propiciar a adesão celular, ela regula uma ampla lista de processos celulares, inclusive de células-tronco. As interações entre as células e a ECM influenciam na homeostasia, envelhecimento, cicatrização de feridas e patologias (Watt e Fujiwara, 2011).

A segunda camada, a derme, é composta por fibroblastos, vasos sanguíneos e linfáticos, fibras nervosas e ECM. Células imunológicas, folículos capilares e glândulas também compõem a derme (Pfisterer *et al.*, 2021). Dois compartimentos estão presentes, a derme papilar e a reticular. A primeira se encontra logo abaixo da epiderme e apresenta suas fibras de tecido conjuntivo sem um arranjo organizado; já a reticular, é muito mais espessa e densa, com as fibras de tecido conjuntivo mais compactadas e em um plano paralelo ao da superfície da pele (Woodley, 2017). A derme é crucial para a estruturação da pele. Nessa camada, o tecido conjuntivo é formado por fibroblastos, que são as células responsáveis pela produção de elastina e colágeno. Essas proteínas que asseguram a elasticidade, alongamento, resiliência e resistência à tração adequadas para a pele (Jo *et al.*, 2021).

Na parte mais inferior se encontra a hipoderme, formada em sua maior parte por células de gordura. Uma rede vascular se estende até essa camada para supri-la com sangue. Essa é a camada que conecta a pele com os músculos (Jo *et al.*, 2021). Tem entre suas funções servir de reserva de energia, proteção física e mobilidade das estruturas da pele (Gilaberte *et al.*, 2016).

### 3.2 FERIDAS E CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

Quando a pele é danificada por lesões, cirurgias, pressão, cortes, queimaduras ou até patologias, são formadas as feridas, que são desintegrações das

camadas da pele. Elas podem ser classificadas como agudas ou crônicas, dependendo das suas causas e relativas consequências. Logo após a realização da lesão inicia-se o processo de reparação tecidual. As feridas agudas são caracterizadas pela sequência organizada e apropriada dos processos de regeneração da pele que leva a recuperar a integridade anatômica e funcional do tecido previamente danificado. Já as feridas crônicas não são capazes de alcançar a integridade anterior da pele. Isso acontece como consequência de complicações locais e/ou sistêmicas do indivíduo (Tottoli *et al.*, 2020).

A cicatrização das feridas recupera a barreira perdida a fim de evitar mais danos ou infecções (Sorg *et al.*, 2017). É um dos processos mais complexos do corpo humano, visto que requer sincronização espacial e temporal da fase de inflamação e regeneração e remodelamento tecidual. Na primeira fase, há diminuição do fluxo sanguíneo pela vasoconstrição; a hemostasia é alcançada pela formação de coágulos plaquetários, seguida pela formação de uma matriz de fibrina, que atua como um suporte para infiltração celular (Tottoli *et al.*, 2020).

A fase inflamatória é desencadeada pela liberação de fatores de crescimento e o recrutamento de neutrófilos e monócitos, enquanto as células endoteliais iniciam a angiogênese. As citocinas pró-inflamatórias atraem leucócitos. Os fatores de crescimento derivados das plaquetas ativam os fibroblastos para produzir colágeno e glicosaminoglicanos. Assim, na resposta inflamatória, os neutrófilos, monócitos e macrófagos são essenciais, eliminam infecções e detritos da ferida e liberam mediadores solúveis para ajudar os fibroblastos e as células epiteliais a serem ativados para iniciar o próximo estágio (Gajbhiye e Wairkar, 2022).

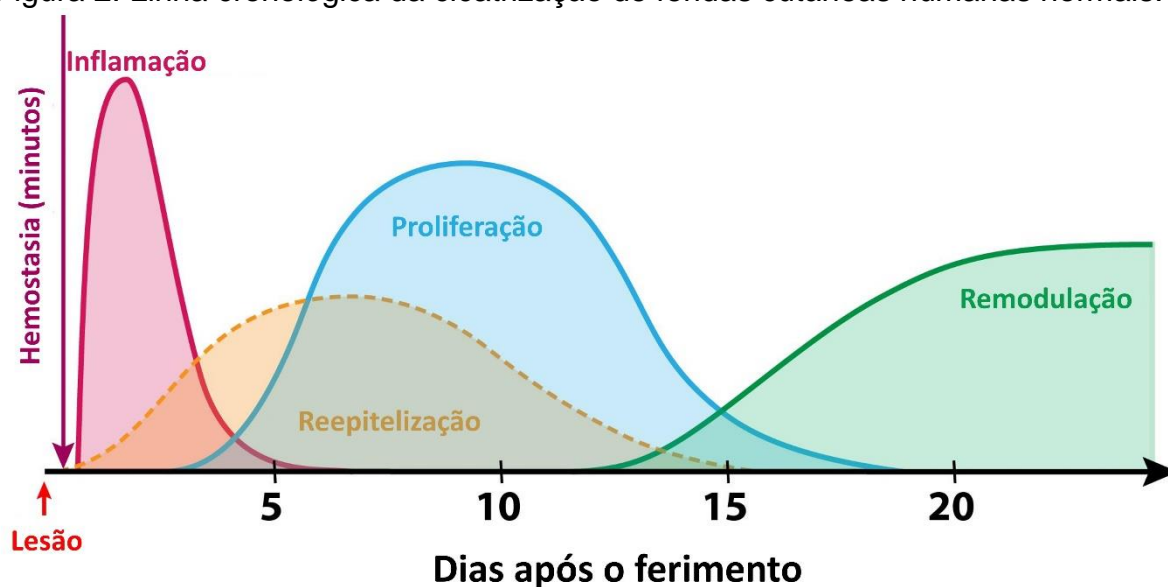
A angiogênese, formação de tecido de granulação e síntese dos componentes que formam a ECM acontecem na fase proliferativa (Sahana e Rekha, 2018). Nesta fase, há a proliferação de fibroblastos diferenciados, que promovem a deposição de fibronectina sobre a estrutura da fibrina; dessa forma, começa a deposição de colágeno na ferida, que irá se ligar à fibronectina. Em resposta às citocinas, há a síntese de uma nova membrana basal. A formação de novos vasos sanguíneos adjacentes à ferida é característica do tecido de granulação e tem por objetivo nutrir e oxigenar os novos tecidos em crescimento (Isaac *et al.*, 2010).

A fase de remodelação inicia aproximadamente após três semanas da ocorrência da lesão. Nessa etapa, todos os processos iniciados nas etapas anteriores cessam. Os macrófagos, células endoteliais e miofibroblastos, sofrem apoptose

(morte celular programada) ou são realocados do local da ferida, deixando assim uma área rica em colágeno e outras proteínas da ECM (Tottoli *et al.*, 2020).

A Figura 2 apresenta uma representação esquemática dos quatro estágios de uma cicatrização de feridas saudável, que ocorre em feridas agudas.

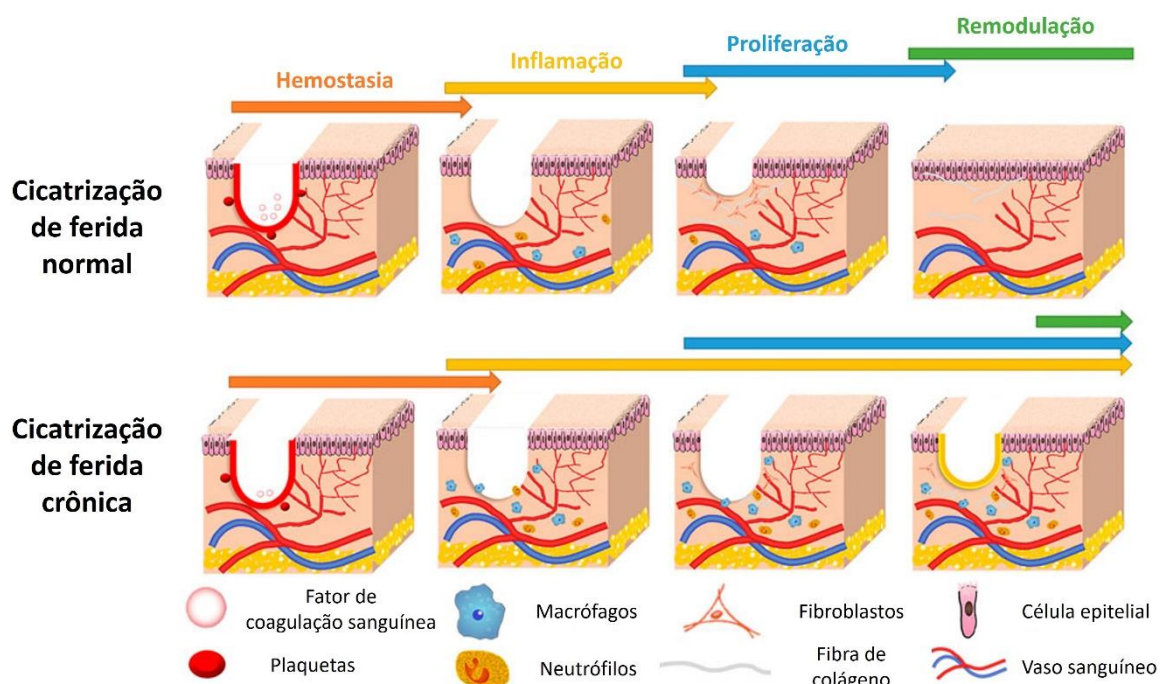
Figura 2: Linha cronológica da cicatrização de feridas cutâneas humanas normais.



Fonte: Adaptado de desJardins-Park *et al.* (2019)

Perturbações no processo de cicatrização podem levar à formação de feridas crônicas, desencadeando sérias complicações. Nessas feridas, as fases de hemostasia e inflamação são prolongadas, comprometendo assim a proliferação e remodulação. A sua não cicatrização pode causar ao paciente baixa resistência, má nutrição, infecção generalizada, entre outros (Li *et al.*, 2022a). A Figura 3 compara as etapas de uma cicatrização normal e uma crônica.

Figura 3: Comparação do processo de cicatrização entre ferida crônica e ferida normal.



Fonte: Adaptado de Li *et al.* (2022b)

A fase inflamatória prolongada leva ao recrutamento de microrganismos, que formam biofilmes, onde as bactérias podem resistir mais, aumentando o risco de infecções mais sérias. O aumento de citocinas pró-inflamatórias leva a um alto nível de protease (enzima que quebra proteínas e aminoácidos), o que promove a destruição da ECM. Além disso, as células inflamatórias aumentam os níveis das espécies reativas de oxigênio (ROS), o que também causa danos às proteínas da ECM. Nas feridas agudas, a protease é adequadamente regulada para não prejudicar a ECM (Tottoli *et al.*, 2020). Assim, nas feridas crônicas, os processos de cicatrização desordenados provocam a destruição continuada da pele, tornando a ferida cada vez mais profunda, permitindo a formação de biofilmes, aumentando o risco de amputação e infecção generalizada, por exemplo.

As principais manifestações físicas das feridas crônicas são a liberação de exsudatos (líquidos com células e outras substâncias celulares que são eliminados dos vasos sanguíneos em tecidos inflamados), cujos componentes degradam a ECM e agravam os efeitos dessas feridas, infecção persistente e necrose.

Fatores que podem causar uma deficiência no processo de cicatrização da pele e causar feridas crônicas incluem hiperglicemia, lesões repetidas, inflamação

prolongada ou excessiva e infecção persistente (Li *et al.*, 2022a). A hiperglicemia é um dos principais problemas para pacientes acometidos pela DM. Estima-se que 25 % dos pacientes diagnosticados com DM desenvolvem feridas crônicas, frequentemente resultando em amputações de membros inferiores. Os mecanismos pelos quais a hiperglicemia dificulta o reparo da pele incluem o desenvolvimento de arteriosclerose (enrijecimento da parede arterial), o que impede a circulação de nutrientes que devem chegar às feridas para seu reparo, disfunção das células endoteliais, e interrompe processos como a síntese de proteínas e migração e proliferação de fibroblastos. Também leva à produção de ROS, que em altos níveis podem prejudicar o fornecimento de sangue, metabolismo e até afetar nervos e suas funções sensoriais e motoras (Burgess *et al.*, 2021).

Outros aspectos patofisiológicos que dificultam a cicatrização de feridas associados com a diabetes são neuropatia (dano ao funcionamento dos nervos, causando falta de sensibilidade); hipóxia (deficiência no fornecimento de oxigênio para as células); anemia (falta ou disfunção dos glóbulos vermelhos no sangue) e doença arterial periférica (insuficiente fluxo sanguíneo, principalmente nas pernas e pés) (Burgess *et al.*, 2021).

O microbioma da pele é formado por bactérias, fungos e vírus comensais. Esses microrganismos obtêm benefícios assim como também podem conferir alguns para o hospedeiro, sem o prejudicar. Eles são encontrados na derme e epiderme, constituindo uma camada extra de defesa para a pele, promovem imunidade homeostática, modelam a expressão genética e regulam a colonização do tecido por microrganismos patogênicos. A partir da resposta imunológica desregulada em pacientes acometidos com feridas crônicas, há maior facilidade de colonização de feridas por bactérias patogênicas que, ao formarem biofilmes imersos na ECM, conferem resistência à antibióticos e respostas imunológicas (Nguyen e Soulika, 2019). Os colonizadores bacterianos patogênicos mais comuns são *Staphylococcus*, *Pseudomonas* e *Enterobacteriaceae* (Burgess *et al.*, 2021). Os mecanismos pelos quais o biofilme atrapalha o processo de cicatrização incluem falha na formação do tecido granuloso e na re-epitelização. Algumas bactérias segregam proteases que degradam o colágeno, fibrinogênio e elastinas presentes na ECM. A DM aumenta a susceptibilidade de infecções e mortes relacionadas e geram uma variedade de fatores locais e sistêmicos que se combinam para perturbar as fases de cicatrização (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2021)

A presença de infecções é um dos elementos que mais causa alterações do curso normal da cicatrização. Uma ferida contaminada aumenta significativamente a probabilidade de uma infecção generalizada, insuficiência de órgãos e óbito (Plas *et al.*, 2021). Quando uma ferida é aberta, o local passa a ser suscetível à colonização de microrganismos estrangeiros pela perda da proteção de barreira oferecida pela pele. A colonização bacteriana, ou seja, a contaminação em uma ferida é uma característica típica de feridas crônicas e uma infecção ocorre quando há mais do que  $1 \times 10^5$  unidades formadoras de colônia (UFC) por grama de tecido. Substâncias liberadas pelas bactérias induzem continuado recrutamento de neutrófilos e outras células imunológicas para o local da ferida, ocasionando alta produção de protease, o que degrada a ECM. Isso leva a maior dano no tecido e retardo na reepitelização (Liu *et al.*, 2022).

Tendo-se em vista as complexas interações que levam indivíduos com DM a desenvolverem feridas crônicas, se faz necessário desenvolver formas de tratamento que agilizem a cicatrização dessas lesões, a fim de evitar as graves consequências que podem acometer os pacientes.

### 3.3 CURATIVOS

Para que uma ferida cicatrize da maneira adequada, é necessário que o ambiente local e os arredores dessa lesão sejam apropriados. Isso pode ser alcançado utilizando-se materiais que protejam a ferida e que mantenham condições desejáveis para sua cura. No final do século 20, curativos já eram preparados a fim de fornecer uma barreira física ao local lesionado, mas também de manter umidade presente, o que já se havia notado que acelerava a cicatrização. Desde então, os novos curativos vêm sendo desenvolvidos, fornecendo fatores além da manutenção da umidade, como a absorção de fluidos e a permeação de vapor (Rezvani Ghomi *et al.*, 2019).

Os curativos tradicionais, como as gazes de algodão, são também chamados de passivos. Eles oferecem proteção contra impurezas do ambiente, controlam o sangue e absorvem os líquidos da ferida; porém, mantêm seco o local. Muitos problemas podem ser associados a eles, como a frequente necessidade de troca, podendo propiciar dor, lesões na pele e invasão bacteriana. Os curativos modernos buscam acelerar a cicatrização da ferida, muito além de fornecer uma

proteção física a ela (Alven *et al.*, 2021). Um curativo ideal deve controlar a umidade ao redor da ferida, apresentar boa transmissão de gases, eliminar o excesso de exsudatos, proteger contra infecções e microrganismos patogênicos, diminuir a necrose superficial da pele, apresentar proteção mecânica, ser de fácil remoção, ser biocompatível, elástico como a pele e não tóxico (Rezvani Ghomi *et al.*, 2019).

Desde que se teve conhecimento sobre a ECM, a pesquisa tem se voltado para tentar reproduzir suas propriedades químicas, físicas e biológicas, a fim de acelerar a cicatrização de feridas, minimizar cicatrizes e reduzir a dor. Ao selecionar um material para atuar como a ECM, é necessário levar em consideração a localização da ferida, tipo de tecido perdido, estruturas expostas, profundidade, cronicidade, entre outros. Entre os tipos de ECMs mais comumente produzidos para aplicação no tratamento de feridas, estão os enxertos alógenos, obtidos de cadáveres e devidamente preservados; enxertos xenógenos, obtidos de várias espécies de animais e aplicados temporariamente como cobertura da ferida; e os tecidos de bioengenharia, que são membranas sintéticas feitas de uma variedade de materiais e que podem ser impregnadas por exemplo com colágeno e fibroblastos (Stetkevich *et al.*, 2023).

O tratamento clínico padrão para pacientes acometidos com feridas crônicas é de executar limpeza do local, usar um curativo umedecido que mantenha o ambiente úmido e absorva o excesso de exsudatos e possivelmente técnicas de revascularização e uso oral de antibióticos quando há infecção. Entretanto, quando não há resposta adequada de cicatrização da ferida, é necessário aplicar curativos funcionais que promovam um intensivo cuidado (Matoori, Veves e Mooney, 2021). Apenas quatro produtos possuem aprovação da FDA para tratamento de feridas crônicas. O Dermagraft® é composto por uma malha de ácido poliglicólico (PGA) semeada com fibroblastos dérmicos neonatais vivos. O Apligraf®, um tecido com uma camada de fibroblastos humanos contidos em uma malha de colágeno tipo 1, extraído de bovinos, e uma segunda camada formada por queratinócitos. O único composto farmacológico aprovado para o tratamento de feridas crônicas é o becaplermin, porém seu uso é limitado pela sua eficácia moderada. Por fim, um curativo acelular aprovado pela FDA é o Integra®, composto por uma matriz porosa de colágeno bovino e glicosaminoglicano. As membranas acelulares permitem infiltração e atividade das células presentes nos fluidos corporais, promovendo

deposição de ECM, angiogênese e reepitelização (Matoori, Veves e Mooney, 2021; Verma *et al.*, 2022).

Os curativos podem ser classificados em quatro grupos: tradicionais ou passivos, interativos, substitutos cutâneos e curativos bioativos. Os curativos tradicionais apenas absorvem exsudatos e protegem o local da ferida de agentes físicos externos. Os interativos atuam como barreira à invasão bacteriana, promovem um ambiente úmido e melhoram a permeação de gases. Os substitutos cutâneos substituem um tecido lesionado e possuem compostos semelhantes à da pele natural, como colágeno e fibroblastos. Por fim, os curativos bioativos são aqueles que podem ser impregnados com um princípio bioativo para sua posterior liberação e ativação dos processos de cicatrização tecidual. Devendo possuir alta biocompatibilidade, os exemplos mais comuns são alginatos, hidrocoloides, nanofibras e hidrogéis (Alven *et al.*, 2022).

Para o tratamento de feridas crônicas, fica evidente que apenas curativos tradicionais não resolvem o problema da não cicatrização. Dessa forma, novas tecnologias devem ser investigadas para tal. Os curativos nanofibrados (NDs) despertam interesse para o tratamento dessas feridas. Eles apresentam fibras com diâmetros que variam de nanômetros a micrometros arranjadas aleatoriamente e que, por sua alta área superficial, podem facilitar a liberação de princípios bioativos, bem como a infiltração de células, tão importante para o reparo tecidual. Sua flexibilidade e propriedades mecânicas chamam atenção para aplicação na pele, além de possuírem grande potencial para entrega de fármacos e outros compostos que induzam a cicatrização. Para feridas crônicas, é preciso induzir a vascularização, acumulação de colágeno e recuperar os processos fisiológicos normais a fim de curar a ferida. Os NDs podem ser impregnados com compostos que atuem nesses aspectos desejados, ainda mantendo a capacidade de absorção de exsudatos e trocas de gases, água e nutrientes (Liu *et al.*, 2019).

A produção de nanofibras pode ser feita por técnicas de eletrofiação, fiação por sopro, fiação centrífuga e fiação microfluídica. A eletrofiação, amplamente empregada, chama a atenção por ser simples, com escalabilidade industrial, reprodutível e de baixo custo (Liu *et al.*, 2022). Estruturas eletrofiadas apresentam promoção de hemostasia, absorção de fluidos, respiração celular e permeação de gases quando implantada em feridas abertas (Yang *et al.*, 2022). As membranas são produzidas a fim de iniciar o processo de cicatrização, prevenir infecções, propiciar

migração e proliferação celular, porém sem permitir crescimento de tecido juntamente com as fibras da estrutura, já que o curativo deve ser retirado assim que a ferida estiver curada. Sendo assim, um curativo ideal deve mimetizar tanto estrutura quanto funcionalidade da ECM, apresentando um diâmetro de fibra na faixa de 50-500 nm, alta área superficial para promover hemostasia e funcionalização da superfície, alta porosidade (60-90 %), a fim de permitir respiração celular, permeação de gases, e prevenir a desidratação da ferida. Uma nano-porosidade interconectada é desejada para prevenir infiltração microbiana e crescimento celular. Propriedades mecânicas semelhantes à pele natural também são esperadas (Abrigo, McArthur e Kingshott, 2014b). Outros aspectos a serem alcançados para que um curativo seja funcional são alta molhabilidade, com ângulos de contato menores que 90° e absorção de fluidos entre 100 e 900 % (Heydari *et al.*, 2018).

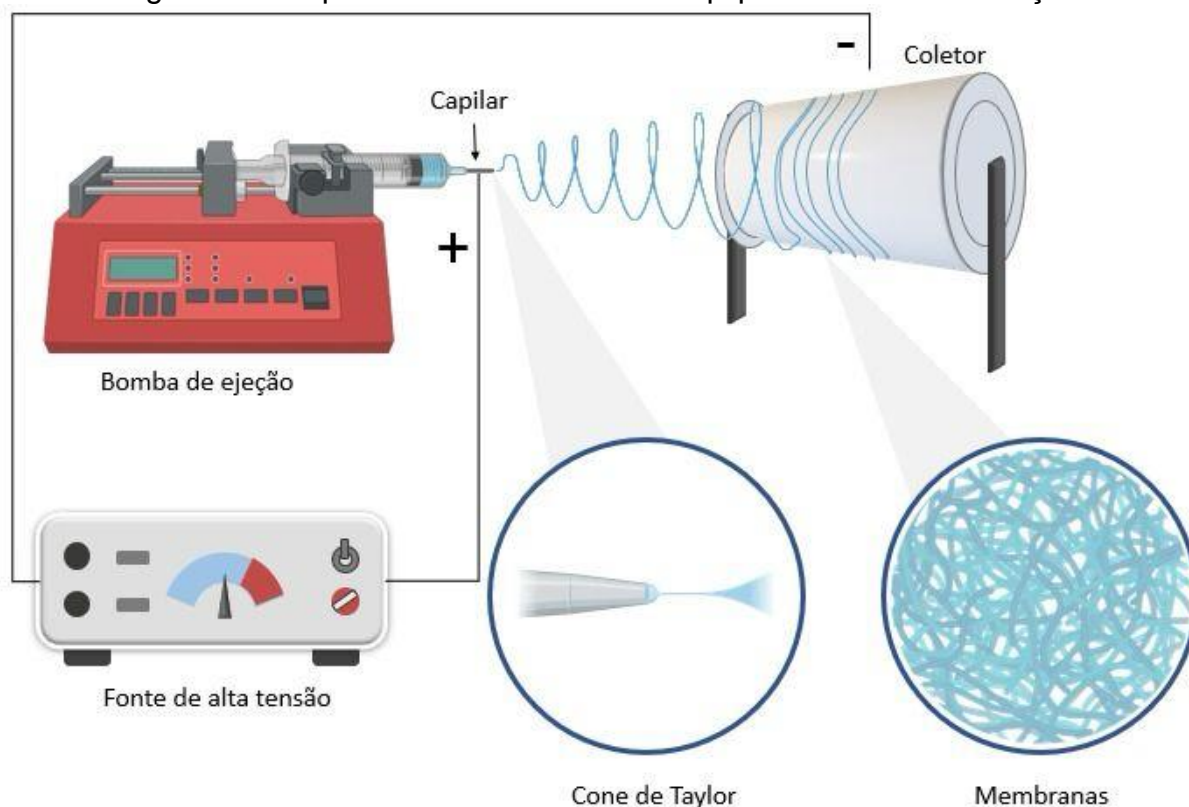
### 3.4 ELETROFIAÇÃO

A eletrofiação é uma técnica que vem sendo aplicada no desenvolvimento de novos materiais para aplicações biomédicas (Juncos Bombin, Dunne e McCarthy, 2020; Liu *et al.*, 2022; Rahmati *et al.*, 2021; Uhljar e Ambrus, 2023; Vellayappan *et al.*, 2016). Ao aplicar um campo eletrostático de alta tensão, são formados fios/fibras a partir de soluções poliméricas, que tem seu solvente evaporado durante o processo (Liu *et al.*, 2021).

O equipamento tradicional apresenta uma configuração, composta por uma fonte de alta voltagem, uma seringa para armazenar e bombear a solução polimérica, uma agulha e um coletor. A fonte de alta tensão promove um forte campo elétrico, que liga a seringa e agulha ao coletor. A solução polimérica é então empurrada pela seringa, formando gotas na ponta da agulha. A tensão superficial na presença de força eletrostática faz com que as gotas se adaptem a um formato cônico, conhecido como cone de Taylor (Yang e Xu, 2023). Quando a força eletrostática supera a tensão superficial, um jato polimérico é ejetado da ponta do cone de Taylor. Esse jato tende a se descarregar e, por isso, viaja em direção ao coletor aterrado no lado oposto do equipamento. Assim, haverá a deposição do primeiro fio, que terá seu solvente volatilizado durante o percurso da ponta da agulha até o coletor. Esse processo se repete pela constante vazão da solução polimérica que emerge da ponta da agulha, gerando uma sobreposição das fibras na superfície do coletor. A força coesiva do

polímero faz com que haja a estabilização do jato, que irá se alongar e afinar até chegar no coletor (Uhljar e Ambrus, 2023). A Figura 4 apresenta uma configuração esquemática do equipamento de eletrofição.

