

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 31/03/2024.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Flávia Theresa Soares de Castro Bione

**Análise in vitro das propriedades da eriocitrina e eriodictiol sobre
fibroblastos L929**

Araraquara

2022



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Flávia Theresa Soares de Castro Bione

**Análise in vitro das propriedades da eriocitrina e eriodictiol sobre
fibroblastos L929**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Periodontia

Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio

Coorientador: Prof. Dr. Vinícius de Paiva Gonçalves

Araraquara

2022

B615a	Bione, Flávia Theresa Soares de Castro Análise in vitro das propriedades da eriocitrina e eriodictiol sobre fibroblastos L929 / Flávia Theresa Soares de Castro Bione. -- Araraquara, 2022 45 f. : il. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio Coorientador: Prof. Dr. Vinícius de Paiva Gonçalves 1. Cicatrização. 2. Fibroblastos. 3. Inflamação. 4. Flavonoides. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Flávia Theresa Soares de Castro Bione

**Análise in vitro das propriedades da eriocitrina e eriodictiol sobre
fibroblastos L929**

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de mestre em Odontologia

Presidente e orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio

2º Examinador: Profa. Dra. Morgana Guimarães Stabili

3º Examinador: Profa. Dra. Leila Santana Coimbra

Araraquara, 31 de março de 2022

DADOS CURRICULARES

Flávia Theresa Soares de Castro Bione

NASCIMENTO: 19/12/1996 – Recife/PE

FILIAÇÃO: Flávio Aldênio de Araújo Bione Rocha
Christiane Soares de Castro Bione

2015 – 2019

Graduação em Odontologia

Universidade de Pernambuco – UPE, Recife, Pernambuco

2020 – 2022

Mestrado em Odontologia – Área de Concentração: Periodontia

Dedico este trabalho àqueles que são tudo para mim,

Deus, é tudo sobre você

Flávio Aldênio de Araújo Bione Rocha, meu pai

Christiane Soares de Castro Bione, minha mãe

Anderson Ricardo da Silva, meu noivo

Victor, João e Pedro, meus irmãos

AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e pela vida. Gratidão por estar presente em todos os momentos e sempre conduzir os meus passos para o melhor caminho. Sou grata por colocar pessoas maravilhosas na minha vida que estiveram ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus pais Flávio Aldênio de Araújo Bione Rocha e Christiane Soares de Castro Bione, obrigada por confiarem em mim e apoiarem minhas decisões. Obrigada por toda paciência, por todo amor e carinho que dedicam em minha vida. Amo muito vocês. Agradecimento especial ao meu pai, que partiu ano passado, e deixou muitas saudades. Ao meu irmão, Victor Hugo Soares de Castro Bione, por toda paciência, carinho e apoio em todos os momentos. Obrigada pela parceria e compreensão. Aos meus irmãos João e Pedro que deixaram tudo mais calmo e tranquilo. Eu amo vocês. Ao meu noivo Anderson Ricardo da Silva, por toda a parceria e companheirismo, por não deixar eu desistir e me apoiar em todos os momentos. Eu o amo e admiro muito.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Luís Carlos Spolidorio, com quem tive a feliz oportunidade e imenso prazer de conviver e aprender sobre o mundo encantador da Patologia. Obrigada pela amizade, confiança, respeito, competência e disposição em me orientar durante a realização desta dissertação. Espero ter correspondido às suas expectativas. E Obrigada pela paciência e por acreditar em mim. À Profa. Dra. Denise Palomari Spolidorio pelo carinho que sempre demonstrou por nós e por disponibilizar os seus laboratórios para realização de parte dos nossos experimentos. Ao meu Coorientador e amigo, o Prof. Dr. Vinicius de Paiva Gonçalves pela amizade, por todos os ensinamentos e por toda a paciência que teve comigo durante esses 2 anos. Você foi essencial para meu aprendizado e evolução como aluna de pós-graduação. Você é um exemplo de foco e compromisso para mim. À minha aluna de iniciação científica e amiga, Luana Bassetti por todos os momentos dentro do laboratório, por ter me ensinado a ensinar. Você vai muito longe! À prof. Dra. Leila Coimbra por ter me mostrado o caminho da pós-graduação, sem ela eu não teria conhecido a Universidade e chegado até aqui. Gratidão por tudo!