Figura 4: Componentes básicos de um equipamento de eletrofição.



Fonte: Do autor, 2023.

Muitos parâmetros devem ser levados em consideração ao escolher os materiais e condições para formar as fibras poliméricas. A concentração polimérica, volatilidade do solvente, constante dielétrica, condutividade, tensão superficial e viscosidade são aspectos importantes da solução a ser eletrofiada. O processo em si apresenta como variáveis principais a voltagem aplicada, vazão da solução, distância entre a ponta da agulha e o coletor e diâmetro da agulha. Vale ressaltar que o equipamento pode ser estruturado na vertical ou na horizontal, aspecto que interfere significativamente nos parâmetros do processo. Alguns fatores do ambiente também afetam a formação das fibras eletrofiadas, como a temperatura e umidade, já que a evaporação do solvente é um evento fundamental (Vellayappan *et al.*, 2016).

Usualmente, mais altas voltagens aplicadas levam a esticar mais a solução polimérica, resultando em fibras mais finas. Porém, voltagens altas demais podem

levar à formação de vários jatos secundários, causando formação de defeitos conhecidos como “*beads*”, que são grânulos formados pelo acúmulo de solução, apresentando como consequência a não uniformidade da membrana. A morfologia das fibras também é alterada com a distância da ponta da agulha até o coletor. Quanto maior o percurso que a solução terá que percorrer, mais tempo haverá para a evaporação do solvente e maior o estiramento da fibra em formação, assim, fibras mais finas podem ser formadas. É importante salientar que a força do campo elétrico aplicado é inversamente proporcional ao quadrado da distância; portanto, a distância apropriada também depende da tensão aplicada. A vazão adequada também deve ser selecionada de acordo com a voltagem. Quando a vazão de alimentação é aumentada sob uma tensão constante, o diâmetro das fibras coletadas será maior e, quanto mais aumenta-se a vazão, torna-se possível a formação de “*beads*” (Uhljar e Ambrus, 2023).

A condutividade de um polímero pode impedir sua eletrofição, visto que baixas condutividades não sofrerão ação da força do campo elétrico empregado. Outro parâmetro importante para selecionar o material a ser processado é o peso molecular, que em geral, é preferível que seja alto para facilitar a formação das NDs; porém, pesos altos demais podem causar entupimento da agulha. Uma redução no peso molecular pode gerar menores diâmetros de fibras, desejáveis em algumas aplicações. Para contornar um eventual problema com o peso molecular de um polímero, a concentração pode ser variada. Esses dois fatores alteram a viscosidade da solução, que deve ser otimizada para cada material (Uhljar e Ambrus, 2023). Além do polímero, o solvente utilizado para a preparação da solução deve ser minuciosamente escolhido, a fim de atingir homogeneidade e viscosidade adequadas, assim como volatilizar durante a viagem dos jatos até a deposição das fibras.

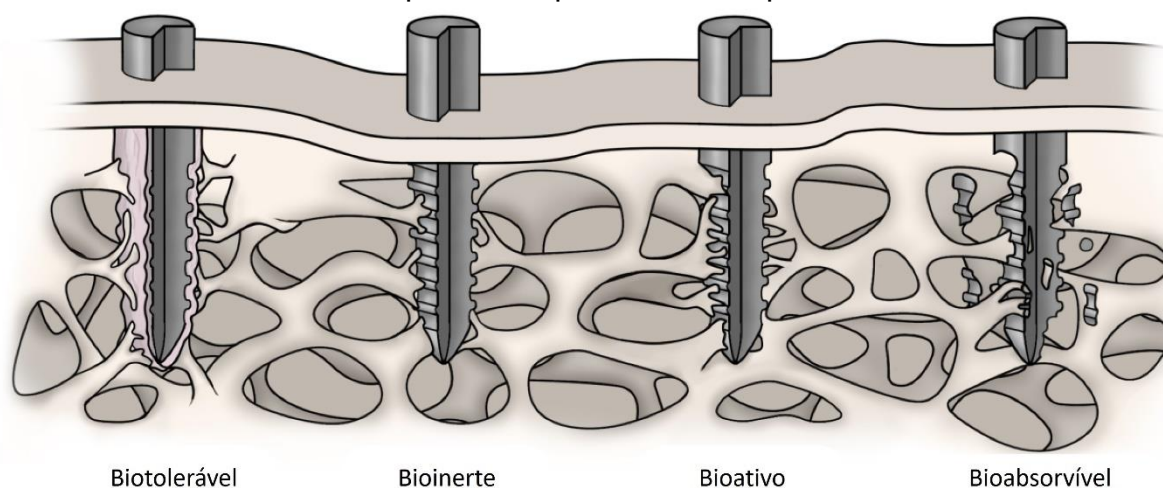
Há uma ampla variedade de polímeros que podem ser eletrofiados, tanto naturais quanto sintéticos. Os polímeros biocompatíveis devem ter suas propriedades analisadas, a fim de se determinar as melhores opções para diferentes as abordagens biomédicas (Liu *et al.*, 2021).

### 3.5 BIOMATERIAIS

Um biomaterial é um material projetado para assumir uma forma que pode direcionar, por meio de interações com sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico (Zhang e Williams, 2019). O que o diferencia dos outros materiais é sua biocompatibilidade, a característica de um material de não causar danos ao paciente. Esse aspecto deve considerar a compatibilidade biológica, assim como sua geometria e performance mecânica (Festas, Ramos e Davim, 2020). Esses materiais são amplamente utilizados na medicina atualmente, sendo aplicados na reconstrução ou substituição de tecidos ou membros danificados por trauma, doenças congênitas ou distúrbios (Birru Bhaskar *et al.*, 2021).

Os biomateriais podem ser metálicos, cerâmicos ou poliméricos, assim como diferentes compósitos. A escolha do material deve avaliar as propriedades necessárias para a aplicação final, levando em conta a biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades mecânicas e estruturais, porosidade, processabilidade e estabilidade (Birru Bhaskar *et al.*, 2021). Uma das principais divisões dos biomateriais é sua classificação quanto à resposta do organismo hospedeiro, que está esquematizada na Figura 5.

Figura 5: Representação esquemática da classificação dos biomateriais usando o exemplo de um parafuso de implante.



Fonte: Odegaard, Torgersen e Elverum, 2020.

Os materiais biotoleráveis são aceitos pelo hospedeiro, porém separados por um tecido fibroso. A formação dessa cápsula fibrosa é induzida pela liberação de

íons e compostos dos implantes. Os considerados bioinertes são estáveis no corpo e não induzem reações químicas. Eventualmente formam tecidos fibrosos como os biotoleráveis, mas podem ter uma conexão direta com o tecido sem serem separados do mesmo. Os biodegradáveis são aqueles que se dissolvem quando em contato com os fluidos corporais. O tempo de degradação varia bastante entre os diferentes materiais. Já a bioatividade de um material é a sua capacidade de causar uma reação química específica, formando um fosfato de cálcio já presente no corpo humano, na interface do implante com o tecido hospedeiro, a partir da troca iônica com os fluidos do corpo (Ødegaard, Torgersen e Elverum, 2020). Por fim, os materiais bioabsorvíveis são aqueles capazes de operar sob condições fisiológicas por um determinado período e depois, serem dissolvidos e absorvidos na forma de subprodutos biologicamente benignos (Mattina, Mariani e Barillaro, 2020).

### 3.5.1 Polímeros bioabsorvíveis

Muitos polímeros podem ser empregados na fabricação de curativos eletrofiados. Eles podem ser de origem natural, como quitosana, alginato, dextrana, ácido hialurônico, colágeno e celulose. Esses polímeros apresentam boa compatibilidade com o corpo humano, porém são mais difíceis de processar. Contudo, possuem propriedades mecânicas reduzidas. Esses materiais geralmente precisam de uma etapa de reticulação, formação de ligações cruzadas na rede polimérica, a fim de melhorar suas propriedades mecânicas (Alven *et al.*, 2022). As propriedades modificáveis da maioria dos polímeros sintéticos são atrativas para aplicações biomédicas. Os poliésteres já são produzidos em escala industrial, como o PET (polietileno tereftalato), PLA, PBAT (poli(butileno adipato co-tereftalato)) e PHAs (poli-hidroxiácidos), que já são amplamente aplicados na indústria têxtil e de embalagens. Para fins farmacêuticos e biomédicos, a biocompatibilidade e biodegradabilidade são fatores cruciais. O PLA, PGA, PCL e seus copolímeros, polioxalato e poli (tereftalato de butileno) estão entre os materiais aprovados para esse uso. Entre os polímeros sintéticos, os poliésteres atraem mais atenção do que outros tipos, pela maior eficiência de custo e tempo, já que esse tipo já é bastante empregado na indústria farmacêutica (Dirauf *et al.*, 2022).

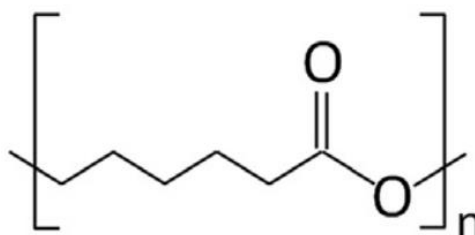
Policaprolactona (PCL) é um poliéster bastante atrativo pela sua alta facilidade de processamento, visto que é solúvel em muitos solventes e é miscível em

uma ampla faixa de outros polímeros. Dentre os solventes em que o PCL pode ser dissolvido estão clorofórmio, metanol, diclorometano, dimetilformamida, ácido fórmico, entre outros (Abedalwafa *et al.*, 2013).

O PCL (Figura 6) foi primeiramente investigado como veículo de liberação de fármacos, pela sua alta aceitabilidade de incorporação de princípios ativos, não citotoxicidade e degradação lenta. As ligações éster alifáticas presentes são hidroliticamente lábeis; portanto, a degradação desse polímero ocorre de maneira hidrolítica. No entanto, essa degradação é lenta, podendo levar de 2 a 3 anos (Nair e Laurencin, 2007). Sua temperatura de fusão está entre 58-65 °C, enquanto sua transição vítrea ocorre na faixa de -60 e -65 °C. Apresenta resistência à tração entre 20,7 e 42 MPa (Alizadeh-Osgouei, Li e Wen, 2019) e alta deformação na fratura (>700 %) (Nair e Laurencin, 2007). Uma limitação significativa para o uso de PCL como curativo é seu caráter altamente hidrofóbico. A absorção e preservação de umidade no local de ferida são características essenciais para auxiliar a reparação da pele. Sua hidrofobicidade também diminui a eficácia da infiltração celular. Logo, é necessário solucionar esse obstáculo a fim de aplicar o PCL em curativos para cicatrização de feridas. Algumas técnicas para alcançar esse objetivo são tratamento químico, tratamento por plasma, recobrimento de superfície ou blenda com um polímero hidrofílico (Sowmya e Panda, 2022b).

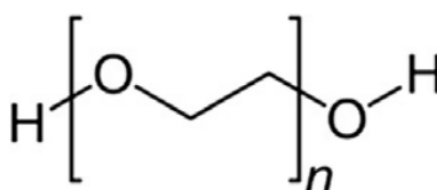
Um polímero de alta hidrofiliabilidade, biocompatibilidade e com alta taxa de degradação é o PEO, também chamado de PEG (Figura 7). Normalmente macromoléculas com pesos moleculares menores que 20000 g/mol são chamadas de PEG e valores maiores conferem o nome de PEO (Zarrintaj *et al.*, 2019). Esse polímero é amplamente aplicado clinicamente, principalmente em sistemas de entrega de medicamento (Hogan e Mikos, 2020). Já foi comprovado que a adição de PEG em fibras eletrofiadas de PCL aumentam a hidrofiliabilidade e a absorção de água e também mudam o mecanismo de liberação de fármacos (He *et al.*, 2019; Sowmya e Panda, 2022b).

Figura 6: Estrutura química do PCL.



Fonte: Zarrintaj *et al.*, 2019.

Figura 7: Estrutura química do PEG/PEO.



Fonte: Zarrintaj *et al.*, 2019.

Embora esses polímeros apresentem alta biocompatibilidade e propriedades físicas adequadas, não funcionalizam biologicamente um curativo. Assim, a adição de componentes bioativos em NDs poliméricas vem sendo investigada. A promoção de biomineralização, osteogênese, angiogênese e atividade antibacteriana às membranas eletrofiadas são algumas das características conferidas por diferentes biomateriais incorporados às fibras poliméricas (Abrigo, McArthur e Kingshott, 2014a; Alven *et al.*, 2022; Cai *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2019; Ghorbani *et al.*, 2023; Jana *et al.*, 2022; Kalva *et al.*, 2021; Mohammadi *et al.*, 2016; Moura *et al.*, 2017; Sowmya e Panda, 2022b; Villarreal-Gómez *et al.*, 2021).

### 3.5.2 Vidros bioativos

Muitos polímeros biocompatíveis e/ou biodegradáveis são utilizados na área biomédica, especialmente no tratamento de feridas. Embora apresentem compatibilidade com o corpo humano e promovam condições adequadas para a reparação tecidual, os polímeros não são bioativos. Uma das principais estratégias para melhorar a cicatrização de feridas é a formação de compósitos entre polímeros e materiais bioativos; entre esses últimos, se destacam os vidros bioativos (Moura *et al.*, 2017). A liberação de íons terapêuticos de vidros bioativos pode acelerar a

cicatrização de feridas, já que elementos biologicamente ativos podem ser incorporados na rede vítrea e sua liberação pode estimular funções celulares como a migração de células epiteliais e proliferação de fibroblastos, induzir angiogênese, exercer ação hemostática e até antimicrobiana (Mehrabi, Mesgar e Mohammadi, 2020). Além disso, a dissolução de produtos iônicos provenientes de vidros bioativos pode induzir a formação de colágeno (Valerio *et al.*, 2004; Vargas *et al.*, 2013; Vuornos *et al.*, 2019, 2020).

A eletrofiação é um processo que permite a incorporação de vidros bioativos na suspensão polimérica, de forma a realçar as propriedades das fibras e melhorar a performance biológica, interagindo com os processos de cicatrização de feridas, por exemplo (Ghorbani *et al.*, 2023). O processamento de eletrofiação de diferentes composições de vidros bioativos e polímeros, em especial com o PCL, já foi efetuado e a distribuição homogênea das partículas na membrana se mostrou possível (Fernandes *et al.*, 2022). A bioatividade de membranas obtidas foi comprovada, assim como adequadas propriedades mecânicas, citocompatibilidade e aumento de proliferação celular e angiogênese (Liu *et al.*, 2023; Liverani *et al.*, 2022; Piatti *et al.*, 2023).

Dentre as diferentes possíveis composições de vidros bioativos, o lítio em apropriadas dosagens apresenta bioatividade e aumenta a regeneração de nervos em ratos. A incorporação do lítio em vidros bioativos vem sendo estudada (Maçon *et al.*, 2017; Miguez-Pacheco *et al.*, 2016; Moghanian, Firoozi e Tahriri, 2017). Ela eleva as taxas de migração celular em ensaio de arranhão, sugerindo que o lítio e o silício presentes no vidro apresentam efeito sinérgico na reparação celular, direcionando à conclusão de que têm potencial para acelerar a cicatrização de feridas com a reparação dos nervos (Wei *et al.*, 2021).

Os vidros do sistema LZS ( $\text{Li}_2\text{O-ZrO}_2\text{-SiO}_2$ ) são uma nova classe de vidros bioativos que vem sendo estudada recentemente (Arcaro *et al.*, 2016a; Arcaro *et al.*, 2016b; Arcaro *et al.*, 2017; Possolli *et al.*, 2022; Teixeira *et al.*, 2012). A presença do lítio em sua rede apresenta potencial para aplicação no tratamento de feridas crônicas, que requerem componentes ativos para concluir sua cicatrização, sendo a angiogênese um processo fundamental a ser ultrapassado.

A bioatividade de seu sistema vitrocerâmico já foi comprovada, mostrando que há grande potencial para esse sistema promover regeneração tecidual no corpo humano. Além disso, o LZS em contato direto com células tronco mesenquimais

extraídas de dente humano não é citotóxico (Possolli *et al.*, 2021). O sistema vitrocerâmico do LZS também foi utilizado para produzir estruturas porosas pelo método de réplica, alcançando parâmetros adequados de porosidade, tamanhos de poro e propriedades mecânicas para aplicação como biomaterial de regeneração óssea (Possolli *et al.*, 2022). Foram determinadas as concentrações inibitórias mínimas do LZS contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella enteritidis*, resultando em 100 mg/mL de LZS para todos os microrganismos patogênicos testados (Possolli *et al.*, 2024). Nesse mesmo trabalho, foi demonstrado que o LZS não apresenta evidências de dano em DNA humano e também não é tóxico para fibroblastos murinos. Recentemente foram desenvolvidas membranas eletrofiadas de PLA e quitosana, com adição do vidro LZS. Nesse estudo, foi possível comprovar que a adição de LZS promoveu bioatividade às fibras poliméricas obtidas por eletrofição (Rocha e Arcaro, 2023).

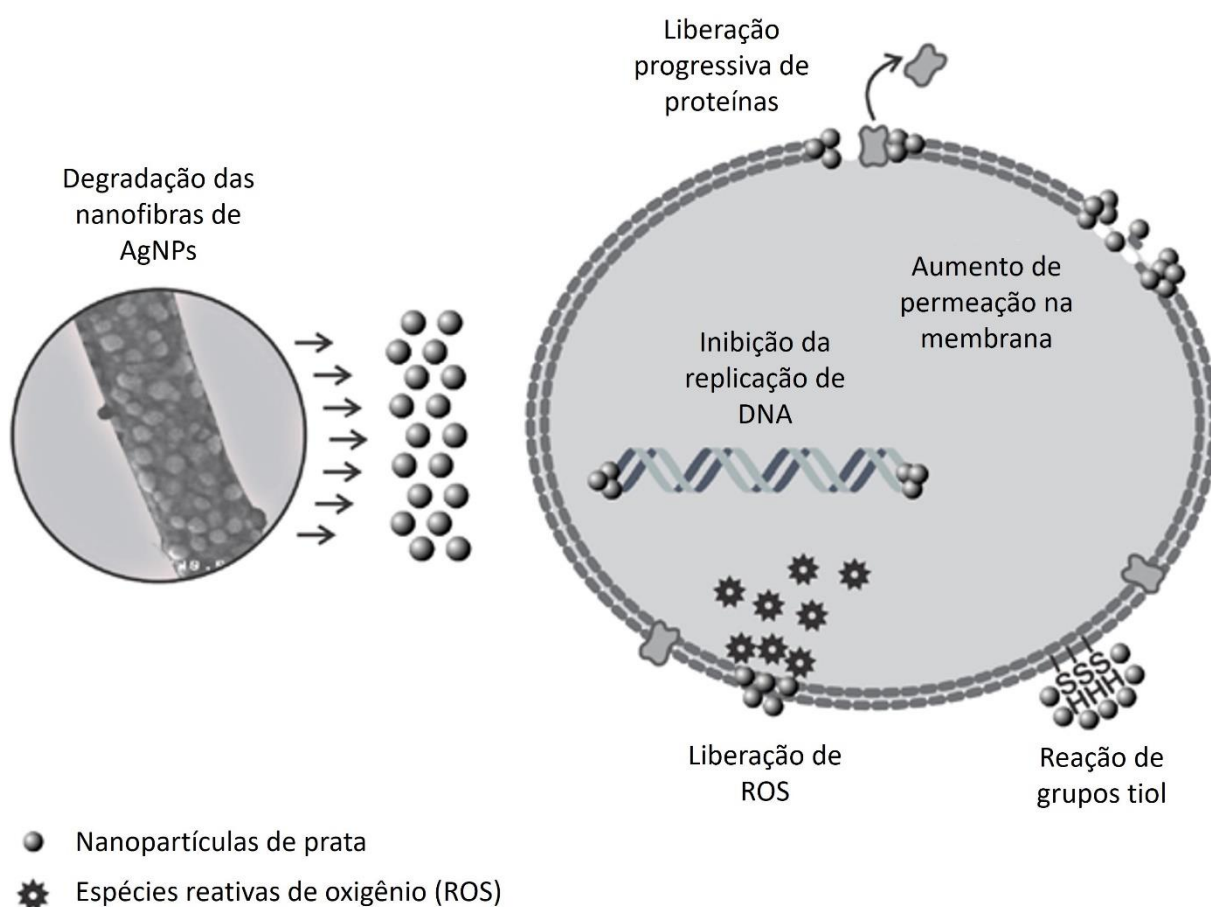
### 3.5.3 Biomateriais metálicos nanométricos

A infecção bacteriana em feridas crônicas prejudica significativamente a cicatrização. É preciso desenvolver tratamento preventivo e efetivo contra a entrada e desenvolvimento de microrganismos patogênicos no local da lesão. O uso de antibióticos pode induzir um aumento da resistência de patógenos contra esses medicamentos, dificultando ainda mais o tratamento de infecções. Uma solução promissora é a aplicação de NPs metálicas, como as de óxido de zinco, óxido de ferro e prata, a fim de evitar a formação de biofilmes bacterianos, onde a resistência das bactérias é elevada. As AgNPs, em particular, apresentam um amplo espectro de efeito bactericida, causando danos na membrana celular, DNA e gerando radicais livres (Cai *et al.*, 2023).

O efeito bactericida das AgNPs acontece na faixa de 1-100 nm. Elas se aderem nas membranas celulares, induzindo a formação de poros e, assim, entrando na estrutura celular (Rizzello e Pompa, 2014). Essas NPs obtidas por síntese verde com curcumina já se mostraram capazes de reduzir citocinas pró-inflamatórias, aumentar as anti-inflamatórias, reduzir marcadores oxidantes e aumentar a área de colágeno, aumentando também a taxa de contração de lesões aplicadas em ratos Wistar (Guzzatti e Silveira, 2022).

Essas NPs interagem com as proteínas que contêm grupos de fósforo na parede celular, causando ruptura na mesma, como esquematizado na Figura 8. Ao entrar na célula bacteriana, interagem com proteínas com grupos de fósforo ou enxofre, desnaturando o DNA e proteínas celulares. Esse processo induz a formação de ROS e radicais livres, ativando vias apoptóticas. Esse mecanismo possibilita erradicar as bactérias sem que as mesmas desenvolvam resistência aos medicamentos. Estudo já avaliou que a adição de AgNPs na forma sólida é mais eficiente no controle de inflamação e estresse oxidativo, favorecendo a angiogênese e formação tecidual, do que sua forma diluída (Curtolo *et al.*, 2021). Porém, AgNPs são tóxicas às células humanas em uma relação dose-dependente. Assim, elas podem ser acrescentadas em outros biomateriais para que sua liberação gradual e lenta não cause efeitos tóxicos às células humanas e mantenha seu efeito de prevenção contra infecções no local da ferida (Dong *et al.*, 2022).

Figura 8: Liberação de AgNPs de nanofibras e mecanismos de ação em células microbianas.



Fonte: Villarreal-Gómez *et al.*, 2021.

Membranas poliméricas com a adição de NPs metálicas apresentaram atividades antimicrobianas superiores (Cai *et al.*, 2023). Além disso, a eficiência de AgNPs aumenta ao utilizar um carreador (Villarreal-Gómez *et al.*, 2021). A eletrofiação de membranas poliméricas com a incorporação de AgNPs já foi efetuada e seu efeito bactericida comprovado (Cai *et al.*, 2023; Hu *et al.*, 2023; Moura *et al.*, 2017; Rouhi e Golshan Ebrahimi, 2023).

Sendo assim, a adição de AgNPs nas membranas funcionalizadas é de grande interesse e indica proporcionar aceleração na cicatrização de feridas quando em conjunto com as fibras poliméricas e vidro bioativo.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

A presente seção descreve detalhadamente os materiais utilizados e os procedimentos experimentais adotados para o desenvolvimento e caracterização de membranas eletrofiadas com potencial aplicação no tratamento de feridas crônicas contaminadas. Com base na literatura recente e nos objetivos do estudo, foram selecionados polímeros biocompatíveis, partículas bioativas e agentes antimicrobianos para compor formulações de modo a promover simultaneamente suporte estrutural, regeneração tecidual e controle microbiano.

### 4.1 MATERIAIS

#### 4.1.1 Polímeros

Utilizou-se poli caprolactona (PCL) com peso molecular médio de 80000 g/mol e densidade igual a 1,145 g/mL, fornecido como pellet por Sigma Aldrich, Saint Louis, EUA. Outro polímero utilizado foi o poli(óxido de etileno) (PEO) com peso molecular médio de 900000 g/mol e densidade 1,21 g/mL, fornecido por Sigma Aldrich, Saint Louis, EUA na forma de pó.

#### 4.1.2 Solvente

Como solvente foi utilizado o clorofórmio ( $\text{CHCl}_3$ ) com 99,80 % de pureza (LabSynth, Diadema, Brasil).

#### 4.1.3 Vidro bioativo

O componente bioativo da membrana é o vidro LZS com tamanho médio de partícula  $d_{50} = 3,5 \mu\text{m}$ , área superficial específica de  $2,45 \text{ m}^2/\text{g}$  e composição de 19,58  $\text{Li}_2\text{O}$ . 11,10  $\text{ZrO}_2$ . 69,32  $\text{SiO}_2$  ( %mol). O vidro foi obtido pela homogeneização e fusão das matérias-primas de pureza analítica (carbonato de lítio, silicato de zircônio e quartzo) em cadinho de platina a  $1500 \text{ }^\circ\text{C}$  por 4 h. O vidro fundido foi vertido em água destilada e as fritas obtidas foram moídas. A composição química ( %massa) medida por espectroscopia atômica de absorção e fluorescência de raios X mostra

que o vidro LZS contém 68,02 % SiO<sub>2</sub>, 22,20 % ZrO<sub>2</sub> e 8,63 % Li<sub>2</sub>O. Mais detalhes sobre a obtenção e caracterizações deste vidro podem ser encontrados em trabalhos anteriores (Arcaro *et al.*, 2017; Arcaro *et al.*, 2016; Possolli *et al.*, 2022; Teixeira *et al.*, 2012)

#### **4.1.4 Nanopartículas de prata**

Foram empregadas AgNPs em pó, com tamanho médio de partícula de  $65 \pm 25$  nm e área superficial de  $1,15 \text{ m}^2/\text{g}$ , produzidas pelo método de síntese verde pela redução de AgNO<sub>3</sub> com *Croton lechleri* e/ou *Melaleuca alternifolia* e estabilizado com Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> e remoção do solvente por secagem em estufa a 100 °C durante 48 h. A desaglomeração das NPs foi feita em almofariz e pistilo.