À Patricia Huacho pela amizade, carinho, conselhos e por todos os ensinamentos na execução das etapas in vitro. Aos funcionários do Laboratório de Patologia Térreo: José Antônio Zuanon e Juliana Pirola, obrigada por toda ajuda, conselhos, risadas e todo carinho que demonstraram ao longo da realização deste trabalho. A todos os funcionários do Departamento de Fisiologia e Patologia, em especial a Carla Molina, por sempre me ajudar com prontidão nas burocracias administrativas e por todo carinho que sempre demonstrou. A todos meus professores da graduação e pós-graduação pelo apoio, em especial ao meu orientador de TCC Prof. Dr. Renato de Vasconcelos Alves, por toda confiança que foi em mim depositada um dia. Graças às oportunidades que vocês me ofereceram, cheguei até aqui.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2020/10843-9) pelo apoio financeiro, essencial para realização desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“O mistério da vida me causa a mais forte emoção. É o sentimento que suscita a beleza e a verdade, cria a arte e a ciência. Se alguém não conhece esta sensação ou não pode mais experimentar espanto ou surpresa, já é um morto-vivo e seus olhos se cegaram.”
Albert Einstein*

* Einstein A. Como vejo o mundo. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 1981.

Bione FTSC. Análise in vitro das propriedades da eriocitrina e eriodictiol sobre fibroblastos L929 [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

A cicatrização de feridas é regida por fases sequenciais, e dentre a complexa rede de eventos humorais e celulares destaca-se a atividade de fibroblastos, os quais secretam citocinas e fatores de crescimento, participando ativamente do desenvolvimento de novo tecido e da regulação do processo de reparo. Fatores diversos podem comprometer os mecanismos implicados ao processo de reparo, retardando e/ou impedindo seu curso natural, o que faz com que o tratamento de feridas apresente limitado sucesso e compreenda estratégias de alto custo. Estudos acerca das propriedades cicatrizantes de produtos naturais têm sido realizados pois podem facilitar o processo de cicatrização, por demonstrarem desde ações anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana à síntese de pró-colágeno. Os flavonoides são apresentados como alternativas estratégicas para várias afecções imunoinflamatórias, por apresentarem potencial anti-inflamatório e antioxidante. O objetivo do trabalho foi avaliar a hipótese de que os flavonoides, eriocitrina (Erioc) e eriodictiol (Eriod), apresentam propriedades moduladoras sobre a atividade in vitro de fibroblastos L929. Os fibroblastos L929 foram cultivados concomitante a diferentes tratamentos, de acordo com cada grupo – 1-Células (Controle), 2-Células+Erioc1 μ M, 3-Células+Erioc25 μ M, 4- Células+Erioc50 μ M, 5-Células+Eriod1 μ M, 6-Células+Eriod25 μ M, 7-Células+Eriod50 μ M. As análises seguintes foram realizadas: proliferação celular e citotoxicidade (Alamar blue e MTT - 1, 3 e 7 dias); atividade migratória (ensaio de arranhão – 24 e 72hrs); síntese de colágeno (Espectrofotometria – 3 dias); expressão de fatores de crescimento FGF e TGF- β 1 (ELISA – 3 e 7 dias). A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism 8. Os resultados demonstraram que o tratamento com eriocitrina ou eriodictiol não comprometeu a viabilidade in vitro dos fibroblastos L929 e a proliferação celular manteve-se similar entre os grupos tratados ou não com ambos os flavonoides. A atividade migratória dos fibroblastos, em 24 hrs, foi estimulada pelo tratamento com eriocitrina a 1 μ M e 25 μ M ($p < 0.05$) e, após em 72 horas, a administração de eriocitrina 1 μ M, 25 μ M e o eriodictiol 1 μ M promoveram significativa redução da área do arranhão, demonstrando maior atividade de migração celular ($p < 0.05$). Os tratamentos com eriocitrina e eriodictiol na concentração de 1 μ M promoveram significativo aumento na produção de colágeno, quando comparados aos grupos controle e eriocitrina 25 e 50 μ M ($p < 0.05$). O tratamento com eriocitrina e eriodictiol modulou apenas a expressão de TGF- β 1 aos 3 dias quando comparada ao grupo não tratado, enquanto em 7 dias, os compostos a 25 e 50 μ M reduziram significativamente a expressão de TGF- β 1 e FGF, e o tratamento com eriocitrina a 1 μ M aumentou de modo significativo a expressão de TGF- β 1 ($p < 0.05$). Os resultados permitem concluir que a eriocitrina e eriodictiol em baixa concentração, modulam a atividade e função in vitro dos fibroblastos L929 nas condições avaliadas, estimulando a migração celular e produção de colágeno in vitro, sugerindo-se uma correlação ao aumento expressivo de TGF- β 1.

Palavras-chave: Cicatrização. Fibroblastos. Inflamação. Flavonoides.

ABSTRACT

Wound healing occurs in sequential phases, and among the complex network of humoral and cellular events, fibroblasts show important activity secreting cytokines and growth factors, actively participating in the development of new tissue and in the regulation of the wound healing process. Several factors may compromise the mechanisms involved in the repair process, delaying and/or preventing its natural course, which makes the treatment of wounds with limited success and involves high-cost strategies. Studies on the healing properties of natural products have been performed, as they can facilitate the healing process, demonstrating from anti-inflammatory, antioxidant, antibacterial actions to the synthesis of pro-collagen. Flavonoids are presented as strategic alternatives for various immunoinflammatory disorders, as they have anti-inflammatory and antioxidant potential. The aim of the study was to evaluate the hypothesis that the flavonoids, eriocitrin (Erioc) and eriodictiol (Eriod), have modulating properties on the in vitro activity of L929 fibroblasts. L929 fibroblasts were cultured concomitantly with different treatments, according to each group – 1-Cells (Control), 2-Cells+Erioc1 μ M, 3-Cells+Erioc25 μ M, 4-Cells+Erioc50 μ M, 5-Cells+Eriod1 μ M, 6-Cells +Eriod25 μ M, 7-Cells+Eriod50 μ M. The following analyzes were performed: cell proliferation and cytotoxicity (Alamar blue and MTT - 1, 3 and 7 days); migratory activity (scratch test – 24 and 72 hrs); collagen synthesis (Spectrophotometry – 3 days); expression of growth factors FGF and TGF- β 1 (ELISA – 3 and 7 days). Statistical analysis of the data was performed using the GraphPad Prism 8 software. The results showed that treatment with eriocitrin or eriodictiol did not compromise the in vitro viability of L929 fibroblasts and cell proliferation remained similar between groups treated or not with both flavonoids. The migratory activity of fibroblasts, in 24 hrs, was stimulated by the treatment with eriocitrin at 1 μ M and 25 μ M ($p < 0.05$) and, after 72 hours, the administration of eriocitrin 1 μ M, 25 μ M and eriodictiol 1 μ M promoted a significant reduction in the scratch area, demonstrating higher cell migration activity ($p < 0.05$). The treatments with eriocitrin and eriodictiol at 1 μ M promoted a significant increase in collagen production, when compared to the control and eriocitrin 25 and 50 μ M groups ($p < 0.05$). Treatment with eriocitrin and eriodictiol just modulated the expression of TGF- β 1 at 3 days when compared to the untreated group, while at 7 days, compounds at 25 and 50 μ M significantly reduced the expression of TGF- β 1 and FGF, and the treatment with 1 μ M eriocitrin significantly increased TGF- β 1 expression ($p < 0.05$). The results allow to conclude that eriocitrin and eriodictiol in low concentration modulate the activity and function of L929 fibroblasts in vitro under the conditions evaluated, stimulating cell migration and collagen production in vitro, suggesting a correlation with the expressive increase of TGF- β 1.