## **4.2 MÉTODOS**

### **4.2.1 Preparação das suspensões para definição dos parâmetros de eletrofiação**

A etapa inicial do estudo consistiu na produção de uma formulação completa de membranas eletrofiadas, contendo policaprolactona PCL e PEO na proporção de 7:1, com adição de 0,25 % de vidro bioativo do sistema LZS e 0,5 % de AgNPs, dispersos em solução polimérica a 8 % em massa utilizando clorofórmio como solvente. Iniciar a definição dos parâmetros de eletrofiação com a formulação completa fundamenta-se no fato de que a presença de partículas inorgânicas, como o LZS e as AgNPs, interfere significativamente nas propriedades físico-químicas da suspensão, como viscosidade, condutividade elétrica e tensão superficial — fatores que influenciam diretamente na formação das fibras durante o processo de eletrofiação. Dessa forma, buscou-se inicialmente otimizar as condições de processamento para a formulação mais complexa, considerando que esta representaria o maior desafio técnico quanto à estabilidade do jato, uniformidade das fibras e deposição adequada no coletor.

Para isso, inicialmente, o pó do vidro LZS e as AgNPs, previamente secos em estufa, foram adicionados em clorofórmio. Para melhor dispersão, a suspensão foi dispersa em ultrassom (Ecosonics, QR550) por 2 min e agitada em agitador magnético

por 30 min. Em seguida, foram adicionados os polímeros PCL e PEO, na concentração de 8 % em massa, na proporção de 7:1. Assim, permaneceram sob agitação magnética até que a homogeneização estivesse completa.

As variáveis de processo ajustadas incluíram a tensão aplicada, a vazão da solução e a distância entre a agulha e o coletor. As membranas obtidas foram avaliadas quanto ao diâmetro médio das fibras, porosidade, molhabilidade e aspecto morfológico, com o objetivo de determinar os parâmetros mais adequados para a produção de membranas estáveis e funcionais.

A partir da definição dos parâmetros ideais para a formulação completa, procedeu-se à fabricação de membranas comparativas, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Composição de cada membrana e sua nomenclatura

Nomenclatura	Polímero (8 % m/v)	LZS ( % m/v)	AgNP ( % m/v)
PCL	PCL	0	0
PCL/PEO	PCL 7: 1 PEO	0	0
LZS	PCL 7: 1 PEO	1	0
Ag	PCL 7: 1 PEO	0	1,5
LZS/Ag	PCL 7: 1 PEO	1	1,5

Fonte: A autora, 2025

Todas as adições foram calculadas para uma relação de massa em volume de suspensão. A preparação dessas suspensões foi feita de acordo com o descrito anteriormente. Essa estratégia permitiu isolar os efeitos da adição do PEO, do LZS e das AgNPs, viabilizando a avaliação sistemática da influência de cada componente na morfologia, estrutura e propriedades funcionais das membranas eletrofiadas.

#### 4.2.2 Eletrofiação

As suspensões foram submetidas à eletrofiação em *electrospinning* (DBM Eletrotech). O equipamento consiste basicamente em uma fonte de alta tensão, uma seringa de 10 mL conectada a uma agulha metálica romba (com a extremidade da ponta cortada) de 25 mm x 0,7 mm (Descarpack, São Paulo, SP, Brasil) e rolo coletor. O uso da fonte de tensão gera uma diferença de potencial entre a ponta da agulha e

o coletor metálico, fazendo com que a suspensão presente na seringa seja ejetada em direção ao coletor e depositada na superfície do mesmo. O rolo coletor é rotacionado em velocidade constante, assim formando uma rede a partir dos fios depositados aleatoriamente, o que resultará em um tecido poroso. Os principais parâmetros a serem ajustados durante o processo são a tensão da fonte, a vazão de material ejetado da ponta da agulha e a distância entre a agulha e o coletor. Fatores do ambiente como a temperatura e umidade relativa do ar também interferem no processo. A temperatura foi mantida em 21 °C com o auxílio de um equipamento de ar-condicionado.

Como ponto de partida para a eletrofição, foi utilizado os polímeros PCL e PEO na proporção de 7:1, em uma concentração de 8 % (m/v) em clorofórmio como solvente, com 0,25 % de LZS e 0,5 % de AgNP (m/v). Mantendo-se uma vazão de 0,16 mL/min e distância de 15 cm entre a ponta da agulha e o coletor, foram avaliadas as tensões de 11; 16 e 20 kV. Após a eletrofição, as membranas foram secas em dessecador por pelo menos 24 h para eliminar possível presença de solvente.

Para escolher os parâmetros de produção das membranas eletrofiadas foram avaliados diâmetro de fibra, porosidade e molhabilidade, determinando os valores que mais favorecem o desenvolvimento celular de acordo com a literatura.

Assim, determinando-se a tensão adequada, foram variadas as vazões: 0,07; 0,12 e 0,16 mL/min. A partir desses resultados, pôde-se determinar a faixa de variação dos parâmetros para melhor processamento de produção das membranas.

Posteriormente, com os parâmetros ajustados, foram produzidas as membranas para as comparações: contendo apenas PCL ou PCL/PEO, PCL/PEO apenas com LZS ou apenas com AgNPs, sob as mesmas condições de eletrofição, preparadas de acordo com o descrito na seção anterior.

#### **4.2.3 Caracterização das membranas eletrofiadas**

Após o processamento por eletrofição e posterior secagem sob condições ambiente, as membranas obtidas foram submetidas a um conjunto abrangente de análises físicas, químicas, térmicas, morfológicas e biológicas, com o objetivo de avaliar sua adequação às exigências de aplicações biomédicas em curativos para feridas crônicas contaminadas. A caracterização foi conduzida com foco na verificação da morfologia das fibras, distribuição e integração dos componentes funcionais (LZS

e AgNPs), propriedades de superfície e comportamento frente a fluidos fisiológicos, além de testes preliminares de biocompatibilidade e funcionalidade (citotoxicidade e migração celular).

#### 4.2.3.1 Análise morfológica

As membranas foram analisadas quanto a sua morfologia para identificar a presença de defeitos, diâmetro das fibras e distribuição do vidro bioativo e das AgNPs. Menores diâmetros de fibra, ausência de defeitos e distribuição uniforme de partículas são desejados. Foi utilizado Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV, Zeiss, EVO MA 10. Com ampliação de 5000x) acoplado à análise de raios X por dispersão de energia (EDS, XFlash 6/10, Bruker). As amostras foram revestidas com ouro por pulverização catódica (Q156R-ES, Quorum) para essas análises. As imagens foram posteriormente analisadas com auxílio de um software de imagem (Image J) para o cálculo do diâmetro médio das fibras obtidas, considerando 100 pontos diferentes para cada membrana, pelo método do intercepto linear.

#### 4.2.3.2 Análise dos grupos funcionais

Foi utilizada a técnica de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) com reflectância total atenuada (ATR) (Bruker, Tensor II), de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  para observar os grupos funcionais presentes nas membranas.

#### 4.2.3.3 Porosidade

Outro fator desejado e determinante para a primeira seleção das membranas a serem fabricadas é a maior porosidade obtida. A porosidade (P %) das membranas foi calculada pela relação entre a densidade real ( $D_{real}$ ) e a densidade aparente ( $D_{ap}$ ) conforme a Equação 1.

$$P = \left(1 - \frac{D_{ap}}{D_{real}}\right) \times 100 \quad (1)$$

A densidade aparente foi medida geometricamente ao cortar-se a membrana em formatos com lados de tamanho conhecido, com auxílio de paquímetro (Mitutoyo 150 mm) e ao medir a espessura utilizando um micrômetro (Mitutoyo, MDC-Lite), obtendo-se o volume da membrana. Os formatos previamente cortados e medidos foram então pesados em balança de precisão (Shimadzu, AUY220). A densidade aparente foi calculada pela Equação 2, onde  $m$  é a massa (g) e  $v$  é o volume ( $\text{cm}^3$ ).

$$D_{ap} = \frac{m}{v} \quad (2)$$

A densidade real foi determinada por um picnômetro a gás hélio (AccuPyc 1340, Micrometrics, USA).

#### 4.2.3.4 Molhabilidade por ângulo de contato

O tratamento ideal para a cicatrização de feridas crônicas requer a permanência de umidade no local da ferida; sendo assim, o comportamento do curativo em relação à água é de extrema importância. A análise de molhabilidade por ângulo de contato define o caráter hidrofóbico ou hidrofílico de um material. Consiste na medição do ângulo de contato formado entre uma gota de água e a superfície do material em que foi depositada. Um ângulo interno maior que  $90^\circ$  caracterizará uma membrana não molhante. Se o ângulo interno for menor que  $90^\circ$  o material será considerado hidrofílico, ou seja, a superfície é molhante, na qual há facilidade de penetração da água, aspecto desejado para a aplicação em questão.

Para efetuar a análise, foi depositado uma gota (0,01 mL) com agulha de 25 mm x 0,7 mm de água destilada na superfície da membrana (1 cm x 1 cm). A partir de capturas de imagem imediatamente após o gotejamento, foram calculados os ângulos formados em software (Image J). A análise foi realizada em triplicata.

#### 4.2.3.5 Análise térmica

A fim de se determinar a temperatura de degradação das membranas, para garantir sua integridade na temperatura de aplicação, bem como avaliar a interação entre PCL e PEO, foi realizada análise termogravimétrica em equipamento acoplado

com análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC-TG) (NETZSCH STA). A análise foi efetuada em ar sintético, com vazão de 100 mL/min e taxa de aquecimento de 10 °C/min até 400 °C.

#### 4.2.3.6 Liberação de íons

Espera-se que as membranas produzidas promovam aceleração da cicatrização de feridas. Isso seria consequência da interação dos componentes da membrana com o tecido danificado. Essa interação se dá por meio da liberação desses componentes da estrutura em que se encontram, na forma de íons. O lítio, que tem potencial para promover a reparação tecidual, foi medido nas membranas que contém LZS. Já os íons de prata, que conferem a capacidade antimicrobiana, foram analisados nas membranas que contém AgNPs. Para quantificar e comprovar que há a liberação desejada, as membranas (2 cm x 2 cm) foram imersas em solução PBS (5 mL) a 37 °C por até 5 dias. Após os períodos de imersão, os íons liberados na solução foram quantificados por espectrometria de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

#### 4.2.3.7 Análise de pH da superfície

O pH local interfere na taxa de cicatrização de uma ferida, sendo um parâmetro importante quando se deseja a aceleração do processo de reparação tecidual. Dessa forma, para analisar o efeito das membranas no pH local de forma mais similar à aplicação possível, as membranas foram imersas em solução de PBS e incubadas a 37 °C. Após 1, 7, 14 e 21 dias, os valores de pH da solução em contato com as membranas foram medidos utilizando-se um pHmetro (AKSTO, modelo AK95).

#### 4.2.3.8 Bioatividade

Para comprovar a bioatividade das membranas contendo LZS, estas foram expostas a um fluido corporal simulado (SBF), preparado de acordo com Kokubo e Takadama (2006a) e um padrão (ISO 23317, 2014). As membranas foram cortadas nas dimensões de 10 mm x 10 mm e imersas em 10 mL de solução SBF por até 21 dias a 37 °C. A solução de SBF foi renovada a cada 7 dias. Após cada período de

imersão, as membranas foram lavadas suavemente com água deionizada e secas em temperatura ambiente. O procedimento foi feito em triplicata. As membranas foram analisadas por MEV e EDS a fim de identificar a formação de camada de apatita em sua superfície após a exposição ao SBF.

#### 4.2.3.9 Capacidade de intumescimento e degradação das membranas

A determinação da capacidade de intumescimento das membranas simula a absorção dos exsudatos liberados na ferida, aspecto importante na sua cicatrização. Ter conhecimento da degradação e perda de massa dos curativos quando em contato com estes líquidos também é de grande interesse para a aplicação desejada. Amostras de 10 mm x 10 mm das membranas foram pesadas ( $m_0$ ) e em seguida, imersas em 10 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) (pH 7,4) e mantidas a 37 °C por 24 h. O excesso de PBS foi absorvido por papel filtro e a massa após a imersão será medida e denominada  $m_1$ . A capacidade de intumescimento ( $Sc$ ) foi calculada de acordo com a Equação 3. O ensaio foi realizado em triplicata.

$$Sc (\%) = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100 \% \quad (3)$$

As amostras de mesma dimensão foram previamente pesadas secas ( $m_0$ ) e imersas em 10 mL de PBS por até 49 dias a 37 °C. O excesso de PBS foi absorvido com papel filtro e as membranas secaram a 37 °C até apresentarem valores de massa constantes. A massa seca foi denominada  $m_2$  e a perda de massa ( $WL$ ) foi determinada pela Equação 4.

$$WL = \frac{m_0 - m_2}{m_0} \times 100 \% \quad (4)$$

#### 4.2.3.10 Citotoxicidade

A citotoxicidade é a capacidade de um material de causar dano celular. O teste do MTT é um teste colorimétrico muito usado para avaliar a viabilidade celular. Esse tipo de ensaio se baseia na medida do dano induzido por composto em estudo no metabolismo celular, que ocorre usualmente por meio da avaliação da atividade de

desidrogenase mitocondrial presente apenas em células metabolicamente viáveis. A viabilidade mitocondrial e, conseqüentemente, a viabilidade celular, serão quantificadas pela redução do MTT ((3-(4,5-dimethylthiazolyl-2) -2,5-diphenyltetrazolium bromide), um sal de coloração amarela e solúvel em água) a formazan (sal de coloração roxo e insolúvel em água) e pela atividade daquelas enzimas. Dessa forma, a redução do MTT a formazan é diretamente proporcional à atividade mitocondrial e à viabilidade celular.

A viabilidade celular das membranas foi avaliada em linhagem celular de fibroblasto (NIH3T3) murino. As células foram cultivadas em meio Dulbecco's Eagle Modificado (DMEM), suplementadas com 10 % de soro bovino fetal, Penicilina (100 unidades/mL), Estreptomicina (100 mg/mL) e 4 mM/L de Glutamina a 37 °C, em garrafas de cultura celular de 25 mL e mantidas em uma estufa a 37 °C, com 5 % de CO<sub>2</sub>. Todos os reagentes foram obtidos pela Sigma Aldrich. Para propósitos experimentais, as células foram tripsinizadas e ajustadas para uma concentração de 10<sup>4</sup> células/poço e plaqueadas em uma placa de cultura de fundo plano de 96 poços. Após o tempo de incubação (24 h), as células foram tratadas com meio DMEM contendo as diferentes membranas em PBS.

As células em contato com as amostras foram novamente incubadas por 24 h em uma estufa, a 37 °C, com 5 % de CO<sub>2</sub>. Após o tempo de incubação, o meio de cultura foi retirado e 100 µL (0,5 mg/mL) do Brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il -2,5-difeniltetrazólio) (MTT) (Sigma, MO, EUA) foram adicionados para avaliar a viabilidade celular.

Na sequência, a placa foi novamente incubada por 3 h em linhagem celular de fibroblasto (NIH3T3) murino em uma estufa a 37 °C e 5 % de CO<sub>2</sub> para permitir a reação de formação do formazan. Após o período de incubação, o meio contendo a solução de MTT foi removido e os cristais de formazan foram dissolvidos em 100 µL de álcool isopropílico. Por fim, a placa foi analisada em um leitor de placas por absorvância, no comprimento de onda de 570 nm.

#### 4.2.3.11 Migração celular

A taxa de migração celular mostra a capacidade de cicatrização da ferida das membranas, ao promover crescimento e reparo tecidual. O teste de “*scratch*” (traduzido por arranhão) ocorre a partir da observação de uma lacuna formada em

uma monocamada de células até que a lacuna desapareça. São feitas capturas de imagens imediatamente após a criação do arranhão (lacuna) e em intervalos predeterminados e constantes, a fim de analisar a migração celular e posteriormente determinar a taxa dessa migração para as diferentes amostras.

Células de fibroblastos embrionários de camundongo (NIH 3T3) foram incubadas em placas de cultura de 12 poços (Kasvi) em uma concentração de  $3 \times 10^5$  células/poço. Sendo cultivadas em meio de Eagle modificado por DMEM contendo L-glutamina 2 mM, piruvato de sódio 1 mM, 10 mg/mL de penicilina/estreptomicina e 10 % (v/v) de FBS (soro bovino fetal, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific), Rodano, Itália) por 48 h a 37°C, 5 % de CO<sub>2</sub> e 95 % de umidade. O arranhão foi efetuado com o uso de uma ponta de pipeta P20 (TPP). O meio de cultura foi aspirado e 1 mL de solução de PBS foi empregado para lavar as células desprendidas durante a formação do arranhão. Retirada a solução de PBS, as amostras de membranas (em triplicata) foram inseridas em cada poço e levadas para o microscópio invertido Axio Observer Z1 (Zeiss) com uma câmera fotográfica acoplada (AxioCam mri, Zeiss), com uma objetiva de 10x (abertura Eclplan-Neofluar 10x/0,3 Zeiss). As imagens foram capturadas em dois momentos: tempo 0 h (imediatamente após a criação do arranhão) e tempo 24 (24 h após o arranhão). Para cada imagem, o ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA) foi usado para medir a área do espaço entre as bordas do arranhão. A taxa de migração celular (porcentagem de fechamento da ferida) foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Fechamento da ferida (\%)} = \frac{A_0 - A_{24}}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

Onde A<sub>0</sub> é a área do intervalo no tempo 0 e A<sub>24</sub> é a área do intervalo no tempo 24 h.

#### 4.2.3.12 Análise de atividade antibacteriana

A atividade antimicrobiana das membranas foi avaliada contra a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6536P). O cultivo partiu da inoculação do microrganismo criopreservado em 10 mL caldo infusão-cérebro-coração (BHI) e incubação a 37 °C por 24 h em estufa bacteriológica (Nuair). Após o preparo de

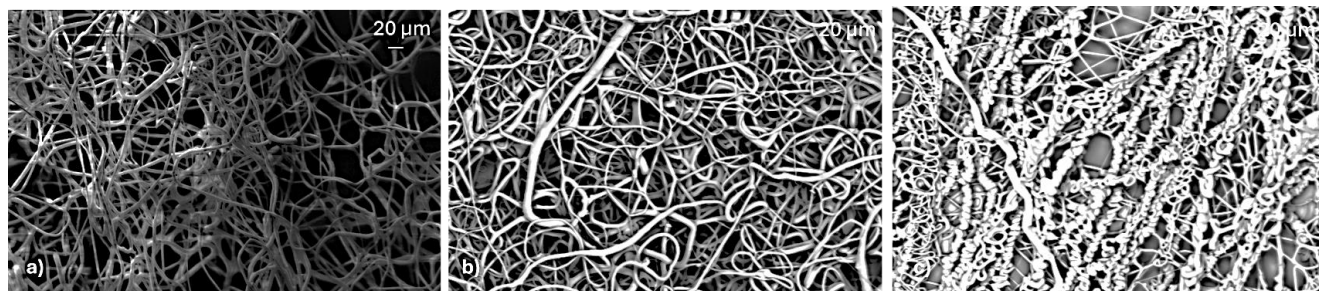
placas de Petri contendo o meio de cultura sólido Ágar Mueller Hinton, 20 µL da suspensão bacteriana em BHI foram espalhados nas placas e incubados a 37 °C por 24 h para garantir a não contaminação. Uma unidade formadora de colônia isolada crescida na placa foi adicionada em 10 mL de BHI, com o auxílio de uma alça de inoculação descartável e incubada por 12 h a 37 °C. Um espectrofotômetro UV/Vis (Thermoscientific, Varioskan LUX) foi utilizado para a determinação da concentração bacteriana. Após o período de incubação, foram obtidas suspensões com densidade óptica (DO) a 600 nm de 0,015. As membranas foram cortadas nas dimensões 20 mm x 20 mm, esterilizadas por exposição à luz ultravioleta por 1 h, 30 min de cada lado. Soluções (10 mL) contendo 10 % da suspensão bacteriana e 90 % de caldo BHI foram incubadas juntamente com as membranas, controle negativo (sem membranas e sem inoculação bacteriana) e controle positivo (sem membranas e com inoculação bacteriana) por até 48 h. A análise foi realizada em triplicata. Todos os procedimentos descritos foram realizados em capela de fluxo laminar (Filterflux) na presença de chama proveniente de um bico de Bunsen para evitar contaminação. Todos os materiais utilizados foram esterilizados em autoclave vertical (Phoenix) a 121 °C por 15 min.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 DEFINIÇÃO DOS PARÂMETROS DE ELETROFIAÇÃO

A definição dos parâmetros de eletrofiação foi efetuada avaliando-se diâmetro de fibra, porosidade, molhabilidade e aspecto visual de membranas eletrofiadas compostas por PCL e PEO na proporção de 7:1, 8 % em massa em clorofórmio, com 0,25 % de LZS e 0,5 % de AgNP. A Figura 9 mostra as membranas eletrofiadas sob uma vazão constante (0,16 mL/min) com tensões de 11, 16 e 20 kV. A Tabela 2 contém os diâmetros de fibra, ângulo de contato e porosidade para cada. O procedimento realizado com 20 kV gerou uma deposição de fibras visivelmente menos espaçada, dificultando a medição de seu diâmetro. Esse aspecto pode diminuir a área superficial disponível para interações com a ferida, fator que levou à não seleção desta tensão para produção das amostras. Percebe-se um pequeno aumento do diâmetro de fibra com o aumento da tensão na Figura 9 a) e b) (0,28  $\mu\text{m}$ ). Já foi reportado que o aumento da tensão aplicada resulta em um aumento de diâmetro de fibra para membranas de PCL (Can-Herrera *et al.*, 2021; Cipitria *et al.*, 2011; Sarabi-Mianeji, Scott e Pagé, 2015). Diferentes relações entre tamanho de fibra e tensão utilizada no processo de eletrofiação podem ser feitas para um mesmo polímero com uma variação de solvente por exemplo (Kołbuk, Sajkiewicz e Kowalewski, 2012). Valores de tensão maiores aceleram a solução polimérica em direção ao coletor, o que reduz o tempo entre a saída da agulha e a deposição do jato, ou seja, reduz-se o tempo de alongamento da fibra em formação, o que leva a diâmetros de fibra maiores (Can-Herrera *et al.*, 2021). Neste trabalho, porém, essa alteração foi de apenas 0,06 %. Assim, avaliando-se as mais significativas diferenças na porosidade, determinou-se 16 kV como parâmetro de tensão a ser utilizado, visto que a porosidade ótima para membranas de PCL é acima de 90 % devido à degradação apropriada e melhor performance de resposta celular (White, Jurczyk e Horn, 2021; Zhang *et al.*, 2013). Além disso, otimização da morfologia de membranas eletrofiadas de PCL para crescimento de células epiteliais avaliou diâmetros de fibra variando entre 1,64 e 4,83  $\mu\text{m}$ , e concluiu que o maior valor (4,83  $\mu\text{m}$ ) é mais adequado para viabilidade e proliferação de células epiteliais humanas, assim como maior infiltração celular, que gerou aumento em marcador de angiogênese (Reid, McDonald e Callanan, 2020).

Figura 9: Micrografias das membranas eletrofiadas em uma vazão de 0,16 mL/min em diferentes tensões. a) 11 kV; b) 16 kV e c) 20 kV



Fonte: A autora, 2025

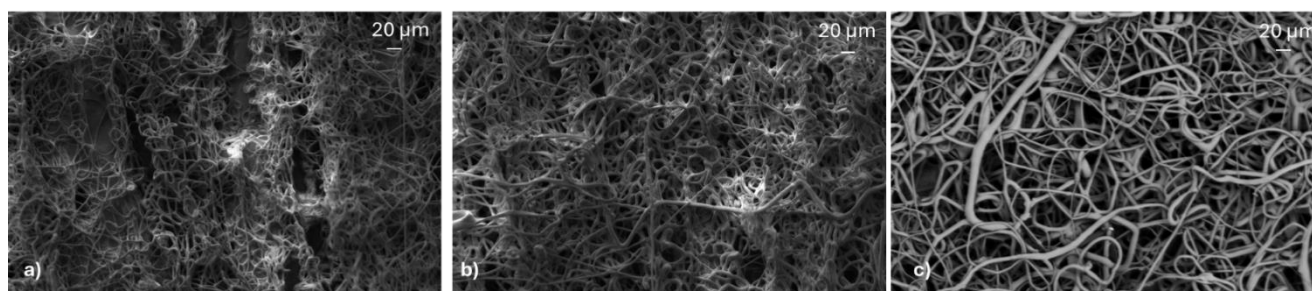
Tabela 2: Variação do diâmetro de fibra, molhabilidade por ângulo de contato e porosidade das membranas com a tensão ao fixar a vazão em 0,16 mL/min.