Keywords: Wound healing. Fibroblasts. Inflammation. Flavonoids.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Cicatrização de Feridas (<i>Wound Healing</i>) Sob Perspectiva da Atividade de Fibroblastos	14
2.2 Cicatrização de Feridas Como um Problema de Relevância Clínica, Social e Perspectivas de Resolução.....	15
2.3 Aspectos Gerais dos Flavonoides.....	16
2.4 Ação de Flavonoides Sobre Fibroblastos e Potencial Terapêutico na Cicatrização de Feridas	18
3 PROPOSIÇÃO	20
3.1 Hipótese	20
3.2 Objetivos Geral e Específico	20
4 MATERIAL E MÉTODO	21
4.1 Preparo das Formulações de Eriocitrina e Eriodictiol	21
4.2 Linhagem e Cultura Celular	21
4.3 Determinação das Concentrações de Estudo	21
4.4 Avaliação do Efeito Citotóxico Após Tratamento com Eriocitrina e Eriodictiol em Fibroblasto L929.....	22
4.5 Análise do Tratamento com Eriocitrina e Eriodictiol Sobre Proliferação de Fibroblastos L929	23
4.6 Análise das Propriedades da Eriocitrina e Eriodictiol Sobre a Migração de Fibroblastos L929	23
4.7 Avaliação das Propriedades da Eriocitrina e Eriodictiol Sobre Síntese de Colágeno a Partir de Fibroblastos L929.....	24
4.8 Análise das Propriedades da Eriocitrina e Eriodictiol Sobre Expressão de Fatores de Crescimento por Fibroblastos L929.....	25
4.9 Análise Estatística dos Dados	26
5 RESULTADOS.....	27
5.1 As Concentrações de 1, 25 e 50µM Foram Mais Bem Toleradas Pelos Fibroblastos L929.....	27
5.2 O Tratamento com Eriocitrina ou Eriodictiol não Comprometeu a Viabilidade In Vitro dos Fibroblastos L929.....	28
5.3 A Proliferação In Vitro de Fibroblastos L929 Manteve-se Similar Entre os Grupos Tratados ou não com Eriocitrina ou Eriodictiol.....	29
5.4 As Menores Concentrações de Eriocitrina e Eriodictiol Estimularam a Migração In Vitro dos Fibroblastos L929	30
5.5 O Tratamento com 1µM de Eriocitrina e Eriodictiol Promoveu Aumento Significativo na Síntese In Vitro de Colágeno.....	32
5.6 O Tratamento com Eriocitrina e Eriodictiol Modulou Apenas a Expressão de TGF-β1 aos 3 dias Quando Comparada ao Grupo não Tratado.....	34

6 DISCUSSÃO	35
7 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

O processo de cicatrização de feridas é de natureza multifacetada, sua complexidade integra uma variedade de células e fases de reparo, incluindo hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação^{1,2}. Dentre a emaranhada rede de eventos humorais e celulares destaca-se a atividade de fibroblastos, os quais secretam citocinas e fatores de crescimento, participando ativamente do desenvolvimento de novo tecido e da regulação do processo de reparo³⁻⁵.

Fatores diversos podem comprometer os mecanismos implicados ao processo de reparo, retardando e/ou impedindo seu curso natural, o que faz com que o tratamento de feridas apresente limitado sucesso e compreenda estratégias de alto custo⁶, tornando-se necessário investimentos para o estabelecimento de inovadores e eficientes terapias, como por exemplo o uso de substâncias capazes de acelerar a cicatrização interna ou externamente como abordado por Ustener et al.⁷ (2019), havendo um interesse crescente em opções de tratamentos naturais que suportem o processo de cicatrização de feridas⁷⁻¹⁰.

Diversos estudos acerca das propriedades cicatrizantes de produtos naturais têm sido realizados, pois podem facilitar o processo de cicatrização, por demonstrarem desde ações anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana à síntese de pró-colágeno. Tais propriedades medicinais podem ser atribuídas aos constituintes fitoquímicos bioativos das várias famílias químicas, como alcalóides, óleos essenciais, flavonoides, dentre outros^{11,12}.

Os flavonoides são apresentados como alternativas estratégicas para várias afecções imunoinflamatórias, por apresentarem potencial anti-inflamatório e antioxidante. A eriocitrina, um flavonoide abundante em limões e limas pertencente ao grupo das flavononas, é descrita como potente antioxidante em estudos in vitro^{13,14}, além de ter sido relacionada à redução de alterações metabólicas observadas em indivíduos obesos¹⁵⁻¹⁷. O eriodictiol, outro flavonoide da classe das flavanonas comumente presente em frutas e vegetais, especialmente frutas cítricas como o limão, foi associado à redução dos níveis de óxido nítrico e citocinas pró-inflamatórias em ratos diabéticos.

Estudos prévios descrevem que a eriocitrina e o eriodictiol, apresentam potente atividade antioxidante in vitro, e também exercem atividades anti-inflamatórias e

antioxidantes em ratos diabéticos ou submetidos a exercício físico agudo, respectivamente¹⁶⁻²⁰.

Embora as evidências sejam sugestivas de que os flavonoides beneficiem diversas funções cutâneas, o potencial terapêutico sobre o processo de cicatrização e os mecanismos subjacentes pelos quais esses compostos atuam ainda não são claros, evidenciando a necessidade de realização de novos estudos que corroborem com as evidências científicas já existentes.

7 CONCLUSÃO

Os resultados permitem concluir que a eriocitrina e eriodictiol em baixa concentração, modulam a atividade e função in vitro dos fibroblastos L929 nas condições avaliadas, estimulando a migração celular e produção de colágeno in vitro, sugerindo-se uma correlação ao aumento expressivo de TGF- β 1.

REFERÊNCIAS*

1. Lindley LE, Stojadinovic O, Pastar I, Tomic-Canic M. Biology and biomarkers for wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2016; 138(Suppl. 3): 18S-28S.
2. Masson-Meyers DS, Andrade TAM, Caetano GS, Guimarães FR, Leite MN, Leite SN et al. Experimental models and methods for cutaneous wound healing assessment. *Int J Exp Path.* 2020; 101(1-2): 21-37.
3. Brouty-Boye D, Pottin-Clemenceau C, Doucet C, Jasmin C, Azzarone B. Chemokines and CD40 expression in human fibroblasts. *Eur J Immunol.* 2000; 30(3): 914-9.
4. Vistejnova L, Safrankova B, Nesporova K, Slavkovsky R, Hermannova M, Hosek P et al. Low molecular weight hyaluronan mediated CD44 dependent induction of IL-6 and chemokines in human dermal fibroblasts potentiates innate immune response. *Cytokine.* 2014; 70(2): 97-103.
5. Stunova A, Vistejnova L. Dermal fibroblast – a heterogeneous population with regulatory function in wound healing. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2018; 39: 137-50.
6. Kanji S, Das H. Advances of stem cell therapeutics in cutaneous wound healing and regeneration. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017: 5217967.
7. Ustuner O, Anlas C, Bakirel T, Ustun-Alkan F, Sigirci BD, Ak S et al. In vitro evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and wound healing potential of thymus sipyleus boiss. Subsp. Rosulans (Borbis) Jalas. *Molecules.* 2019; 24(18): 3353.
8. Sarmiento PDA, Ataíde TDR, Barbosa APF, De Araújo-Júnior JX, Lúcio IML, Bastos MLDA. Evaluation of the extract of *Zeyheria tuberculosa* with a view to products for wound healing. *Rev Lat Am Enfermagem.* 2014; 22: 165-72.
9. Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, Kumar A, Maccarinelli G, Memo M, Mastinu A. Cannabis sativa: a comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *J Ethnopharmacol.* 2018; 227: 300-15.
10. Kumar A, Premoli M, Bonini SA, Maccarinelli G, Gianoncelli A, Memo M et al. Cannabimimetic plants: are they new cannabinoidergic modulators? *Planta.* 2019, 249: 1681-94.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>.

11. Thakur R, Jain N, Pathak R, Sandhu SS. Practices in wound healing studies of plants. *Evid Based Complement Altern Med*. 2011; 2011: 438056.
12. Ibrahim N, Wong SK, Mohamed IN, Mohamed N, Chin KY, Ima-Nirwana S et al. Wound healing properties of selected natural products. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 25;15(11): 2360.
13. Unger RH, Scherer PE. Gluttony, sloth and the metabolic syndrome: a roadmap to lipotoxicity. *Trends Endocrinol Metab*. 2010; 21: 345-52.
14. WHO. Global Health Observatory - obesity: situation and trends. 2018. [acesso 2021 nov 14]. Disponível em: http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/.
15. Assini JM, Mulvihill EE, Huff MW. Citrus flavonoids and lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2013; 24: 34-40.
16. Bucolo C, Leggio GM, Drago F, Salomone S. Eriodictyol prevents early retinal and plasma abnormalities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Pharmacol*. 2012; 84: 88-92.
17. Miyake Y, Mochizuki M, Okada M, Hiramitsu M, Morimitsu Y, Osawa T. Isolation of antioxidative phenolic glucosides from lemon juice and their suppressive effect on the expression of blood adhesion molecules. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2007; 71: 1911-9.
18. Miyake Y, Yamamoto K, Tsujihara N, Osawa T. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. *Lipids*. 1998; 33: 689-95.
19. Minato KI, Miyake Y, Fukumoto S, Yamamoto K, Kato Y, Shimomura Y et al. Lemon flavonoid, eriocitrin, suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver. *Life Sci*. 2003; 72: 1609-16.
20. Carvalho JS. Ingestão de flavonoides cítricos sobre a modulação da resposta inflamatória e nível de perda óssea promovida por periodontite induzida em camundongos saudáveis [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.
21. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012; 49(1): 35-43.
22. Daley JM, Reichner JS, Mahoney EJ, Manfield L, Henry WL, Mastrofrancesco B. Modulation of macrophage phenotype by soluble product(s) released from neutrophils. *J Immunol*. 2005; 174(4): 2265-72.
23. Profyris C, Tziotziou C, Do Vale I. Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics part I. The molecular basis of scar formation. *J Am Acad Dermatol*. 2012; 66(1): 1-10.