Tensão (kV)	Diâmetro de fibra ( $\mu\text{m}$ )	Ângulo de contato em 0 s ( $^{\circ}$ )	Ângulo de contato em 3 s ( $^{\circ}$ )	Porosidade (%)
11	$4,55 \pm 1,84$	$61,65 \pm 2,30$	0	$86,12 \pm 1,36$
16	$4,83 \pm 2,01$	$66,34 \pm 3,33$	0	$91,30 \pm 1,26$
20	-	$66,34 \pm 3,18$	0	$93,59 \pm 0,42$

Fonte: A autora, 2025

Com o valor de tensão fixado, foram eletrofiadas membranas em três diferentes vazões, apresentadas na Figura 10. Como observado na Tabela 3, o diâmetro de fibra e molhabilidade não sofreram grande alteração. Já é esperado que o aumento da vazão de solução leve à maiores diâmetros de fibra, já que há saída de maior quantidade de material da ponta da agulha (Sarabi-Mianeji, Scott e Pagé, 2015). Contudo, novamente a porosidade acima de 90 % foi o parâmetro para determinar a variável selecionada, visto que para uma pequena variação no diâmetro de fibra (de 4,16 para 4,83  $\mu\text{m}$ ) a diferença de porosidade foi de aproximadamente 10 % (Zhang *et al.*, 2013). Assim, a produção das amostras teve como padrão valores de tensão de 16 kV e vazão de 0,16 mL/min, que, de acordo com a literatura, possuem maior potencial de propiciarem condições no leito de ferida que favoreçam a angiogênese e proliferação de células epiteliais, e assim, podem constituir curativos que acelerem a cicatrização e reparo tecidual.

Figura 10: Micrografias das membranas eletrofiadas em uma tensão de 16 kV em diferentes vazões. a) 0,07 mL/min; b) 0,12 mL/min e c) 0,16 mL/min



Fonte: A autora, 2025

Tabela 3: Variação do diâmetro de fibra, molhabilidade por ângulo de contato e porosidade das membranas com a vazão ao fixar a tensão em 16 kV

Vazão (mL/min)	Diâmetro de fibra ( $\mu\text{m}$ )	Ângulo de contato em 0 s ( $^{\circ}$ )	Ângulo de contato em 3 s ( $^{\circ}$ )	Porosidade (%)
0,07	$3,29 \pm 0,93$	$67,47 \pm 1,11$	0	$83,18 \pm 0,61$
0,12	$4,16 \pm 1,04$	$64,27 \pm 1,78$	0	$81,73 \pm 2,82$
0,16	$4,83 \pm 2,01$	$66,34 \pm 3,33$	0	$91,31 \pm 1,26$

Fonte: A autora, 2025.

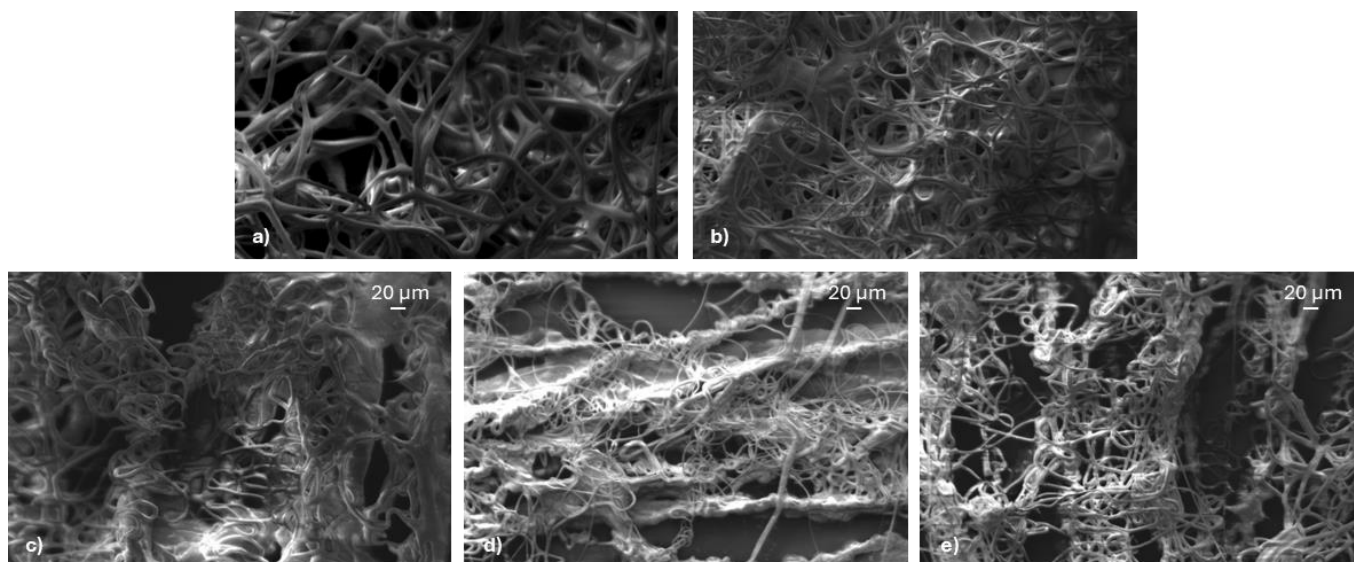
## 5.2 CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DAS MEMBRANAS ELETROFIADAS COM E SEM VIDRO BIATIVO E NANOPARTÍCULAS DE PRATA

### 5.2.1 Análises morfológicas

As imagens obtidas por microscópio eletrônico de varredura (MEV) são mostradas na Figura 11 e mostram que as partículas do vidro bioativo e das NPs não ficaram evidentes visualmente. Isso porque suas partículas são menores que o diâmetro dos fios formados, indicando que o LZS e a AgNP (3,5  $\mu\text{m}$  e 65 nm respectivamente) ficaram encapsulados nas fibras. A adição de PEO à solução de PCL diminuiu o diâmetro das fibras. Essa influência já é conhecida visto que PEO possui maior viscosidade devido seu alto peso molecular, que confere um entrelaçamento de cadeias suficiente para possibilitar o alongamento contínuo do jato eletrofiado, tornando-o mais fino (Hong, Edirisinghe e Mahalingam, 2016). Em blendas

poliméricas, o aumento da concentração de PEO em matrizes de PCL provoca menores tamanhos de fibra (Afshar *et al.*, 2024).

Figura 11: Micrografias das membranas eletrofiadas: a) PCL; b) PCL/PEO; c) LZS; d) Ag e e) LZS/Ag



Fonte: A autora, 2025

A carga de LZS não provocou grande alteração (aumento de 0,46  $\mu\text{m}$ ). Como já investigado em membranas de PCL, a incorporação de partículas de vidro bioativo, embora possam induzir um aumento na distribuição de diâmetros de fibra, não alteram significativamente o diâmetro médio (Luginina *et al.*, 2020). Já a presença de 1,5 % de AgNPs causou redução de aproximadamente 2,32  $\mu\text{m}$  no diâmetro dos fios. Isso ocorre pela presença de mais íons em solução que aumentam a carga superficial e a força eletrostática gerada pelo campo elétrico; isso aumenta a condutividade da solução polimérica, o que diminui o diâmetro das fibras formadas (Arayanarakul *et al.*, 2006; Haider, Haider e Kang, 2018; Klairutsamee, Supaphol e Jangchud, 2015). Especialmente as matrizes de PCL são suscetíveis ao desenvolvimento de soluções poliméricas com maiores condutividades elétricas, já que contêm uma base de Lewis (grupo éster), que forma complexos com os sais adicionados (Malikmammadov *et al.*, 2018).

A composição da membrana com PCL, PEO, LZS e AgNP apresentou pequena variação no diâmetro, uma redução de 0,68  $\mu\text{m}$ , ou seja, a influência do LZS ao aumentar as fibras é maior que a tendência da prata de reduzi-las. Como também pode-se analisar pela Tabela 4, a porosidade da membrana foi elevada pelo biovidro

e pela AgNP individualmente assim como na sua adição em conjunto. A adição de partículas de vidro bioativo geralmente eleva a rugosidade da superfície, criando canais que favorecem a passagem de fluidos, sendo benéficas para infiltração celular e troca de nutrientes (Deliormanlı e Konyalı, 2019; Fonseca *et al.*, 2020). Da mesma forma, as AgNPs podem aumentar a porosidade ao criarem mais espaços vazios na estrutura da fibra, pela introdução de mais defeitos na superfície polimérica (Cerkez, Sezer e Bhullar, 2017).

Estudos apontam a faixa de 100 a 500 nm como desejável para aplicações em tratamento de feridas, já que definem como modelo a própria matriz extracelular da pele humana (Iranpour Mobarakeh *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2018). Contudo, cada etapa do processo de cicatrização tecidual pode requerer condições ótimas variadas, por isso, é difícil estabelecer um valor de diâmetro de fibra que otimize todos os processos. Não raramente é encontrado na literatura que maiores diâmetros de fibra promovem maior proliferação celular, por disponibilizarem maior espaço na superfície para a adesão e expansão das células (Herrero-Herrero *et al.*, 2021). Membranas eletrofiadas de PCL promoveram maiores taxas de proliferação celular para fibras com diâmetro médio de 8 e 56  $\mu\text{m}$  do que 1  $\mu\text{m}$  (Gu *et al.*, 2023). Outro estudo comprovou que fibras de 3,4  $\mu\text{m}$  apresentaram melhores condições de adesão, espalhamento e proliferação celular em matrizes de PCL do que membranas com diâmetros médios de 0,1; 0,8 e 1,9  $\mu\text{m}$  (Kim *et al.*, 2016).

Tabela 4: Porosidades e diâmetros de fibra das membranas produzidas

<b>Amostra</b>	<b>Porosidade ( %)</b>	<b>Diâmetro de fibra (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
PCL	85,20 $\pm$ 1,80	8,24 $\pm$ 2,16
PCL/PEO	81,93 $\pm$ 1,61	5,28 $\pm$ 1,83
LZS	84,73 $\pm$ 1,43	5,74 $\pm$ 1,83
Ag	92,58 $\pm$ 0,84	2,96 $\pm$ 1,18
LZS/Ag	87,95 $\pm$ 1,31	4,60 $\pm$ 1,60

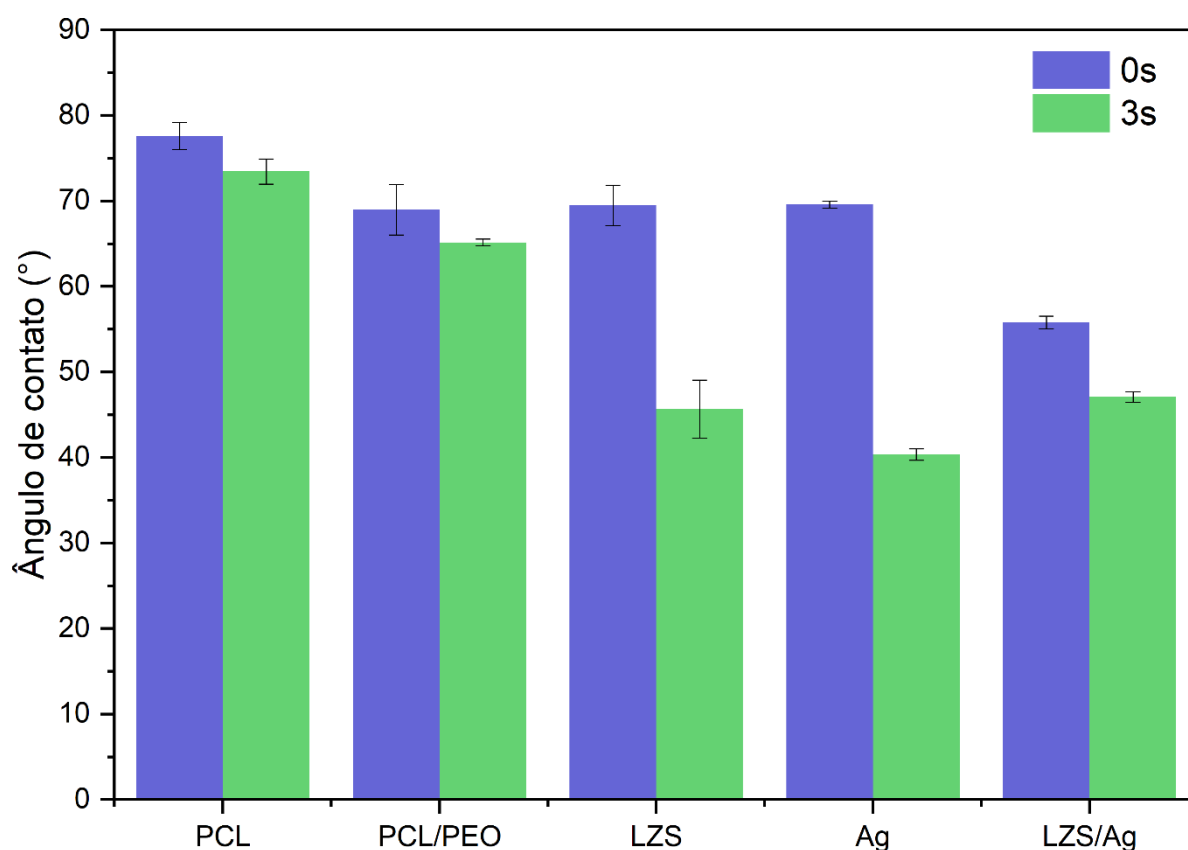
Fonte: A autora, 2025.

### 5.2.2 Molhabilidade por ângulo de contato

A criação de um ambiente ideal para a cicatrização envolve principalmente o controle de fluidos que permeiam a ferida. É necessário buscar um equilíbrio entre

a absorção de exsudados e manutenção de umidade, a fim de facilitar a proliferação, mobilidade e adesão celular, vitais para a regeneração tecidual (Sowmya e Panda, 2022a). A molhabilidade pode ser avaliada pelo ângulo formado entre uma gota de água e a superfície analisada. Ângulos maiores que  $90^\circ$  indicam natureza hidrofóbica, enquanto ângulos menores que esse valor indicam membranas hidrofílicas (Eskitoros-Togay *et al.*, 2019). Para melhor regular as interações celulares, promover adesão e crescimento celular, membranas hidrofílicas são desejáveis (Zhang, J *et al.*, 2024; Zhang, Z *et al.*, 2024). Os resultados dos ângulos de contato imediatos e após 3 s estão apresentados na Figura 12.

Figura 12: Ângulo de contato formado entre gota de água e a superfície das membranas no instante 0 e 3 s



Fonte: A autora, 2025.

Nota-se que apenas o PCL, considerado um polímero hidrofóbico, apresenta-se com ângulo de contato menor que  $90^\circ$ , caracterizando essa membrana como hidrofílica. Isso pode ter ocorrido devido à alta porosidade das membranas, que facilita a percolação de fluido pela espessura da membrana.

De qualquer forma, conforme esperado, a molhabilidade das membranas aumentou com a adição de PEO à solução polimérica, indicada pela diminuição do ângulo de contato formado entre uma gota de água ( $0,0102 \pm 0,0009$  g) e a superfície da membrana. Essa resposta à inclusão de PEO é bem conhecida e é utilizada como estratégia para aumentar a hidrofiliidade de membranas (Bani Mustafa *et al.*, 2024; Eskitoros-Togay *et al.*, 2019). A incorporação de PEO na matriz de PCL introduz grupos polares, como ligações éter (-O-), que diminuem o ângulo de contato (Mirhosseini, Haddadi-Asl e Zargarian, 2016). Outro mecanismo que justifica o aumento de hidrofiliidade das membranas pela adição de PEO é a formação de estruturas mais porosas que aumentam a área superficial disponível para contato com a água (Kim, Park e Park, 2007; Li *et al.*, 2014). A adição de LZS, AgNP ou ambos, promoveu membranas mais hidrofílicas. O que pode ser notado pela redução do ângulo de contato após de 3 s de deposição da gota, das amostras com LZS e AgNP em relação às de PCL/PEO. A incorporação de vidros bioativos em matrizes de polímeros hidrofóbicos usualmente aumenta sua molhabilidade, por incrementar rugosidade na superfície, criando microestruturas que aumentam a absorção de líquidos (Fatimah *et al.*, 2020). Também incluem grupos hidroxila, outro fator que aumenta a molhabilidade da matriz polimérica, pelo aumento de energia livre de superfície que possibilita melhor interação com fluidos fisiológicos (Abdulmajeed *et al.*, 2011; Dziadek *et al.*, 2018). Da mesma forma, a presença de AgNPs em uma membrana polimérica aumenta a rugosidade superficial e seu aumento em composição é relacionado com a diminuição de ângulo de contato (Ziǎbka e Dziadek, 2021). A adição de AgNPs em membranas eletrofiadas já foi investigada e mostrou induzir a diminuição do ângulo de contato, ou seja, aumentar sua molhabilidade (Jia *et al.*, 2012; Thomas *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2023). Estudos apontam que, quando incorporadas em uma membrana de PCL, as AgNPs criam uma superfície com polaridade mais elevada, fenômeno que pode ser aprimorado por uma distribuição homogênea de partículas ao longo das fibras poliméricas, facilitando assim, a interação do compósito com a água (Liu *et al.*, 2017; Thomas *et al.*, 2015). Foi reportado que valores de ângulo de contato ótimos para permitir a adesão celular variam entre 40 e 70° (Luginina *et al.*, 2020). Portanto, as membranas compostas com LZS e AgNPs apresentaram valores suficientes para garantir um ambiente favorável à adesão e proliferação celular, essenciais para a reparação tecidual, especialmente ao analisar os resultados após 3 s de contato com a gota.

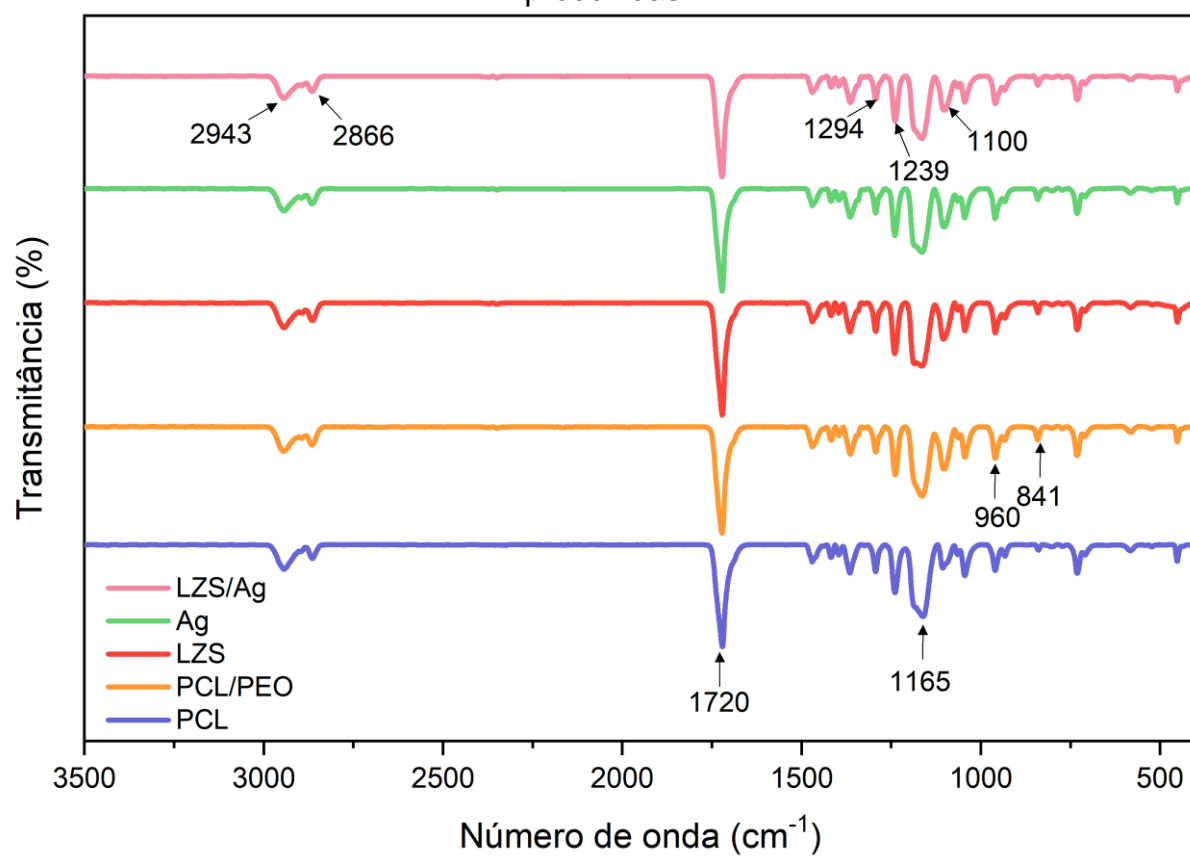
### 5.2.3 Análise dos grupos funcionais

Os espectros FTIR das membranas dispostos na Figura 13 condizem com o esperado ao exibir bandas características do PCL. As bandas em 2943 e 2866  $\text{cm}^{-1}$  representam um alongamento de metileno alifático. Um alongamento de carbonila é indicado em 1720  $\text{cm}^{-1}$  e alongamento C-O e C-C atribuído à fase amorfa entre 1160 e 1165  $\text{cm}^{-1}$ . As bandas em 1294, 1239 e 1107  $\text{cm}^{-1}$  são relacionados com fases cristalinas e alongamento C-C-O (Dalton *et al.*, 2023).

As vibrações características do PEO ocorrem em aproximadamente 1100 e 2882  $\text{cm}^{-1}$  e indicam alongamento C–O–C e CH, respectivamente (Nien *et al.*, 2013). Devido à pequena proporção de PEO em relação ao PCL nas amostras, essas bandas não ficaram evidentes. Ao aproximar a escala dos espectros nota-se um sutil aumento de intensidade na banda de número de onda 1100  $\text{cm}^{-1}$  para as membranas que contém PEO em relação a formada puramente de PCL, como ressaltado na Figura 14, obtida dos espectros já apresentados. Bandas adicionais em 960 e 841  $\text{cm}^{-1}$  podem ser atribuídos a vibrações oscilantes de  $\text{CH}_2$  do grupo metileno atribuído à morfologia molecular helicoidal do PEO (Dalton *et al.*, 2023).

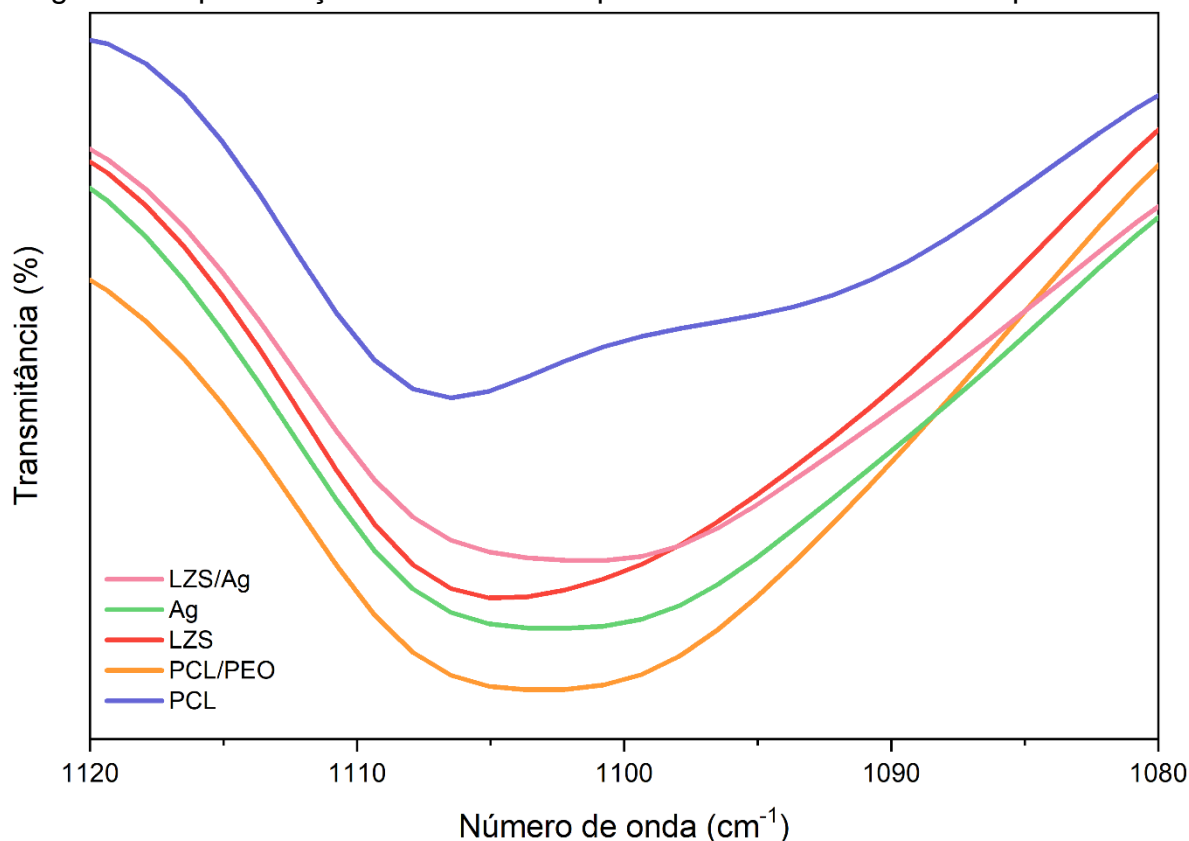
Esta análise revela que nenhuma reação química ocorreu durante a mistura dos polímeros, visto que novas ligações químicas não foram detectadas.

Figura 13: Espectro de infravermelho por Transformada de Fourier das membranas produzidas



Fonte: A autora, 2025

Figura 14: Aproximação da escala do espectro FTIR das membranas produzidas



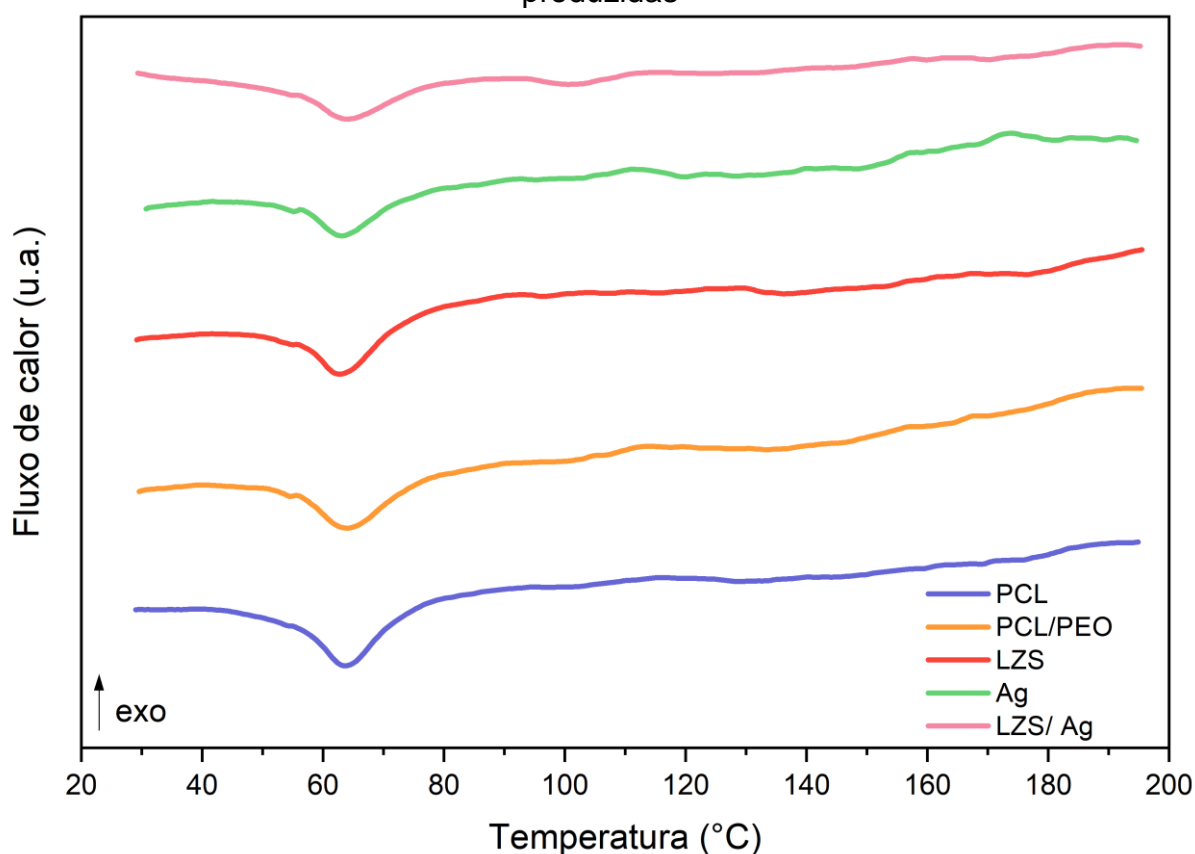
Fonte: A autora, 2025

#### 5.2.4 Análise térmica

Na Figura 15, é possível perceber o evento endotérmico que representa a temperatura de fusão em todas as amostras. O evento é mais definido para a membrana puramente de PCL, indicando sua fusão em aproximadamente 64 °C. A adição de PEO nas membranas faz com que esse pico seja menos intenso e mais alargado. Essa diferença é atenuada pela predominância do PCL na composição (PCL 7:1 PEO). Devido à similaridade das propriedades térmicas entre PCL e PEO é difícil discutir a miscibilidade dos polímeros na composição por esta análise térmica (Dalton *et al.*, 2023). A interação entre PCL e PEO não causa grande variação na temperatura de degradação da blenda polimérica, já que possuem próximas temperaturas de fusão. A presença de LZS e AgNPs também não influenciam na degradação térmica das amostras, o que já era esperado por ambos os materiais serem estáveis até a temperatura em que foi realizado o ensaio (200 °C) (George *et al.*, 2024; Possolli *et al.*, 2021). Dessa forma, sabe-se que para a aplicação desejada, a temperatura não

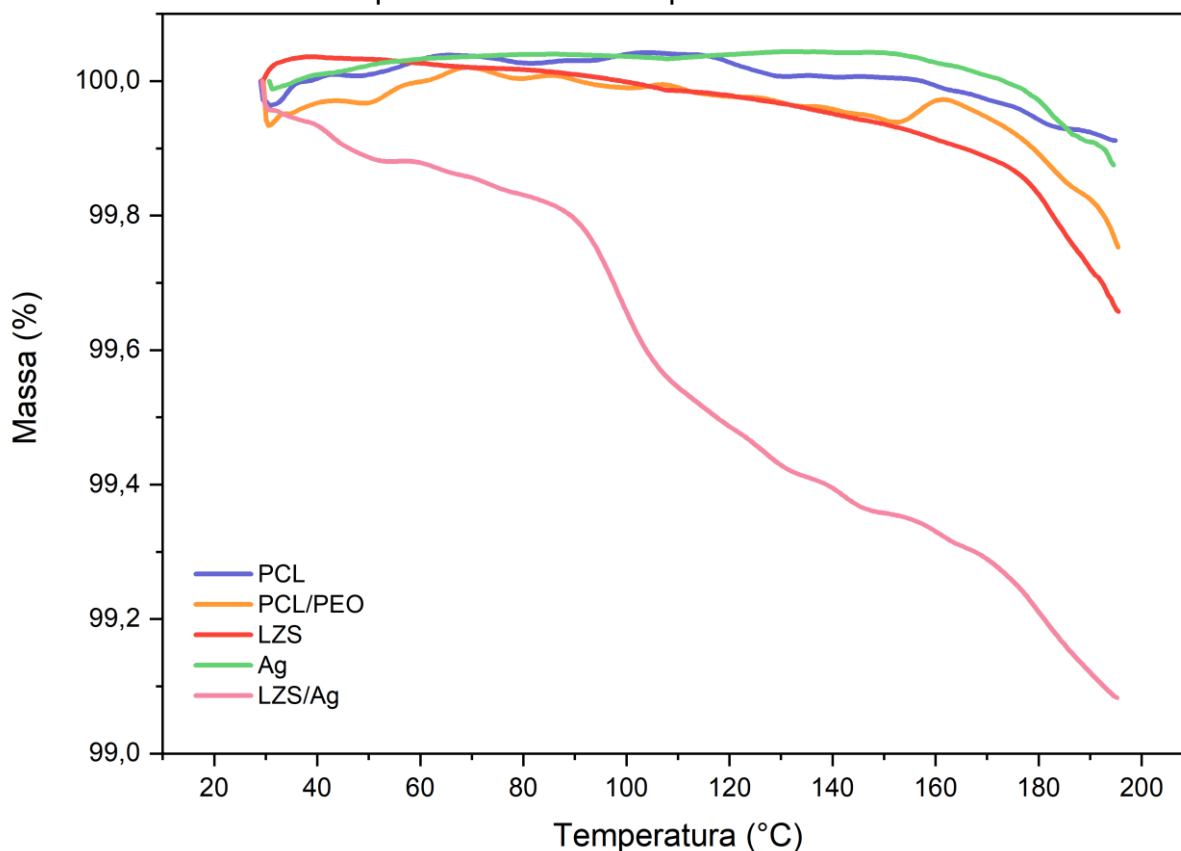
prejudicará a integridade dos curativos. A análise termogravimétrica, apresentada na Figura 16, realizada juntamente com DSC mostra que a perda de massa pela degradação térmica é mínima até 200 °C, o que garante a estabilidade térmica relacionada a variação de massa nessa faixa de temperatura, que ultrapassa a faixa utilizada na aplicação das membranas.

Figura 15: Termograma obtido pela análise de DSC-TG para as membranas produzidas



Fonte: A autora, 2025

Figura 16: Termograma obtido pela análise de DSC-TG referente à perda de massa para as membranas produzidas



Fonte: A autora, 2025

### 5.3 LIBERAÇÃO DE ÍONS

A quantificação da liberação de íons de interesse é importante para determinar o potencial de reparação tecidual das membranas, já que é baseado na capacidade do curativo de liberar gradualmente os princípios ativos que irão atuar na regeneração da ferida. O lítio foi selecionado por sua capacidade de induzir a proliferação e angiogênese de células epiteliais, redução de inflamações e re-epitelização (Yuan *et al.*, 2020). Já a liberação de íons de Ag é esperada para produzir o efeito antimicrobiano.

Assim, a liberação de íons Li e Ag em solução tampão foi avaliada por ICP-OES. Pela Figura 17, avalia-se que inicialmente (após 12 e 24 h de imersão) tanto a amostra contendo LZS quanto a incorporada por LZS e AgNP liberaram quantidades próximas de íons Li. A partir de 48 h em contato com o fluido, a membrana com apenas

adição do vidro teve concentração mais elevada, chegando a liberar cerca de 39 % do lítio contido na amostra após o maior tempo de imersão.

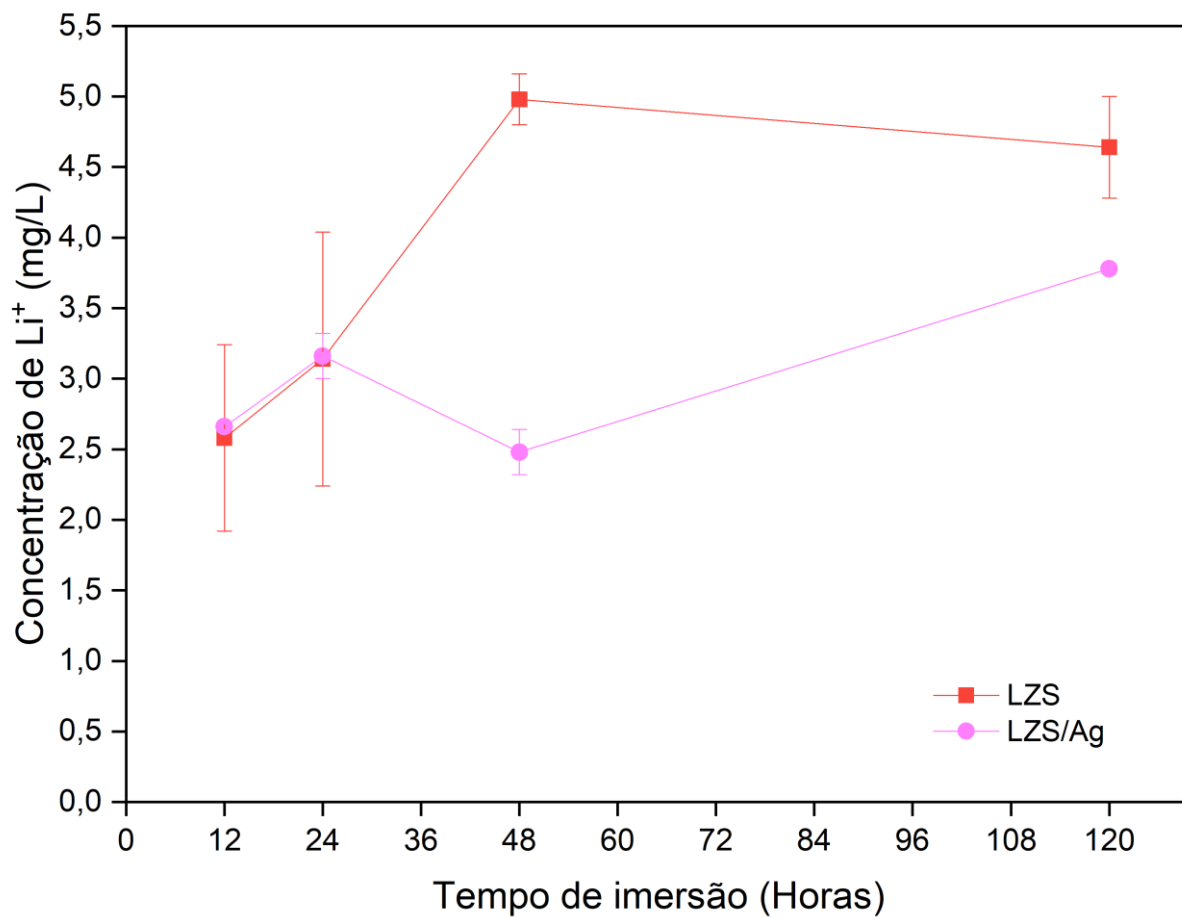
A concentração de íons Ag nas soluções está representada na Figura 18. Ao contrário do observado na liberação de lítio, a membrana LZS/Ag alcançou maiores concentrações em todos os períodos de imersão. A amostra LZS/Ag liberou aproximadamente 11 % da quantidade de Ag presente no recorte utilizado para o teste. Neste trabalho, a liberação em 5 dias de imersão foi ainda maior que a encontrada por Wang *et al.* (2013a), onde membranas eletrofiadas com 0,5 % de AgNPs apresentaram liberação de 4,5 % da Ag contida.

A liberação inicial possivelmente se deve à difusão das partículas que estavam adsorvidas na superfície das fibras poliméricas. Já as próximas etapas de liberação podem ter ocorrido pela degradação do PEO presente na composição (Dubey *et al.*, 2015)

Não há estudos que relacionem o comportamento do LZS com AgNPs em matrizes poliméricas, porém é possível que a presença do vidro tenha dificultado a inserção das AgNPs no interior das fibras, fazendo com que elas ficassem mais disponíveis, ou seja, mais próximas da superfície da fibra, e assim, tivessem sua difusão acelerada, resultando na maior liberação de íons prata para a membrana LZS/Ag.

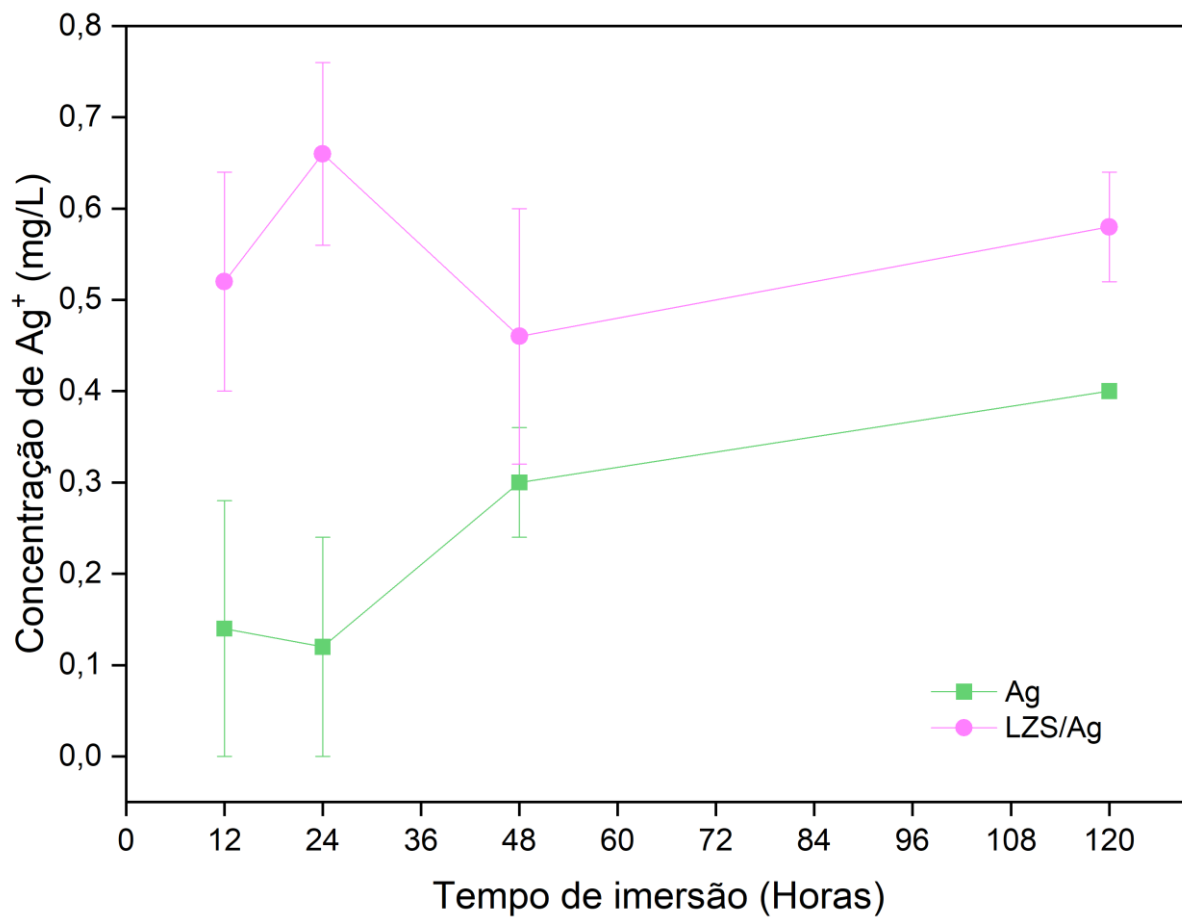
A contínua liberação de íons Ag e Li até os 5 dias de imersão aponta que as membranas têm potencial para aplicação em feridas que necessitem de liberação gradual e controlada. Assim, é possível garantir um tratamento mais eficaz com menor frequência de troca de curativo, que continuará agindo na cicatrização tecidual.

Figura 17: Liberação de íons de lítio obtidas por ICP-OES para as membranas que contém LZS



Fonte: A autora, 2025

Figura 18: Liberação de íons de prata obtidas por ICP-OES para as membranas que contém AgNP

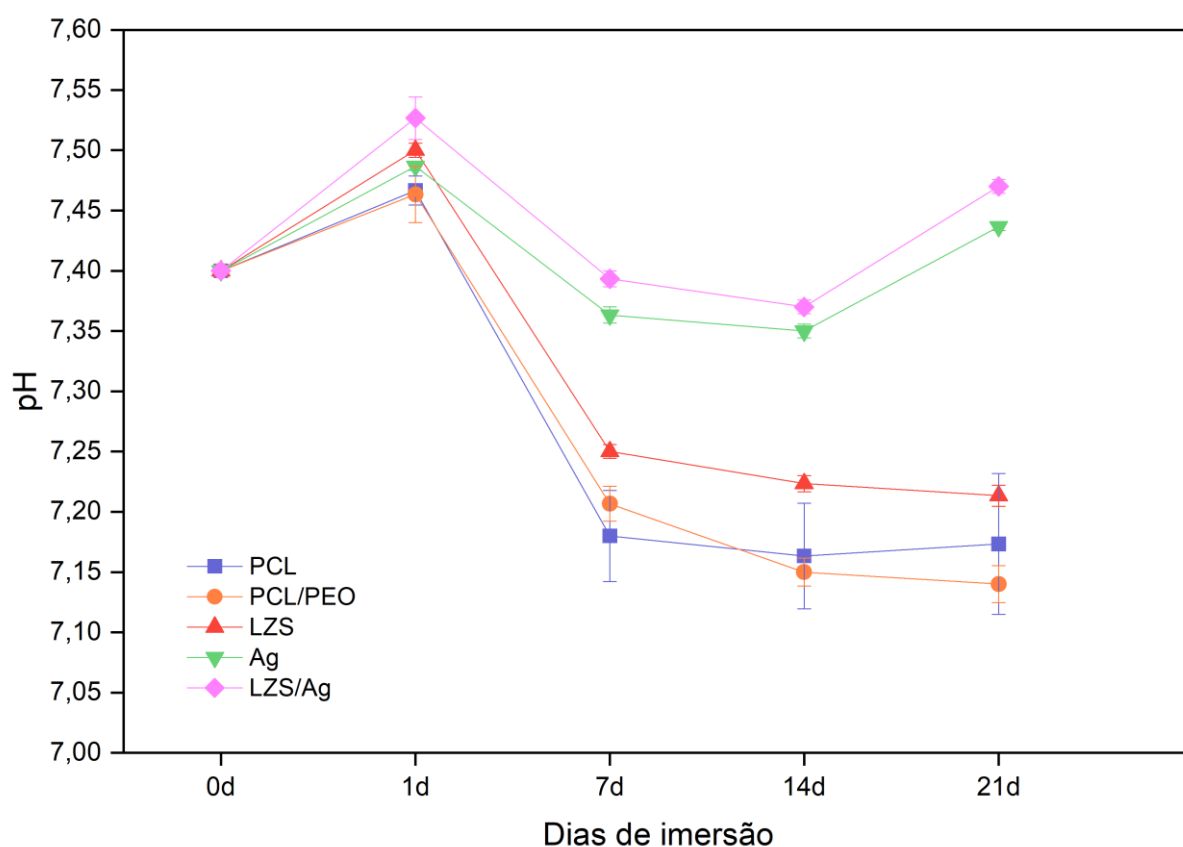


Fonte: A autora, 2025

#### 5.4 ANÁLISE DE PH DA SUPERFÍCIE

A variação de pH de solução tampão de PBS foi acompanhada durante a imersão das membranas em até 21 dias. Como há liberação de fluidos e exsudatos pela membrana, é importante avaliar qual a influência dos materiais liberados na acidez do leito da ferida.

Figura 19: Variação de pH após períodos de imersão das membranas em solução de PBS.



Fonte: A autora, 2025

Na Figura 19 observa-se que após um dia de imersão todas as membranas elevaram o pH da solução tampão em aproximadamente 0,1. Nos demais períodos os valores foram menores que a condição inicial, exceto para as amostras que contêm AgNP após 21 dias (valores de 7,44 e 7,47 para 1,5 Ag e 1LZS 1,5Ag respectivamente). A leve acidificação do meio tamponado se deu pela degradação hidrolítica dos polímeros biodegradáveis, que liberam produtos ácidos quando em

meio aquoso (Piatti *et al.*, 2023). Quando imersos, os vidros bioativos tendem a tornar as soluções mais alcalinas. Especificamente, o LZS utilizado promove liberação de íons de sílica e OH na solução, causando aumento de seu pH (Possolli *et al.*, 2024).

A adição de AgNP diminuiu a variação após o primeiro dia de imersão, além de elevar o pH entre 14 e 21 dias em PBS. Em soluções com pH moderado, tal qual a solução utilizada, as partículas de AgNO<sub>3</sub> não sofrem dissolução, logo não promovem alterações significativas no pH (Loza *et al.*, 2014).

Uma hipótese para justificar a maior estabilização no pH em relação à condição inicial das membranas contendo prata é sua influência na diminuição dos diâmetros de fibra, que possivelmente facilitaram a interação do LZS com o meio, promovendo sua alcalinização. Assim, há um efeito tampão quando combinado com a acidificação provinda da hidrólise dos polímeros (Piatti *et al.*, 2023).

O valor de pH do leito da ferida influencia nos seus processos patofisiológicos, bioquímicos, imunológicos e microbiológicos. Portanto, desempenha função importante na cicatrização de feridas. No geral, sugere-se que é benéfico manter ou trazer o pH de uma ferida infectada para um ambiente sutilmente ácido (Percival *et al.*, 2014). Estudos clínicos apontam que para o tratamento de feridas crônicas de diabéticos a diminuição do pH local mostra-se uma estratégia promissora (Tricou *et al.*, 2024). Além disso, a diminuição do pH pode potencializar o efeito antimicrobiano da prata (Thomas e McCubbin, 2003). O pH também produz efeito na disponibilidade de oxigênio para a cicatrização de uma ferida, que tem quase 50 % maior disponibilidade ao diminuir-se 0,6 pontos no pH (Hunt, 2004). Um efeito indireto na proliferação de fibroblastos também foi estudado. Baixo pH (5) induziu maior proliferação do que 7,1 e 7,6 (Liu *et al.*, 2002). A faixa ideal para a atuação das enzimas collagenase (remoção dos tecidos necrosados) é de um pH 6-8, já a fibrolisina entre 7-8 e a desoxirribonuclease entre 4,5 e 5,5. Isso aponta que para otimizar os fenômenos biológicos na cicatrização podem ser requeridos diferentes pHs para cada etapa do processo (Percival *et al.*, 2014).

Em monitoramento do valor do pH do local da ferida durante o processo de cicatrização da úlcera de pé diabético foi constatado que a diminuição dos níveis de pH está associada a melhorias na pontuação PUSH (Pressure Ulcer Scale for Healing), avaliação que gera uma pontuação levando em conta a área e maior largura da ferida, quantidade de exsudato presente e tipo de tecido presente. Os resultados também mostraram que o valor de pH médio das feridas foram de 8,69 para um grau

grave de infecção, diminuindo para 7,82 em um grau moderado, e por fim, quando leve, caiu para 6,84 (Wang *et al.*, 2024). A depender do grau de infecção da ferida tratada, as membranas podem produzir um efeito tampão ao trazer os valores de pH para a neutralidade, controlando infecções mais sérias. Contudo, pHs ainda acima de 6 podem manter infecções leves presentes, e há tendência de potencialização do efeito antimicrobiano em meios com pH 5,5 (Percival *et al.*, 2014).

## 5.5 BIOATIVIDADE

Vidros bioativos distinguem-se por sua capacidade de formar, após a implantação, uma camada de fosfato de cálcio em sua superfície, fenômeno essencial para sua interação com o tecido biológico (Hoppe, Güldal e Boccaccini, 2011). O mecanismo responsável por esse comportamento, amplamente descrito na literatura, baseia-se na troca iônica entre os íons alcalinos e alcalinoterrosos do material e os íons de cálcio e fosfato presentes em fluidos biológicos simulados (SBF). Com o avanço dessa troca iônica, compostos amorfos de fosfato de cálcio são progressivamente formados, os quais, ao longo do tempo, precipitam e se cristalizam (Kokubo e Takadama, 2006b). Esse conjunto de reações caracteriza o fenômeno conhecido como bioatividade. No LZS, a presença de lítio na composição do vidro pode atuar como um agente acelerador nesse processo. Em meio aquoso, os íons  $\text{Li}^+$  são substituídos por íons  $\text{H}^+$ , promovendo a formação de grupos silanol ( $\text{Si-OH}$ ), que são precursores diretos da camada de sílica gel e, conseqüentemente, da bioatividade do material (Possolli *et al.*, 2021).

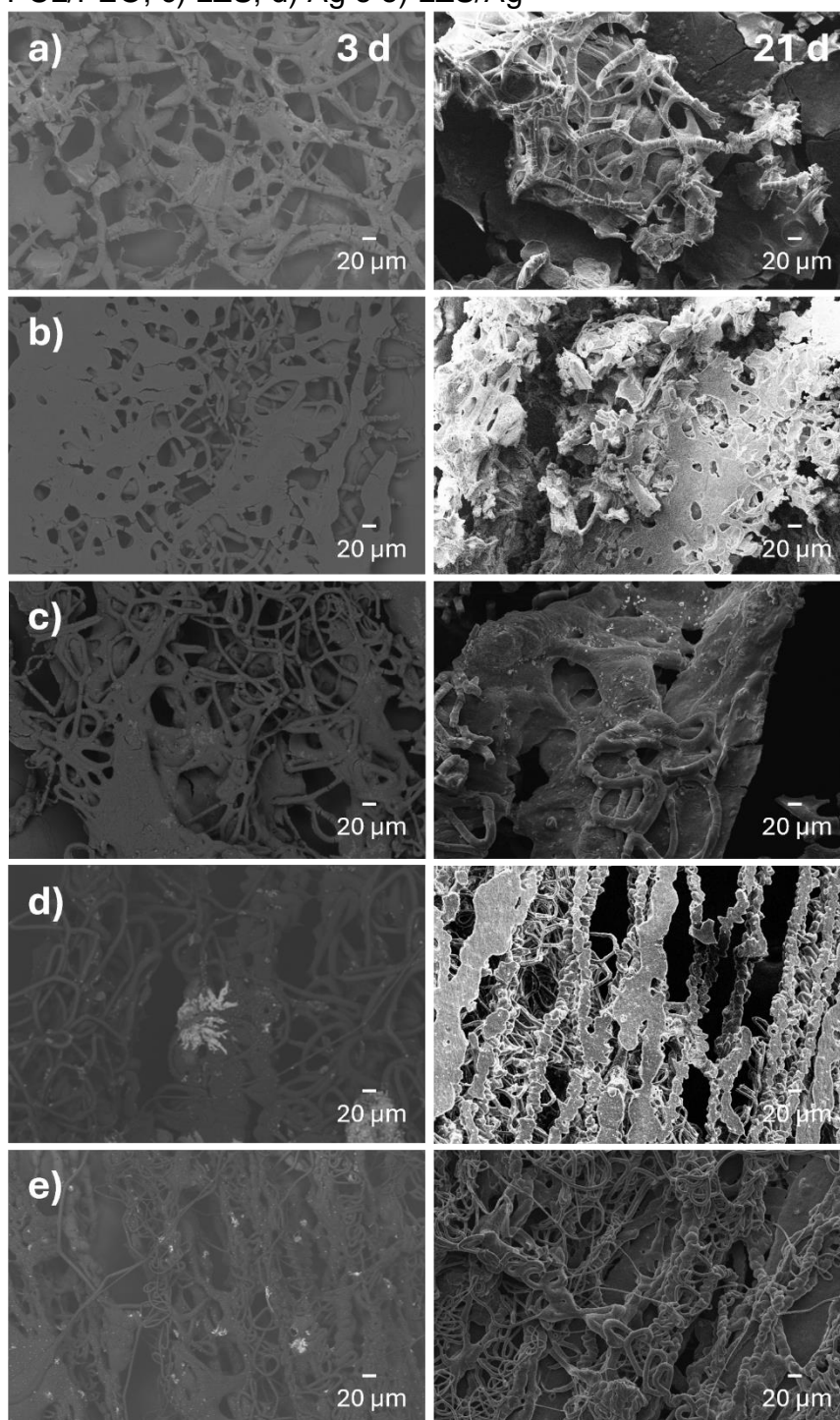
A avaliação da bioatividade permite determinar a capacidade do material em promover interações positivas com tecidos vivos, contribuindo para processos de regeneração ao organismo hospedeiro. No presente trabalho, a investigação da bioatividade das membranas obtidas foi realizada por meio de análises de MEV e EDS conduzidas antes e após a imersão em SBF.

Os resultados obtidos a partir dessas análises indicam a formação de hidroxiapatita (fosfato de cálcio) sobre a superfície da membrana que contém o vidro LZS. O vidro e vitrocerâmico do sistema LZS, assim como curativos de alginato e carboximetilcelulose contendo o vidro, já tiveram sua bioatividade comprovada pela deposição de uma camada de fosfato de cálcio em sua superfície (Possolli *et al.*, 2021; Possolli *et al.*, 2024; Niero *et al.*, 2024). Vale salientar que, neste trabalho, há 9,5 % em

massa de LZS nas membranas após a evaporação do solvente; logo, o fosfato de cálcio formado não se apresenta como uma camada espessa na superfície das fibras, e sim como pequenos pontos esbranquiçados que podem ser visualizados na Figura 20 c) com 21 dias de imersão no fluido corporal. A imagem obtida por EDS dessa membrana confirma que esses pequenos pontos apresentam maior concentração de fosfatos, indicando que provavelmente são cristais de fosfatos de cálcio, como visto na Figura 22. Observou-se, ainda, que os revestimentos com a presença do vidro, diferentemente das membranas formadas apenas pelos polímeros, mantiveram sua integridade estrutural após o período de exposição ao SBF, o que reforça a estabilidade do material em condições simuladas de uso biológico.

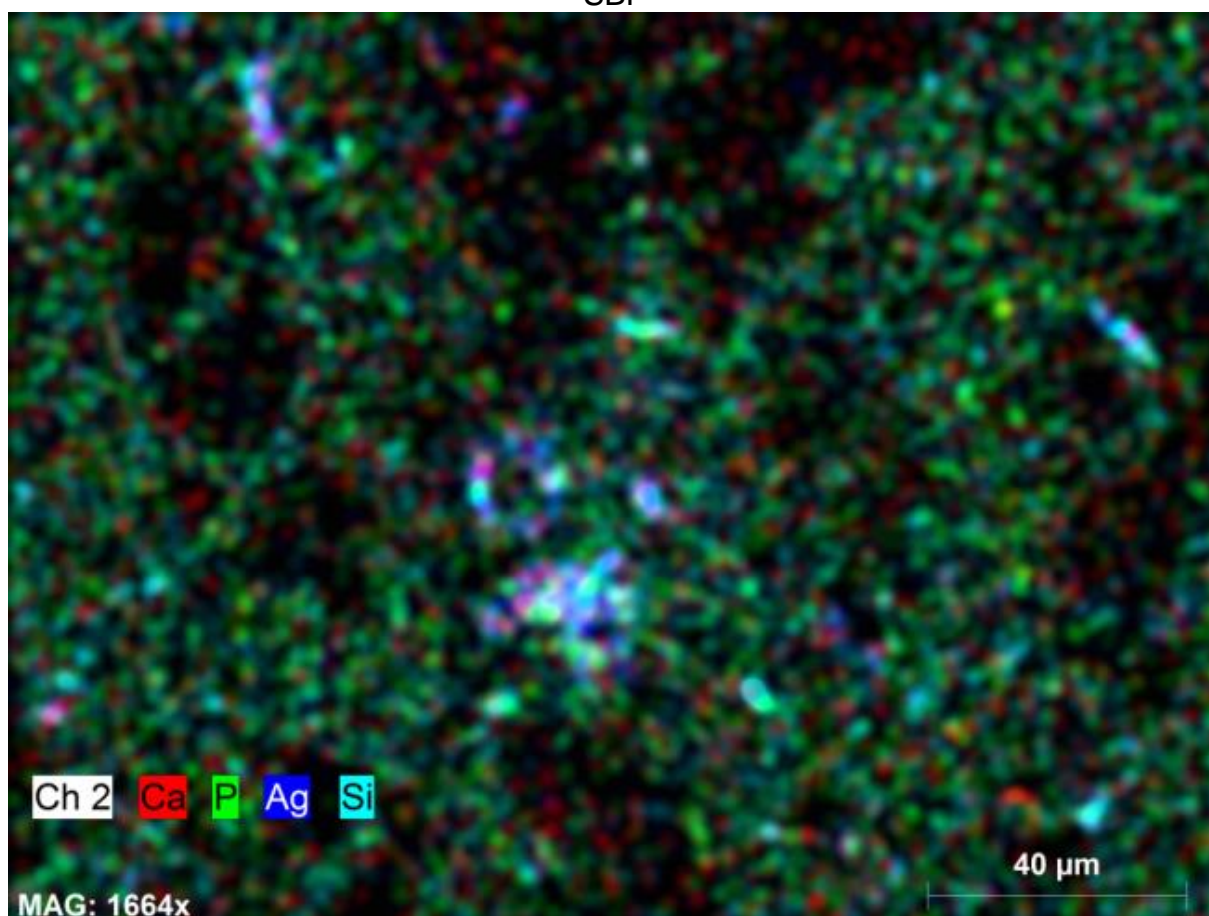
É notável a formação de flocos esbranquiçados nas membranas contendo AgNP já após 3 dias de imersão em SBF, Figura 20 d) e e). Porém, ao realizar análise de EDS nessas amostras, como visto na Figura 21, conclui-se que estes não se tratam de fosfatos de cálcio, já que os elementos Si e Ag ficam evidentes nesta região, indicando que são aglomerados de vidro (Si) e AgNP (Ag).

Figura 20: Micrografias das membranas eletrofiadas após 3 e 21 dias de imersão em SBF: a) PCL; b) PCL/PEO; c) LZS; d) Ag e e) LZS/Ag



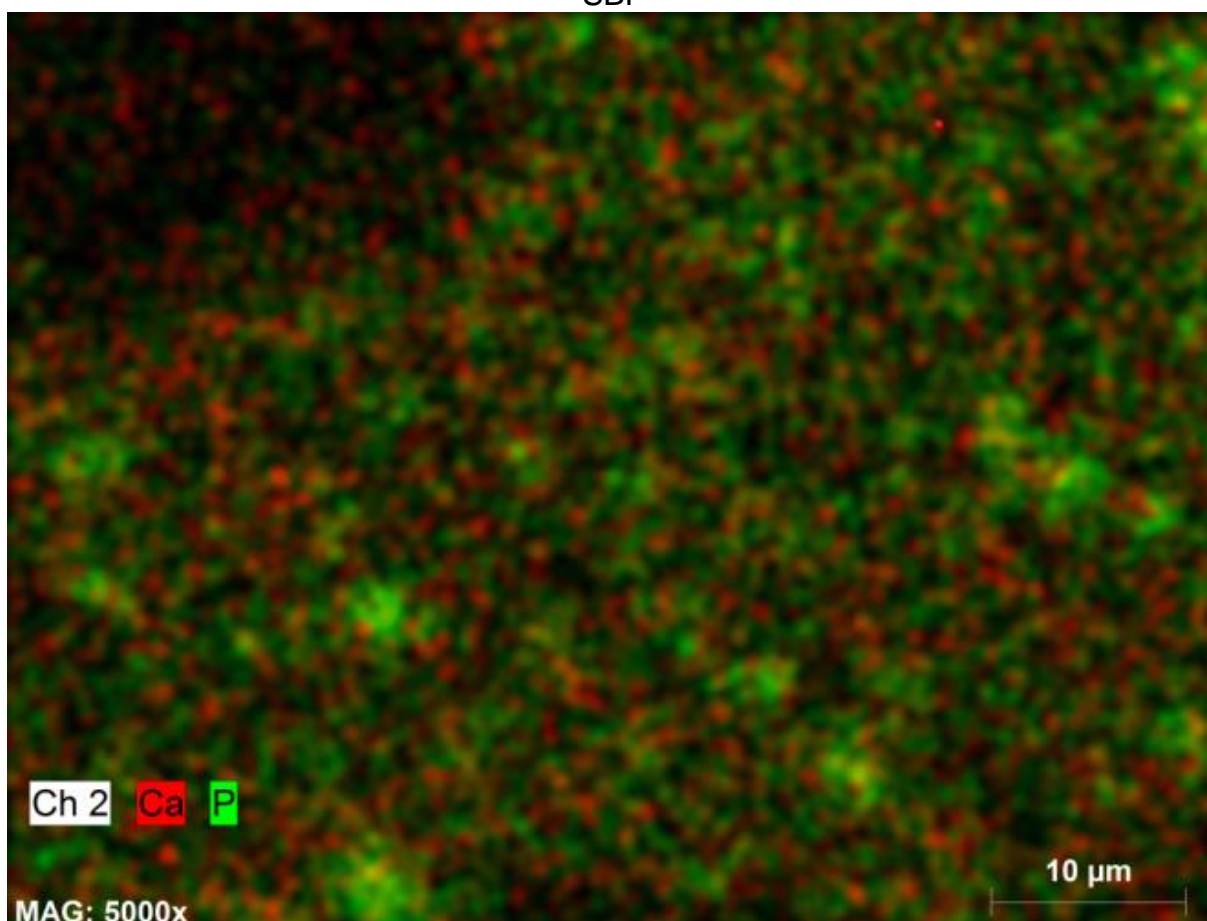
Fonte: A autora, 2025

Figura 21: Imagem obtida por EDS da membrana Ag após 3 dias de imersão em SBF



Fonte: A autora, 2025

Figura 22: Imagem obtida por EDS da membrana LZS após 21 dias de imersão em SBF

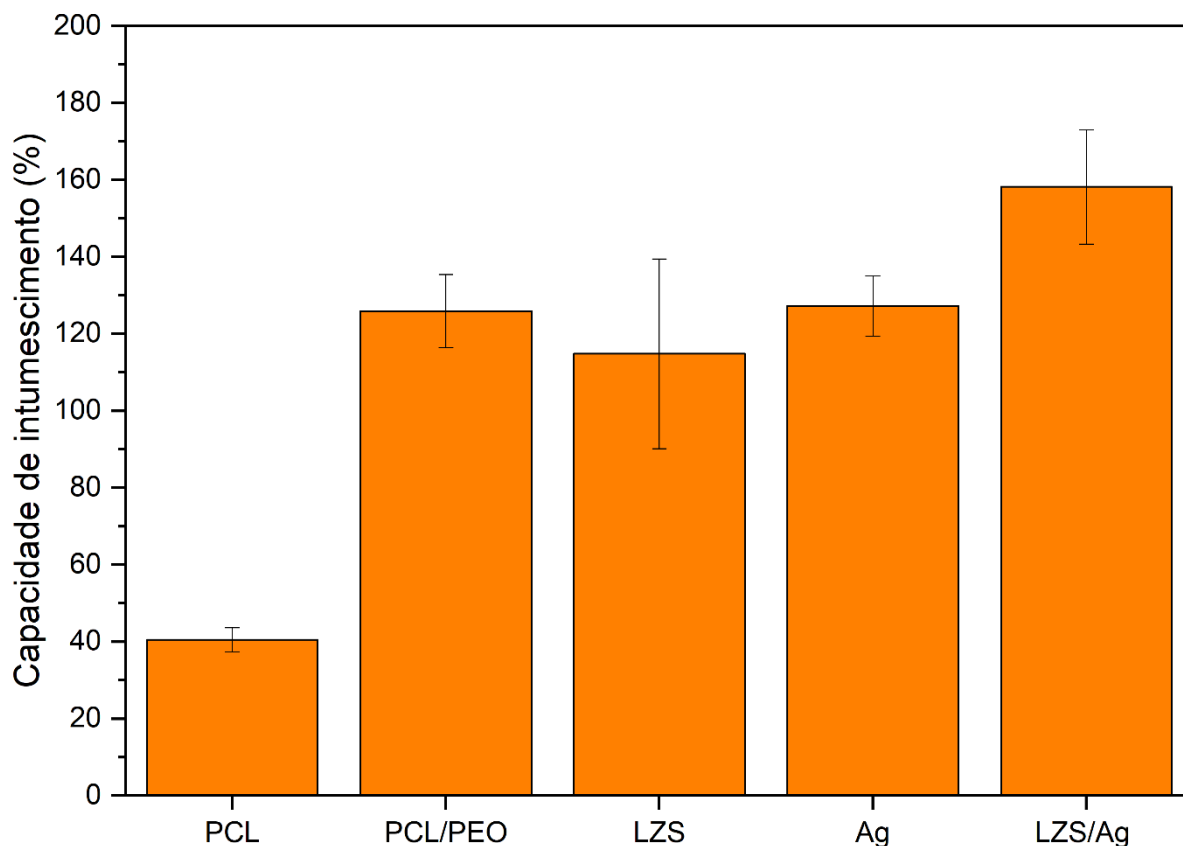


Fonte: A autora, 2025

## 5.6 CAPACIDADE DE INTUMESCIMENTO

A hidroflicidade moderada é desejável para aplicação no tratamento de feridas. Logo, a capacidade de intumescimento do curativo é um parâmetro importante a ser analisado, já que deve promover um balanço entre absorção de fluidos e manutenção de umidade. A Figura 23 mostra os resultados obtidos para esse parâmetro.

Figura 23: Capacidade de intumescimento das membranas após 24 h de imersão em PBS.



Fonte: A autora, 2025

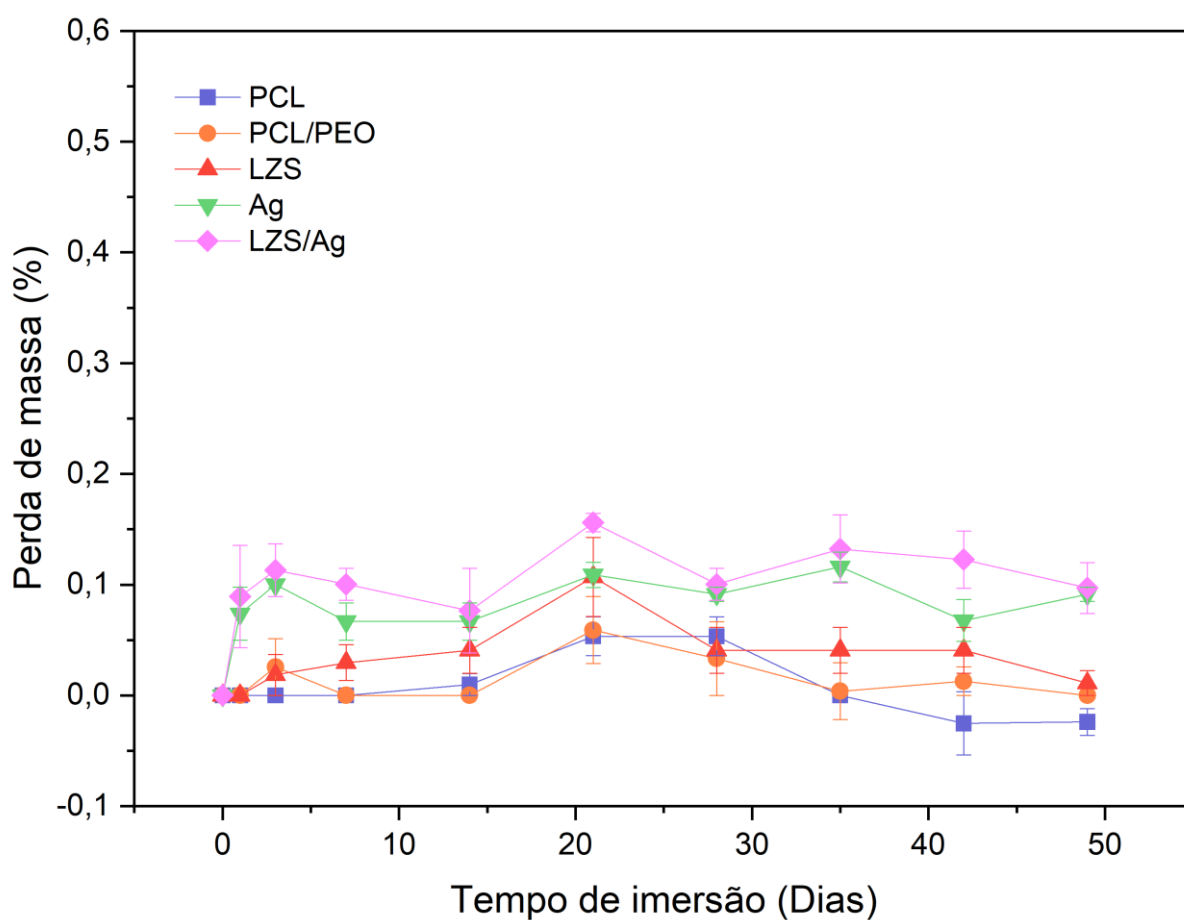
A adição do polímero hidrofílico (PEO) promoveu aumento notável na capacidade de absorção de fluido da membrana. O PCL puro não absorveu nem 50 % de seu peso inicial, já na proporção adicionada de 7:1 de PCL:PEO houve absorção de aproximadamente 126 %. Como discutido previamente, o emprego de PEO em membranas já é uma estratégia que visa aumentar a molhabilidade e absorção de fluidos de membranas, por conferir hidrofiliabilidade (Jia *et al.*, 2024; Zhao *et al.*, 2018). O PEO já demonstrou capacidades de intumescimento superiores quando misturado com PCL (Eskitoros-Togay *et al.*, 2019). Assim, frações mais hidrofílicas presentes na estrutura polimérica das fibras aumentam sua capacidade de absorver água e inchar. A adição de LZS ou AgNP não alterou significativamente a absorção. Embora a incorporação das cargas de vidro e nanopartículas possivelmente aumentaram a rugosidade da superfície fazendo com que o ângulo de contato formado com uma gota de água fosse diminuído, indicando maior molhabilidade, esse fato não se mostrou diretamente relacionado com a capacidade de absorver e reter fluidos.

Para haver um equilíbrio entre manutenção de umidade e controle de exsudatos, uma faixa de 80 a 90 % de absorção de fluidos é adequada. Porém, ao tratar feridas com alta liberação de exsudatos, como as feridas crônicas, uma faixa entre 100 e 900 % de absorção é recomendada para curativos avançados, a fim de evitar maceração e crescimento bacteriano (Kuddushi *et al.*, 2024).

## 5.7 DEGRADAÇÃO

As membranas foram imersas em PBS por até 49 dias para a avaliar sua degradação hidrolítica, já que o local da ferida é úmido e passível de causar degradação nos curativos aplicados, fato a ser evitado.

Figura 24: Degradação das diferentes membranas ao longo do tempo em solução de PBS a 37 °C



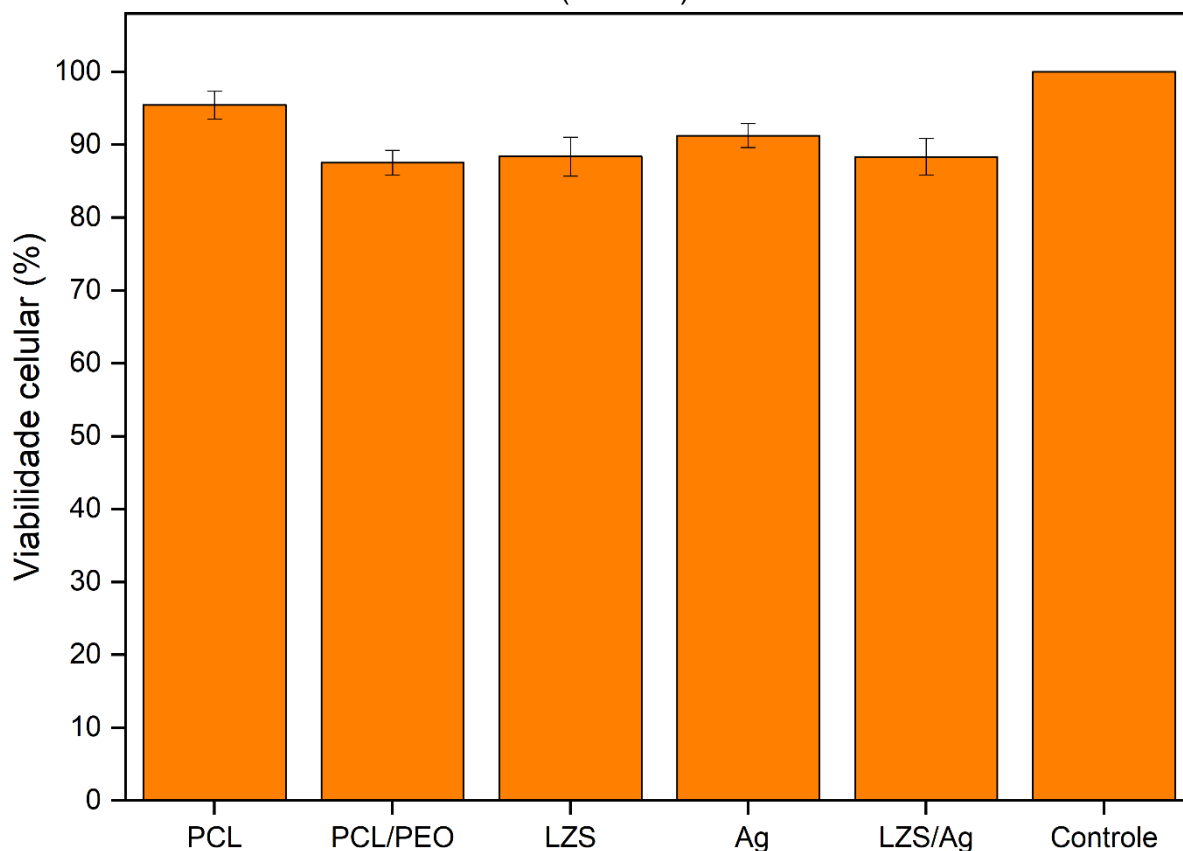
Fonte: A autora, 2025

Pela Figura 24, percebe-se a baixa degradação das membranas em até 49 dias de imersão em solução de PBS a 37 °C. As membranas contendo AgNP atingiram as maiores perdas de massa, de aproximadamente 0,1 e 0,09 % para as amostras LZS e LZS/Ag, respectivamente. As demais amostras tiveram alterações de massa desprezíveis. Como já esperado, a degradação do PCL é lenta. Em solução de PBS, após 90 dias de imersão ainda não foi apresentada perda de massa significativa (1,44 %) (Loh, 2013). Um copolímero de PCL e PEO foi avaliado quanto a sua degradação em diferentes valores de pH e, após 20 semanas em pH 7,4, teve uma perda de massa de apenas 6 % (Loh, 2013). A literatura aponta que com maiores composições de PEO em relação ao PCL, a degradação tende a ser acelerada (White, Jurczyk e Horn, 2021). Contudo, a proporção de PEO utilizada nas membranas não foi suficiente para elevar a taxa de perda de massa nesse caso. Assim, esse resultado indica que as membranas produzidas são hidroliticamente estáveis sob condições fisiológicas da aplicação desejada.

## 5.8 CITOTOXICIDADE

Os testes de viabilidade celular realizados indicam que as membranas não apresentaram citotoxicidade (Figura 25). De acordo com a ISO 10993-5 (ISO, 2009), um material é considerado citotóxico quando diminui a viabilidade celular em 30 %. Visto que todas as membranas mantiveram um valor de viabilidade celular acima de 87 %, pode-se confirmar que não causaram danos às células de fibroblastos testadas.

Figura 25: Viabilidade celular das membranas produzidas em linhagem celular de fibroblasto (NIH3T3) murino

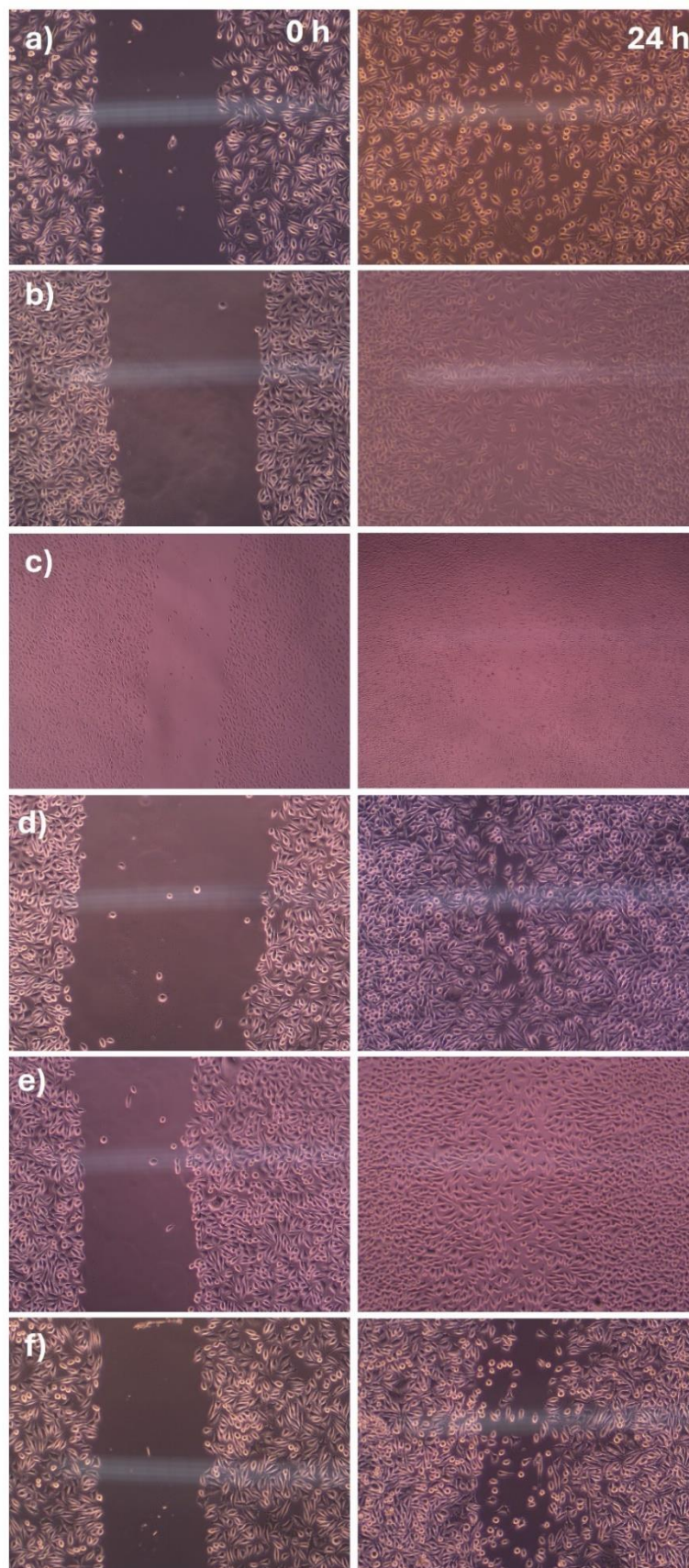


Fonte: A autora, 2025

## 5.9 MIGRAÇÃO CELULAR

O ensaio avalia a capacidade das células de migrarem e recobrirem um arranhão feito na superfície previamente coberta de células, em resposta à presença das diferentes membranas. A migração celular é medida pela variação das áreas que não contém células presentes, no tempo 0 h (imediatamente após a produção do arranhão) e após 24 h. A Figura 26 mostra o arranhão no tempo 0 h e 24 h de uma amostra de cada membrana. O fechamento do arranhão foi medido pela diferença entre a área inicial e a de espaço vazio após o período de contato com as membranas e é apresentado na Tabela 5.

Figura 26: Micrografias do arranhão nos tempos 0 h e 24 h: a) Controle, b) PCL, c) PCL/PEO, d) LZS, e) Ag e f) LZS/Ag



Fonte: A autora, 2025

Em relação ao grupo controle (sem contato com amostras), as membranas de PCL e PCL/PEO contendo AgNP promoveram aumento da migração celular. A membrana PCL/PEO aumentou a proliferação em relação ao grupo controle, mas obteve menor migração do que as de PCL puro. A amostra LZS manteve seu fechamento próximo ao do grupo controle, enquanto a membrana contendo LZS/Ag reduziu a porcentagem de recobrimento em aproximadamente 18 %.

O PEO é conhecido por sua falta de aderência, já que suas longas cadeias moleculares promovem uma superfície mais suave. Portanto, já era esperado que a adição de PEO pudesse retardar a proliferação celular. Assim como já reportado, composições de PCL e PEO com menor concentração de PEO mostram-se com maiores taxa de migração de células da pele (Taskin *et al.*, 2017).

Usualmente, a presença de prata em “*scaffolds*” reduz a proliferação e viabilidade celular (Chen *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2013). Membranas funcionalizadas com AgNPs visam moderar sua concentração para que possa ser eficaz em suas propriedades antimicrobianas sem comprometer a compatibilidade celular no seu uso em aplicações biomédicas (Iurilli *et al.*, 2025; Wang *et al.*, 2013b). Esses dados não corroboram diretamente com os resultados deste trabalho, cuja amostra com adição de AgNP aumentou o fechamento do arranhão (100 %). Porém, o aumento da taxa de migração celular pode ter sido devido a morfologia das membranas produzidas. Sabe-se que o aumento da porosidade promove aumento de canais por onde fluidos biológicos permeiam, facilitando a passagem e adesão celular, o que acelera sua proliferação (Baker *et al.*, 2008). Além da porosidade mais elevada, essa amostra foi a que apresentou menor diâmetro de fibra, o que eleva sua área superficial de contato disponível para as células se aderirem e reproduzirem.

Alguns autores indicam que a adição de vidros bioativos em matrizes eletrofiadas reforçam a reprodução celular comparadas a matrizes de PCL puro (Sergi *et al.*, 2020a; b). Os resultados obtidos nesta pesquisa apontaram que a membrana contendo apenas LZS apresentou um fechamento da ferida próximo do grupo controle, sem adição de membranas. E em relação à amostra de PCL e PEO, cuja única variação seria a presença do vidro, houve uma redução de 20,4 %. Já foi reportado na literatura que a presença de vidro bioativo em membranas eletrofiadas não afetaram a adesão ou proliferação celular (Luginina *et al.*, 2020). Portanto, o efeito do PCL foi mitigado pela presença do LZS, visto que sua migração foi mantida próxima

com a do controle. Não há estudos da ligação direta da composição e microestrutura do LZS utilizado com o comportamento celular.

É importante ressaltar que os resultados desta avaliação levam em consideração apenas a área sem recobrimento celular; assim, pode haver alta proliferação das células mas que, com dificuldade na adesão, não são capazes de migrarem totalmente para recobrirem o arranhão. Na Figura 26 d) e f) por exemplo, percebe-se um aumento de quantidade de células após 24 h, apesar de terem apresentado baixa migração celular.

Muitos estudos concluem que as diferenças nos comportamentos celulares não são frequentemente relacionadas à composição química das membranas, mas sim de suas características morfológicas (Badami *et al.*, 2006; Can-Herrera *et al.*, 2021). Portanto, mesmo que a membrana LZS/Ag tenha apresentado o menor fechamento de área arranhada, é possível aperfeiçoá-la para que suas condições morfológicas promovam maior adesão e migração das células, visando proporcionar uma estrutura que acelere a reparação do tecido epitelial.

Tabela 5: Fechamento da ferida (%) avaliado pela migração celular na presença das membranas.

<b>Amostra</b>	<b>Fechamento da ferida em 24 h (%)</b>
<b>Controle</b>	62,04 ± 5,66
<b>PCL</b>	100 ± 0
<b>PCL/PEO</b>	83,95 ± 0,76
<b>LZS</b>	63,55 ± 7,32
<b>Ag</b>	100 ± 0
<b>LZS/Ag</b>	44,04 ± 4,68

Fonte: A autora, 2025

## 5.10 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

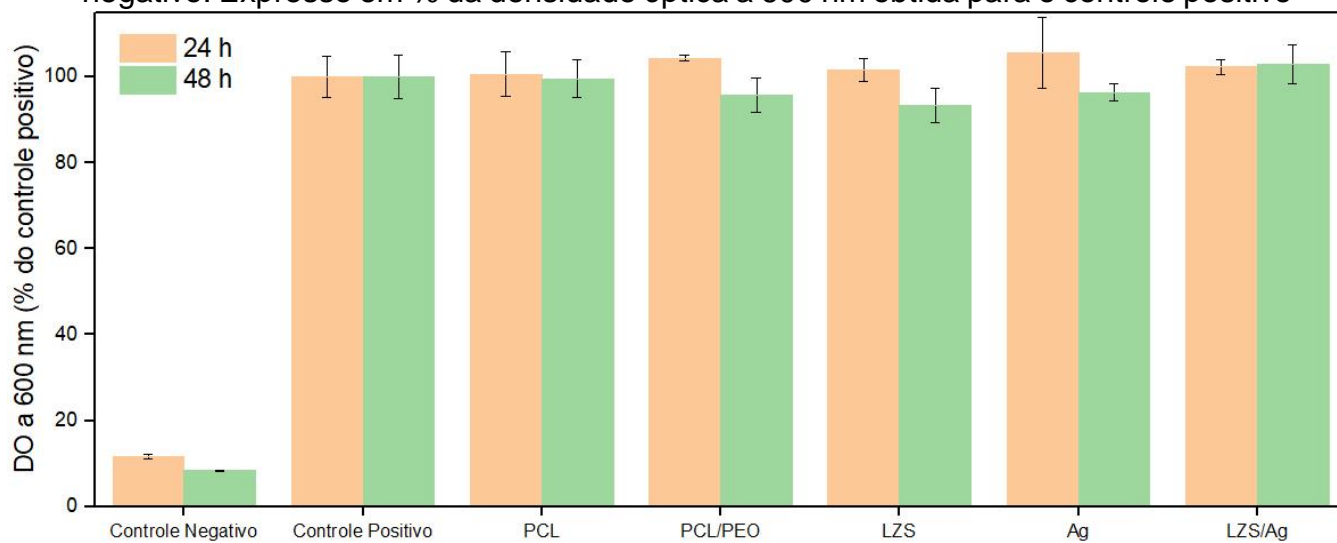
A avaliação da atividade antibacteriana se deu pela imersão das membranas em meio de cultura com bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6536P) e posterior medição da densidade óptica (DO) a 600 nm. O valor de DO do controle positivo (apenas meio de cultura e bactérias) foi considerado como 100 % de crescimento microbiano para o cálculo dos demais. Como visto na Figura 27, após 24 h de imersão, todas as soluções contendo as diferentes membranas apresentaram um crescimento igual ao controle positivo, ou seja, não houve inibição da reprodução

bacteriana. Já na leitura após 48 h de imersão, as membranas apresentaram menores concentrações do que o controle positivo, exceto a membrana LZS/Ag. Isso vai de acordo com o resultado anterior, cuja amostra com ambos princípios ativos foi a de menor eficácia da migração celular e cobertura do arranhão. Esse comportamento, assim como justificado na seção anterior, pode ser devido à morfologia da membrana, com maior porosidade e diâmetros de fibra menores (Badami *et al.*, 2006; Herrero-Herrero *et al.*, 2021). As demais membranas apresentaram queda na concentração em relação ao padrão, sendo a amostra Ag com maior redução (9,26 %) de 24 para 48 h de imersão. Contudo, não se pode relacionar essa redução com a atividade das membranas, visto que para esse ensaio, os desvios padrões chegam a 9 %.

Possivelmente, em períodos maiores, a liberação gradual de íons pode vir a inibir a reprodução bacteriana. Neste ensaio, porém, o acompanhamento prolongado da DO poderia trazer resultados de baixa confiabilidade, já que em 48 h provavelmente as bactérias já haveriam consumido os componentes do meio de cultura, comprometendo a análise. Além disso, observando os resultados obtidos por ICP – OES, sabe-se que a máxima liberação de íons de Ag das membranas que a continham foi próxima de 0,5 mg/mL, não sendo suficiente para inibir a concentração de microorganismos presentes, já que a concentração bactericida mínima da prata varia em uma faixa de 0,5 a 5 mg/mL para diversas bactérias (Greulich *et al.*, 2012).

Um estudo que utilizou AgNPs em membranas eletrofiadas, com menor liberação iônica de prata em PBS (0,32 µg/mL) do que o presente estudo, apresentou redução significativa na DO a 600 nm para *S. aureus*, *E. coli* e *A. baumannii* após 24 h de imersão (Liu *et al.*, 2017). Contudo, foi utilizada uma menor concentração inicial de bactérias (DO a 600 nm de 0,07) e a metodologia foi executada com menor proporção de meio de cultura líquido contendo bactéria em relação às membranas. Assim, a atividade antibacteriana das membranas ainda pode ser avaliada por diferentes metodologias, com menor fator de diluição entre o meio de cultura e membranas, tentando imitar mais fielmente a aplicação em feridas, onde o volume de líquidos liberados não será tão elevado quanto os 10 mL utilizados no ensaio. Ao mesmo tempo, é de interesse estudar formas de potencializar a liberação da prata presente nas fibras.

Figura 27: Crescimento bacteriano para cada membrana e controles positivo e negativo. Expresso em % da densidade óptica a 600 nm obtida para o controle positivo



Fonte: A autora, 2025

## 6 CONCLUSÃO

Membranas eletrofiadas de PCL e PEO, incorporadas com vidro bioativo do sistema LZS e nanopartículas de prata (AgNPs), foram produzidas. Os parâmetros de eletrofiação definidos para os curativos compósitos foram de 16 kV e 0,16 mL/min, resultando em fibras com diâmetro médio de 4,83  $\mu\text{m}$  e porosidade superior a 90 %. Durante o preparo das membranas para análise comparativa, com adição isolada dos biomateriais, observou-se que a incorporação de LZS aumentou o diâmetro das fibras, enquanto a presença de AgNPs, por elevar a condutividade da suspensão, levou à sua redução. Ambos os aditivos também contribuíram para o aumento da porosidade das membranas.

A adição de PEO, como esperado, aumentou a molhabilidade das amostras, reduzindo o ângulo de contato em cerca de 9°. Sua incorporação ao PCL foi confirmada por FTIR, e a análise térmica indicou estabilidade das amostras às temperaturas de aplicação, sem sinais de degradação. Membranas contendo LZS e AgNPs liberaram íons de lítio e prata em soluções tampão ao longo de 120 h de imersão, atingindo até aproximadamente 5 mg/L de  $\text{Li}^+$  e 0,7 mg/L de  $\text{Ag}^+$ , demonstrando liberação contínua de íons ativos, potencialmente favoráveis à regeneração tecidual.

No entanto, a liberação de íons prata foi insuficiente para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* nas condições testadas. Todas as amostras apresentaram aumento da concentração bacteriana após 24 h, com redução não significativa em 48 h, atingindo no máximo 9,26 %. A presença das membranas acidificou levemente os meios, o que favorece a cicatrização. Ainda assim, a redução do pH para valores abaixo de 6 é desejável para prevenção de infecções e aceleração da regeneração da pele.

A bioatividade das membranas com LZS foi confirmada pela formação de depósitos pontuais de fosfato de cálcio na superfície das fibras, observados por MEV e EDS. As membranas apresentaram capacidades de intumescimento superiores a 100 %, adequadas para o controle de umidade e exsudatos, embora seja desejável ampliar esse intervalo para aplicações em curativos avançados. A quantidade de PEO incorporada não comprometeu a integridade das membranas, que se mantiveram hidroliticamente estáveis. Não foi observada citotoxicidade em células de fibroblastos.

O ensaio de migração celular não permitiu conclusões definitivas quanto à influência dos diferentes biomateriais na proliferação celular, visto que as variações morfológicas podem ter exercido maior impacto que a composição química. A membrana contendo LZS/Ag apresentou menor fechamento de ferida em comparação ao controle sem membrana, enquanto as demais obtiveram valores semelhantes ou superiores, não sendo possível isolar a influência de um componente específico sobre a taxa de migração celular.

O objetivo de produzir membranas compósitas sob condições otimizadas foi alcançado. Verificou-se o efeito do PEO na molhabilidade e da adição de LZS na bioatividade. Embora o teste de atividade antibacteriana não tenha alcançado os resultados esperados, a já conhecida ação antimicrobiana da prata justifica novas abordagens para sua incorporação, visando uma liberação iônica mais eficaz. Dessa forma, as membranas desenvolvidas demonstram potencial para serem aprimoradas e aplicadas no tratamento de feridas crônicas com risco de contaminação.

## 7 TRABALHOS FUTUROS

As sugestões para trabalhos futuros são:

- Estudo da aplicação apenas do vidro bioativo LZS na proliferação de células epiteliais;
- Análise das propriedades mecânicas das membranas para aplicação na cicatrização de feridas;
- Influência da morfologia na interação com células epiteliais e bactérias;
- Estudo das variáveis de eletrofiação e composição de suspensões para maiores liberações de íons de prata, sem causar toxicidade à células humanas.

## REFERÊNCIAS

ABDULMAJEED, A. A. *et al.* The Effect of Exposed Glass Fibers and Particles of Bioactive Glass on the Surface Wettability of Composite Implants. **International Journal of Biomaterials**, v. 2011, p. 1–11, 2011.

ABEDALWAFI, M. *et al.* Biodegradable poly-epsilon-caprolactone (PCL) for tissue engineering applications: A review. **Rev. Adv. Mater. Sci**, v. 34, p. 123–140, 2013.

ABRIGO, M.; MCARTHUR, S. L.; KINGSHOTT, P. Electrospun Nanofibers as Dressings for Chronic Wound Care: Advances, Challenges, and Future Prospects. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 6, p. 772–792, 1 jun. 2014a.

\_\_\_\_\_. Electrospun Nanofibers as Dressings for Chronic Wound Care: Advances, Challenges, and Future Prospects. **Macromolecular Bioscience**, v. 14, n. 6, p. 772–792, 28 jun. 2014b.

AFSHAR, A. *et al.* Tailored binary polymer system PCL-PEO for advanced biomedical applications: Optimization, characterization and in vitro analysis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 95, p. 105582, maio 2024.

ALIZADEH-OSGOUEI, M.; LI, Y.; WEN, C. A comprehensive review of biodegradable synthetic polymer-ceramic composites and their manufacture for biomedical applications. **Bioactive Materials**, v. 4, p. 22–36, dez. 2019.

ALVEN, S. *et al.* Electrospun Nanofibers/Nanofibrous Scaffolds Loaded with Silver Nanoparticles as Effective Antibacterial Wound Dressing Materials. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 7, p. 964, 26 jun. 2021.

\_\_\_\_\_. Polymer-Based Wound Dressing Materials Loaded with Bioactive Agents: Potential Materials for the Treatment of Diabetic Wounds. **Polymers**, v. 14, n. 4, 1 fev. 2022.

ARAYANARAKUL, K. *et al.* Effects of Poly(ethylene glycol), Inorganic Salt, Sodium Dodecyl Sulfate, and Solvent System on Electrospinning of Poly(ethylene oxide). **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 291, n. 6, p. 581–591, 16 jun. 2006.

ARCARO, SABRINA; NIETO, M. I.; *et al.* Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticulate LZS Glass–Ceramic Matrix Composites for Production of Multilayered Materials. **Wiley Online Library**, v. 99, n. 11, p. 3573–3580, 2016.

ARCARO, S *et al.* The influence of nano alumina additions on the coefficient of thermal expansion of a LZS glass–ceramic composition. **Ceramics International**, v. 42, n. 7, p. 8620–8626, 2016.

ARCARO, SABRINA; NIETO, M. I.; *et al.* Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticulate LZS Glass–Ceramic Matrix Composites for Production of Multilayered Materials. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 99, n. 11, p. 3573–3580, 2016.

ARCARO, SABRINA *et al.* **LZS/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> glass-ceramic composites sintered by fast firing** Materials Research. **Anais...Universidade Federal de Sao Carlos**, 2017

ARCARO, S. *et al.* Properties of LZS/nanoAl<sub>2</sub>O<sub>3</sub> glass-ceramic composites. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 710, p. 567–574, 5 jul. 2017.

ASWATHANARAYAN, J. B. *et al.* Biofilm-Associated Infections in Chronic Wounds and Their Management. *Em: [s.l: s.n.]*. p. 55–75.

BADAMI, A. S. *et al.* Effect of fiber diameter on spreading, proliferation, and differentiation of osteoblastic cells on electrospun poly(lactic acid) substrates. **Biomaterials**, v. 27, n. 4, p. 596–606, fev. 2006.

BAKER, B. M. *et al.* The potential to improve cell infiltration in composite fiber-aligned electrospun scaffolds by the selective removal of sacrificial fibers. **Biomaterials**, v. 29, n. 15, p. 2348–2358, maio 2008.

BANI MUSTAFA, D. *et al.* Electrospun Ibuprofen-Loaded Blend PCL/PEO Fibers for Topical Drug Delivery Applications. **Polymers**, v. 16, n. 13, p. 1934, 6 jul. 2024.

BIRRU BHASKAR *et al.* **Biomaterials in Tissue Engineering and Regenerative Medicine**. Singapore: Springer Singapore, 2021.

BURGESS, J. L. *et al.* Diabetic Wound-Healing Science. **Medicina 2021, Vol. 57, Page 1072**, v. 57, n. 10, p. 1072, 8 out. 2021.

CAI, L. *et al.* Curcumin-stabilized silver nanoparticles encapsulated in biocompatible electrospun nanofibrous scaffold for sustained eradication of drug-resistant bacteria. **Journal of Hazardous Materials**, v. 452, p. 131290, 15 jun. 2023.

CAN-HERRERA, L. A. *et al.* Morphological and Mechanical Properties of Electrospun Polycaprolactone Scaffolds: Effect of Applied Voltage. **Polymers**, v. 13, n. 4, p. 662, 23 fev. 2021.

CERKEZ, I.; SEZER, A.; BHULLAR, S. K. Fabrication and characterization of electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone) fibrous membrane with antibacterial functionality. **Royal Society Open Science**, v. 4, n. 2, p. 160911, fev. 2017.

CHEN, C.-H. *et al.* Dual functional core–sheath electrospun hyaluronic acid/polycaprolactone nanofibrous membranes embedded with silver nanoparticles for prevention of peritendinous adhesion. **Acta Biomaterialia**, v. 26, p. 225–235, out. 2015.

CHEN, Q. *et al.* Electrospun chitosan/PVA/bioglass Nanofibrous membrane with spatially designed structure for accelerating chronic wound healing. **Materials Science and Engineering: C**, v. 105, p. 110083, 1 dez. 2019.

CHOUZOURI, G.; XANTHOS, M. In vitro bioactivity and degradation of polycaprolactone composites containing silicate fillers. **Acta Biomaterialia**, v. 3, n. 5, p. 745–756, 1 set. 2007.

CIPITRIA, A. *et al.* Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 26, p. 9419, 2011.

CURTOLO, G. *et al.* Silver nanoparticles formulations for healing traumatic injuries in oral mucosa of rats. **Archives of Oral Biology**, v. 129, p. 105202, 1 set. 2021.

DALTON, M. *et al.* The Influence of the Molecular Weight of Poly(Ethylene Oxide) on the Hydrolytic Degradation and Physical Properties of Polycaprolactone Binary Blends. **Macromol**, v. 3, n. 3, p. 431–450, 3 jul. 2023.

DELIORMANLI, A. M.; KONYALI, R. Bioactive glass/hydroxyapatite-containing electrospun poly ( $\epsilon$ -Caprolactone) composite nanofibers for bone tissue engineering. **Journal of the Australian Ceramic Society**, v. 55, n. 1, p. 247–256, 6 mar. 2019.

DESJARDINS-PARK, H. E. *et al.* The Spectrum of Scarring in Craniofacial Wound Repair. **Frontiers in Physiology**, v. 10, 29 mar. 2019.

DIRAUF, M. *et al.* Recent advances in degradable synthetic polymers for biomedical applications - Beyond polyesters. **Progress in Polymer Science**, v. 129, p. 101547, jun. 2022.

DONG, Q. *et al.* Construction of antibacterial nano-silver embedded bioactive hydrogel to repair infectious skin defects. **Biomaterials Research**, v. 26, n. 1, p. 36, 25 dez. 2022.

DUBEY, P. *et al.* Silver-nanoparticle-Incorporated composite nanofibers for potential wound-dressing applications. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 35, 15 set. 2015.

DZIADEK, M. *et al.* A new insight into in vitro behaviour of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/bioactive glass composites in biologically related fluids. **Journal of Materials Science**, v. 53, n. 6, p. 3939–3958, 27 mar. 2018.

EMING, S. A.; MARTIN, P.; TOMIC-CANIC, M. Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation. **Science Translational Medicine**, v. 6, n. 265, 3 dez. 2014.

ESKITOROS-TOGAY, Ş. M. *et al.* Fabrication of doxycycline-loaded electrospun PCL/PEO membranes for a potential drug delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 565, p. 83–94, jun. 2019.

FATIMAH, S. S. *et al.* **Development of bioactive glass-poly- $\epsilon$ -caprolactone polymer composite film for soft tissue regeneration**2020

FERNANDES, M. S. *et al.* Development and characterization of PCL membranes incorporated with Zn-doped bioactive glass produced by electrospinning for osteogenesis evaluation. **Journal of Polymer Research**, v. 29, n. 9, p. 370, 9 set. 2022.

FESTAS, A.; RAMOS, A.; DAVIM, J. Medical devices biomaterials. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications**, v. 234, n. 1, p. 218–228, 20 jan. 2020.

FONSECA, G. F. DA *et al.* Scaffolds of PCL combined to bioglass: synthesis, characterization and biological performance. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, n. 5, p. 41, 29 maio 2020.

GAJBHIYE, S.; WAIRKAR, S. Collagen fabricated delivery systems for wound healing: A new roadmap. **Biomaterials Advances**, v. 142, p. 213152, nov. 2022.

GEORGE, N. *et al.* Incorporating silver nanoparticles into electrospun nanofibers of casein/polyvinyl alcohol to develop scaffolds for tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 267, p. 131501, maio 2024.

GHORBANI, F. *et al.* Progress on Electrospun Composite Fibers Incorporating Bioactive Glass: An Overview. **Advanced Engineering Materials**, v. 25, n. 6, 18 mar. 2023.

GILABERTE, Y. *et al.* Anatomy and Function of the Skin. *Em: Nanoscience in Dermatology*. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 1–14.

GREULICH, C. *et al.* The toxic effect of silver ions and silver nanoparticles towards bacteria and human cells occurs in the same concentration range. **RSC Advances**, v. 2, n. 17, p. 6981, 2012.

GU, Z. *et al.* Fiber diameters and parallel patterns: proliferation and osteogenesis of stem cells. **Regenerative Biomaterials**, v. 10, 17 jan. 2023.

GUZZATTI, M.; SILVEIRA, P. C. **Avaliação da síntese verde de nanopartículas de ouro e parata com curcumina (Curcuma longa L.) ou açai (Euterpe oleracea) no reparo tecidual de ferida palatina em ratos Wistar**. Criciúma: Universidade do Extremo Sul Catarinense, 2022.

HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I.-K. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 8, p. 1165–1188, dez. 2018.

HE, F. *et al.* Controlled release of antibiotics from poly- $\epsilon$ -caprolactone/polyethylene glycol wound dressing fabricated by direct-writing melt electrospinning. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 30, n. 2, p. 425–434, 20 fev. 2019.

HERRERO-HERRERO, M. *et al.* Influence of chemistry and fiber diameter of electrospun PLA, PCL and their blend membranes, intended as cell supports, on their biological behavior. **Polymer Testing**, v. 103, p. 107364, 1 nov. 2021.

HEYDARI, P. *et al.* Preparation and evaluation of poly glycerol sebacate/poly hydroxy butyrate core-shell electrospun nanofibers with sequentially release of ciprofloxacin and simvastatin in wound dressings. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 29, n. 6, p. 1795–1803, 10 jun. 2018.

HOGAN, K. J.; MIKOS, A. G. Biodegradable thermoresponsive polymers: Applications in drug delivery and tissue engineering. **Polymer**, v. 211, p. 123063, dez. 2020.

HOMAEIGOHAR, S.; LI, M.; BOCCACCINI, A. R. Bioactive glass-based fibrous wound dressings. **Burns & Trauma**, v. 10, 1 jan. 2022.

HONG, X.; EDIRISINGHE, M.; MAHALINGAM, S. Beads, beaded-fibres and fibres: Tailoring the morphology of poly(caprolactone) using pressurised gyration. **Materials Science and Engineering: C**, v. 69, p. 1373–1382, dez. 2016.

HOPPE, A.; GÜLDAL, N. S.; BOCCACCINI, A. R. **A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics** *Biomaterials*, , abr. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21292319/>>. Acesso em: 13 dez. 2020

HU, Q. *et al.* Preparation and Characterization of Nano-Silver-Loaded Antibacterial Membrane via Coaxial Electrospinning. **Biomimetics**, v. 8, n. 5, p. 419, 11 set. 2023.

HUNT K, B. S. **Therapeutical and practical aspects of oxygen in wound healing**. New York: McGraw-Hill Professional, 2004.

HURLOW, J.; BOWLER, P. G. Acute and chronic wound infections: microbiological, immunological, clinical and therapeutic distinctions. **Journal of Wound Care**, v. 31, n. 5, p. 436–445, 2 maio 2022.

IRANPOUR MOBARAKEH, A. *et al.* Fabrication and evaluation of a bi-layered electrospun PCL/PVA patch for wound healing: Release of vitamins and silver nanoparticle. **Heliyon**, v. 10, n. 12, p. 33178, 30 jun. 2024.

ISAAC, C. *et al.* Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**, p. 125, 19 dez. 2010.

ISO. **ISO - ISO 10993-5: 2009 - Avaliação biológica de dispositivos médicos - Parte 5: Testes de citotoxicidade in vitro**. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/36406.html>>.

ISO 23317. **Implants for surgery-In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials**. [s.l: s.n.].

IURILLI, M. *et al.* Electrospun Collagen-Coated Nanofiber Membranes Functionalized with Silver Nanoparticles for Advanced Wound Healing Applications. **Membranes**, v. 15, n. 2, p. 39, 1 fev. 2025.

JANA, S. *et al.* Copper and cobalt doped bioactive glass-fish dermal collagen electrospun mat triggers key events of diabetic wound healing in full-thickness skin defect model. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 134, p. 105414, 1 out. 2022.

JIA, J. *et al.* Anti-adhesive and antibacterial chitosan/PEO nanofiber dressings with high breathability for promoting wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 261, p. 129668, mar. 2024.

JIA, Y. T. *et al.* Preparation of PCL/PVP/Ag Nanofiber Membranes by Electrospinning Method. **Applied Mechanics and Materials**, v. 268–270, p. 580–583, dez. 2012.

JIANG, Y. *et al.* Tissue Repair and Regeneration Disorders: Repair and Regeneration of Chronic Refractory Wounds. *Em: Regenerative Medicine in China*. Singapore: Springer Singapore, 2021. p. 139–178.

JO, H. *et al.* **Applications of mesenchymal stem cells in skin regeneration and rejuvenation** *International Journal of Molecular Sciences* MDPI AG, , 1 mar. 2021.

JUNCOS BOMBIN, A. D.; DUNNE, N. J.; MCCARTHY, H. O. Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 114, p. 110994, 1 set. 2020.

KALVA, S. N. *et al.* Active agents loaded extracellular matrix mimetic electrospun membranes for wound healing applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 63, p. 102500, 1 jun. 2021.

KIM, G.; PARK, J.; PARK, S. Surface-treated and multilayered poly( $\epsilon$ -caprolactone) nanofiber webs exhibiting enhanced hydrophilicity. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v. 45, n. 15, p. 2038–2045, 15 ago. 2007.

KIM, H. H. *et al.* Effect of fiber diameter on surface morphology, mechanical property, and cell behavior of electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone) mat. **Fibers and Polymers**, v. 17, n. 7, p. 1033–1042, 31 jul. 2016.

KLAIRUTSAMEE, W.; SUPAPHOL, P.; JANGCHUD, I. Electrospinnability of poly(butylene succinate): Effects of solvents and organic salt on the fiber size and morphology. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 43, 15 nov. 2015.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, 1 maio 2006a.

\_\_\_\_. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, 1 maio 2006b.

KOŁBUK, D.; SAJKIEWICZ, P.; KOWALEWSKI, T. A. Optical birefringence and molecular orientation of electrospun polycaprolactone fibers by polarizing-interference microscopy. **European Polymer Journal**, v. 48, n. 2, p. 275–283, fev. 2012.

KUDDUSHI, M. *et al.* Transparent and Mechanically Robust Janus Nanofiber Membranes for Open Wound Healing and Monitoring. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 16, n. 46, p. 63389–63403, 20 nov. 2024.

LEE, H.-J.; KIM, M. Skin Barrier Function and the Microbiome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 21, p. 13071, 28 out. 2022.

LI, Q. *et al.* Advances of hydrogel combined with stem cells in promoting chronic wound healing. **Frontiers in Chemistry**, v. 10, 28 nov. 2022a.

\_\_\_\_. Advances of hydrogel combined with stem cells in promoting chronic wound healing. **Frontiers in Chemistry**, v. 10, 28 nov. 2022b.

LI, X. *et al.* Electrospun PCL/mupirocin and chitosan/lidocaine hydrochloride multifunctional double layer nanofibrous scaffolds for wound dressing applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 13, p. 5287–5299, set. 2018.

LI, Y.-F. *et al.* Ultraporous interweaving electrospun microfibers from PCL–PEO binary blends and their inflammatory responses. **Nanoscale**, v. 6, n. 6, p. 3392, 2014.

LIU, M. *et al.* Optimization and integration of nanosilver on polycaprolactone nanofibrous mesh for bacterial inhibition and wound healing in vitro and in vivo. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 12, p. 6827–6840, set. 2017.

LIU, M. *et al.* Electrospun flexible magnesium-doped silica bioactive glass nanofiber membranes with anti-inflammatory and pro-angiogenic effects for infected wounds. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 11, n. 2, p. 359–376, 2023.

LIU, S. *et al.* Antibacterial and anti-adhesion effects of the silver nanoparticles-loaded poly(L-lactide) fibrous membrane. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 3, p. 1176–1182, abr. 2013.

LIU, Y. *et al.* Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent. **Wound Repair and Regeneration**, v. 10, n. 5, p. 336–340, 4 set. 2002.

LIU, Y. *et al.* Electrospun nanofibers as a wound dressing for treating diabetic foot ulcer. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 2, p. 130–143, 1 mar. 2019.

LIU, Y. *et al.* Advances in the Preparation of Nanofiber Dressings by Electrospinning for Promoting Diabetic Wound Healing. **Biomolecules**, v. 12, n. 12, p. 1727, 22 nov. 2022.

LIU, Y.-F. *et al.* Therapeutic strategies for chronic wound infection. **Chinese Journal of Traumatology**, v. 25, n. 1, p. 11–16, jan. 2022.

LIU, YUEQI *et al.* Recent development of electrospun wound dressing. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, v. 17, p. 100247, mar. 2021.

LIVERANI, L. *et al.* Nanocomposite electrospun fibers of poly( $\epsilon$ -caprolactone)/bioactive glass with shape memory properties. **Bioactive Materials**, v. 11, p. 230–239, maio 2022.

LOH, X. J. The effect of pH on the hydrolytic degradation of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-block-poly(ethylene glycol) copolymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 127, n. 3, p. 2046–2056, 5 fev. 2013.

LOZA, K. *et al.* The dissolution and biological effects of silver nanoparticles in biological media. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, n. 12, p. 1634, 2014.

LUGININA, M. *et al.* Electrospun PCL/PGS Composite Fibers Incorporating Bioactive Glass Particles for Soft Tissue Engineering Applications. **Nanomaterials**, v. 10, n. 5, p. 978, 19 maio 2020.

MAÇON, A. L. B. *et al.* Lithium-silicate sol–gel bioactive glass and the effect of lithium precursor on structure–property relationships. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 81, n. 1, p. 84–94, 23 jan. 2017.

MALIKMAMMADOV, E. *et al.* PCL and PCL-based materials in biomedical applications. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 29, n. 7–9, p. 863–893, 13 jun. 2018.

MATOORI, S.; VEVES, A.; MOONEY, D. J. Advanced bandages for diabetic wound healing. **Science Translational Medicine**, v. 13, n. 585, p. 4839, 17 mar. 2021.

MATTINA, A. A. LA; MARIANI, S.; BARILLARO, G. Bioresorbable Materials on the Rise: From Electronic Components and Physical Sensors to In Vivo Monitoring Systems. **Advanced Science**, v. 7, n. 4, 19 fev. 2020.

MEHRABI, T.; MESGAR, A. S.; MOHAMMADI, Z. Bioactive Glasses: A Promising Therapeutic Ion Release Strategy for Enhancing Wound Healing. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 6, n. 10, p. 5399–5430, 12 out. 2020.

MICHALAK, M. *et al.* Bioactive Compounds for Skin Health: A Review. **Nutrients**, v. 13, n. 1, p. 203, 12 jan. 2021.

MIGUEZ-PACHECO, V. *et al.* Development and characterization of lithium-releasing silicate bioactive glasses and their scaffolds for bone repair. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 432, p. 65–72, jan. 2016.

MIRHOSSEINI, M. M.; HADDADI-ASL, V.; ZARGARIAN, S. SH. Fabrication and characterization of hydrophilic poly( $\epsilon$ -caprolactone)/pluronic P123 electrospun fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 133, n. 17, 5 maio 2016.

MOGHANIAN, A.; FIROOZI, S.; TAHRIRI, M. Synthesis and in vitro studies of sol-gel derived lithium substituted 58S bioactive glass. **Ceramics International**, v. 43, n. 15, p. 12835–12843, out. 2017.

MOHAMMADI, M. R. *et al.* Antibacterial performance and in vivo diabetic wound healing of curcumin loaded gum tragacanth/poly( $\epsilon$ -caprolactone) electrospun nanofibers. **Materials Science and Engineering: C**, v. 69, p. 1183–1191, 1 dez. 2016.

MOURA, D. *et al.* Development of a bioactive glass-polymer composite for wound healing applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 76, p. 224–232, 1 jul. 2017.

NAIR, L. S.; LAURENCIN, C. T. Biodegradable polymers as biomaterials. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 8–9, p. 762–798, 1 ago. 2007.

NASERI, E.; AHMADI, A. A review on wound dressings: Antimicrobial agents, biomaterials, fabrication techniques, and stimuli-responsive drug release. **European Polymer Journal**, v. 173, p. 111293, jun. 2022.

NASERI, S.; LEPRY, W. C.; NAZHAT, S. N. Bioactive glasses in wound healing: hope or hype? **Journal of Materials Chemistry B**, v. 5, n. 31, p. 6167–6174, 9 ago. 2017.

NGUYEN, A. V.; SOULIKA, A. M. The Dynamics of the Skin's Immune System. **International Journal of Molecular Sciences 2019, Vol. 20, Page 1811**, v. 20, n. 8, p. 1811, 12 abr. 2019.

NIEN, Y.-H. *et al.* Preparation and characterization of electrospun polycaprolactone/polyethylene oxide membranes. **Journal of Polymer Research**, v. 20, n. 6, p. 166, 16 jun. 2013.

ØDEGAARD, K. S.; TORGERSEN, J.; ELVERUM, C. W. Structural and Biomedical Properties of Common Additively Manufactured Biomaterials: A Concise Review. **Metals**, v. 10, n. 12, p. 1677, 15 dez. 2020.

OTAVIANO, M. H. *et al.* Topical Oxygen Jet Therapy (TOJT) for treating infected chronic surgical wounds. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, n. 2, p. 101547, mar. 2021.

PERCIVAL, S. L. *et al.* The effects of pH on wound healing, biofilms, and antimicrobial efficacy. **Wound Repair and Regeneration**, v. 22, n. 2, p. 174–186, 24 mar. 2014.

PFISTERER, K. *et al.* The Extracellular Matrix in Skin Inflammation and Infection. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 6 jul. 2021.

PIATTI, E. *et al.* Poly( $\epsilon$ -caprolactone)/bioactive glass composite electrospun fibers for tissue engineering applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 111, n. 11, p. 1692–1709, 10 nov. 2023.

PLAS, M. J. VAN DER *et al.* Method development and characterisation of the low-molecular-weight peptidome of human wound fluids. **eLife**, v. 10, 6 jul. 2021.

POSSOLLI, N. M. *et al.* Dissolution, bioactivity behavior, and cytotoxicity of 19.58Li<sub>2</sub>O·11.10ZrO<sub>2</sub>·69.32SiO<sub>2</sub> glass–ceramic. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 110, n. 1, p. 67–78, 2021.

\_\_\_\_\_. LZS bioactive glass-ceramic scaffolds: Colloidal processing, foam replication technique and mechanical properties to bone tissue engineering. **Open Ceramics**, v. 9, p. 100219, mar. 2022.

POSSOLLI, N. M.; NIERO, A. L.; *et al.* Bioactive glass enhanced alginate / carboxymethyl cellulose functional dressings Li<sub>2</sub>O–ZrO<sub>2</sub>–SiO<sub>2</sub>. **Materials Chemistry and Physics**, v. 314, p. 128909, 15 fev. 2024.

POSSOLLI, N. M.; MODOLON, H. B.; *et al.* Antimicrobial characteristics of the Li<sub>2</sub>O–ZrO<sub>2</sub>–SiO<sub>2</sub> bioactive glass and glass-ceramic for bone regeneration and wound healing. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 21, n. 3, p. 2567–2577, 1 maio 2024.

RAHMATI, M. *et al.* Electrospinning for tissue engineering applications. **Progress in Materials Science**, v. 117, 1 abr. 2021.

REID, J. A.; MCDONALD, A.; CALLANAN, A. Modulating electrospun polycaprolactone scaffold morphology and composition to alter endothelial cell proliferation and angiogenic gene response. **PLOS ONE**, v. 15, n. 10, p. e0240332, 8 out. 2020.

REZVANI GHOMI, E. *et al.* Wound dressings: Current advances and future directions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 27, p. 47738, 15 jul. 2019.

RIZZELLO, L.; POMPA, P. P. Nanosilver-based antibacterial drugs and devices: Mechanisms, methodological drawbacks, and guidelines. **Chem. Soc. Rev.**, v. 43, n. 5, p. 1501–1518, 2014.

ROCHA, E. DA S. M.; ARCARO, S. **MEMBRANA ELETROFIADA DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) PLA, QUITOSANA E VIDRO BIOATIVO DO SISTEMA LZS (Li<sub>2</sub>O-ZrO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub>) PARA APLICAÇÃO EM REGENERAÇÃO DE CARTILAGEM.**

Criciúma: UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE , jul. 2023.

RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, N. *et al.* Wound Chronicity, Impaired Immunity and Infection in Diabetic Patients. **MEDICC Review**, v. 24, n. 1, p. 44, 17 set. 2021.

ROUHI, H.; GOLSHAN EBRAHIMI, N. Antibacterial and in vivo studies of poly( $\epsilon$ -caprolactone)-silver electrospun nanofibers: effect of preparation methods on the properties. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 72, n. 6, p. 460–471, 13 abr. 2023.

SAHANA, T. G.; REKHA, P. D. Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering. **Molecular Biology Reports**, v. 45, n. 6, p. 2857–2867, 9 dez. 2018.

SARABI-MIANEJI, S.; SCOTT, J.; PAGÉ, D. J. Y. S. Impact of electrospinning process parameters on the measured current and fiber diameter. **Polymer Engineering & Science**, v. 55, n. 11, p. 2576–2582, 17 nov. 2015.

SERGI, R. *et al.* Incorporation of Bioactive Glasses Containing Mg, Sr, and Zn in Electrospun PCL Fibers by Using Benign Solvents. **Applied Sciences**, v. 10, n. 16, p. 5530, 10 ago. 2020a.

\_\_\_\_. A New Generation of Electrospun Fibers Containing Bioactive Glass Particles for Wound Healing. **Materials**, v. 13, n. 24, p. 5651, 11 dez. 2020b.

SHAKIBA, M. *et al.* A bi-functional nanofibrous composite membrane for wound healing applications. **Archiv der Pharmazie**, v. 357, n. 8, 15 ago. 2024.

SIBBALD, R. G. *et al.* Special Considerations in Wound Bed Preparation 2011. **Advances in Skin & Wound Care**, v. 24, n. 9, p. 415–436, set. 2011.

SORG, H. *et al.* Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. **European Surgical Research**, v. 58, n. 1–2, p. 81–94, 1 fev. 2017.

SOWMYA, B.; PANDA, P. K. Electrospinning of poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) and poly ethylene glycol (PEG) composite nanofiber membranes using methyl ethyl ketone (MEK) and N N'-dimethyl acetamide (DMAc) solvent mixture for anti-adhesion applications. **Materials Today Communications**, v. 33, p. 104718, dez. 2022a.

\_\_\_\_. Electrospinning of poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) and poly ethylene glycol (PEG) composite nanofiber membranes using methyl ethyl ketone (MEK) and N N'-

dimethyl acetamide (DMAc) solvent mixture for anti-adhesion applications. **Materials Today Communications**, v. 33, p. 104718, 1 dez. 2022b.

STETKEVICH, S. *et al.* How to Select an Extracellular Matrix for Wound Repair: A Comprehensive Review. **Eplasty**, v. 23, p. e51, 2023.

TASKIN, M. B. *et al.* Nanotopography featured polycaprolactone/polyethyleneoxide microfibers modulate endothelial cell response. **Nanoscale**, v. 9, n. 26, p. 9218–9229, 2017.

TEIXEIRA, J. D. *et al.* Sintering behavior of LZS glass-ceramics. **Materials Science Forum**, v. 727–728, p. 1028–1033, 2012.

THOMAS, R. *et al.* Electrospun Polycaprolactone Membrane Incorporated with Biosynthesized Silver Nanoparticles as Effective Wound Dressing Material. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 176, n. 8, p. 2213–2224, 26 ago. 2015.

THOMAS, S.; MCCUBBIN, P. An *in vitro* analysis of the antimicrobial properties of 10 silver-containing dressings. **Journal of Wound Care**, v. 12, n. 8, p. 305–308, set. 2003.

TOTTOLI, E. M. *et al.* Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. **Pharmaceutics 2020, Vol. 12, Page 735**, v. 12, n. 8, p. 735, 5 ago. 2020.

TRICOU, L.-P. *et al.* Wound pH-Modulating Strategies for Diabetic Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 13, n. 9, p. 446–462, 1 set. 2024.

UHLJAR, L. É.; AMBRUS, R. Electrospinning of Potential Medical Devices (Wound Dressings, Tissue Engineering Scaffolds, Face Masks) and Their Regulatory Approach. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 417, 26 jan. 2023.

VALERIO, P. *et al.* The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. **Biomaterials**, v. 25, n. 15, p. 2941–2948, jul. 2004.

VARGAS, G. E. *et al.* Effect of nano-sized bioactive glass particles on the angiogenic properties of collagen based composites. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 24, n. 5, p. 1261–1269, 22 maio 2013.

VELLAYAPPAN, M. V. *et al.* Electrospinning applications from diagnosis to treatment of diabetes. **RSC Advances**, v. 6, n. 87, p. 83638–83655, 2 set. 2016.

VERMA, K. D. *et al.* Food and Drug Administration perspective: Advancing product development for non-healing chronic wounds. **Wound Repair and Regeneration**, v. 30, n. 3, p. 299–302, 6 maio 2022.

VILLARREAL-GÓMEZ, L. J. *et al.* Antimicrobial effect of electrospun nanofibers loaded with silver nanoparticles: Influence of Ag incorporation method. **Journal of Nanomaterials**, v. 2021, 2021.

VUORNOS, K. *et al.* Bioactive glass ions induce efficient osteogenic differentiation of human adipose stem cells encapsulated in gellan gum and collagen type I hydrogels. **Materials Science and Engineering: C**, v. 99, p. 905–918, jun. 2019.

\_\_\_\_\_. Bioactive glass ions for in vitro osteogenesis and microvascularization in gellan gum-collagen hydrogels. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 108, n. 4, p. 1332–1342, 31 maio 2020.

WANG, H. *et al.* Preparation and Optimization of Silver Nanoparticles Embedded Electrospun Membrane for Implant Associated Infections Prevention. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 5, n. 21, p. 11014–11021, 13 nov. 2013a.

\_\_\_\_\_. Preparation and Optimization of Silver Nanoparticles Embedded Electrospun Membrane for Implant Associated Infections Prevention. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 5, n. 21, p. 11014–11021, 13 nov. 2013b.

WANG, M. *et al.* Artificial Skin Perception. **Advanced Materials**, v. 33, n. 19, 15 maio 2021.

WANG, Y. *et al.* An observational study of the pH value during the healing process of diabetic foot ulcer. **Journal of Tissue Viability**, v. 33, n. 2, p. 208–214, maio 2024.

WATT, F. M.; FUJIWARA, H. Cell-extracellular matrix interactions in normal and diseased skin. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 3, n. 4, p. 1–14, 2011.

WEI, R. *et al.* Preparation and in vitro evaluation of Lithium-doped bioactive glasses for wound healing with nerve repair potential. **Materials Letters**, v. 292, p. 129629, jun. 2021.

WHITE, J. M.; JURCZYK, J.; HORN, R. M. VAN. Physical structure contributions in pH degradation of PEO-b-PCL films. **Polymer Degradation and Stability**, v. 183, p. 109468, jan. 2021.

WOODLEY, D. T. Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis. **Dermatologic Clinics**, v. 35, n. 1, p. 95–100, jan. 2017.

YANG, J.; XU, L. Electrospun Nanofiber Membranes with Various Structures for Wound Dressing. **Materials**, v. 16, n. 17, p. 6021, 1 set. 2023.

YUAN, J. *et al.* Chitosan/LiCl composite scaffolds promote skin regeneration in full-thickness loss. **Science China Life Sciences**, v. 63, n. 4, p. 552–562, 28 abr. 2020.

ZARRINTAJ, P. *et al.* Application of compatibilized polymer blends in biomedical fields. *Em*: **Compatibilization of Polymer Blends: Micro and Nano Scale Phase Morphologies, Interphase Characterization, and Properties**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 511–537.

ZHANG, J. *et al.* Accelerated Wound Healing by Electrospun Multifunctional Fibers with Self-Powered Performance. **Langmuir**, v. 40, n. 17, p. 9134–9143, 30 abr. 2024.

ZHANG, Q. *et al.* Effect of porosity on long-term degradation of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds and their cellular response. **Polymer Degradation and Stability**, v. 98, n. 1, p. 209–218, jan. 2013.

ZHANG, X.; WILLIAMS, D. **Definitions of biomaterials for the twenty-first century**. [s.l.: s.n.].

ZHANG, Z. *et al.* Electrospun collagen/chitosan composite fibrous membranes for accelerating wound healing. **Biomedical Materials**, v. 19, n. 5, p. 055024, 1 set. 2024.

ZHAO, X. *et al.* Collagen/Polyethylene Oxide Nanofibrous Membranes with Improved Hemostasis and Cytocompatibility for Wound Dressing. **Applied Sciences**, v. 8, n. 8, p. 1226, 26 jul. 2018.

ZHAO, Y. *et al.* Construction of antibacterial photothermal PCL/AgNPs/BP nanofibers for infected wound healing. **Materials & Design**, v. 226, p. 111670, fev. 2023.

ZIĄBKA, M.; DZIADEK, M. Thermoplastic Polymers with Nanosilver Addition—Microstructural, Surface and Mechanical Evaluation during a 36-Month Deionized Water Incubation Period. **Materials**, v. 14, n. 2, p. 361, 13 jan. 2021.