24. Tziotzios C, Profyris C, Sterling J. Cutaneous scarring: pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics part II. Strategies to reduce scar formation after dermatologic procedures.. *J Am Acad Dermatol*. 2012; 66(1): 13-24.
25. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008; 453(7193): 314-21.
26. Greaves NS, Ashcroft KJ, Baguneid M, Bayat A. Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *J Dermatol Sci*. 2013; 72(3): 206-17.
27. Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *Br J Dermatol*. 2015; 173(2): 370-78.
28. Tandara AA, Mustoe TA. Oxygen in wound healing – more than a nutrient. *World J Surg*. 2004; 28(3): 294-300.
29. Achterberg VF, Buscemi L, Diekmann H, Smith-Clerc J, Schwengler H, Meister JJ et al. The nano-scale mechanical properties of the extracellular matrix regulate dermal fibroblast function. *J Invest Dermatol*. 2014; 134(7): 1862-72.
30. Portou MJ, Baker D, Abraham D, Tsui J. The innate immune system, toll-like receptors and dermal wound healing: a review. *Vasc Pharmacol*. 2015; 71: 31-6.
31. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002; 3(5): 349-63.
32. Dipietro LA. Wound-healing – the role of the macrophage and other immune cells. *Shock*. 1995; 4(4): 233-40.
33. O'Toole EA. Extracellular matrix and keratinocyte migration. *Clin Exp Dermatol*. 2001; 26(6): 525-30.
34. Sen CK. Human wounds and Its burden: an updated compendium of estimates. *Adv Wound Care*. 2019; 8: 39-48.
35. Pereira RF, Bártolo PJ. Traditional therapies for skin wound healing. *Adv Wound Care*. 2016; 5: 208-29.
36. Anlas C, Bakirel T, Ustun-Alkan F, Celik B, Baran MY, Ustuner O et al. In vitro evaluation of the therapeutic potential of Anatolian kermes oak (*Quercus coccifera* L.) as an alternative wound healing agent. *Ind Crop Prod*. 2019. 137: 24-32.
37. World Health Organization (WHO). Traditional Medicine Strategy: 2014–2023; World Health Organization: Geneva, Switzerland. 2013. [acesso 2021 dez 02] Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/92455/9789241506090_eng.pdf;jsessionid=3EEF37EEC1AE12ACD5DF9F8C103DBDDB?sequence=1.

38. Chandel RS, Rastogi RP. Triterpenoid saponins and sapogenins: 1973–1978. *Phytochemistry*. 1980; 19: 1889-908.
39. Harbone J.B. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plants analysis*. New York: Fakenham; 1973.
40. Nones J, Stipursky J, Costa SL, Gomes FCA. Flavonoids and astrocytes crosstalking: implications for brain development and pathology. *Neurochem Res*. 2010; 35: 955-66.
41. Soundarya PS, Sanjay V, Menon HA, Dhivya S, Selvamurugan N. Effects of flavonoids incorporated biological macromolecules based scaffolds in bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. 2018; 110: 74-87.
42. Bakhtiari M, Panahi Y, Ameli J, Darvishi B. Science direct protective effects of flavonoids against alzheimer's disease-related neural dysfunctions. *Biomed Pharmacother*. 2017; 93: 218-29.
43. Barreca D, Gattuso G, Bellocco E, Calderaro A, Trombetta D, Smeriglio A et al. Flavanones: citrus phytochemical with health-promoting properties. *Biofactors*. 2017; 43(4): 495-506.
44. Martens S, Mithöfer A. Flavones and flavone synthases [published correction appears in *Phytochemistry*. 2006; 67(5): 521]. *Phytochemistry*. 2005; 66(20): 2399-407.
45. Martens S, Preuss A, Matern U. Multifunctional flavonoid dioxygenases: flavonol and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry*. 2010; 71(10): 1040-9
46. Ahmad S, Alam K, Hossain MM, Fatima M. Anti-arthritisogenic and cardioprotective action of hesperidin and daidzein in collagen-induced rheumatoid arthritis. *Mol Cell Biochem*. 2016; 423:115-27.
47. Al Mamun MA, Hosen MJ, Khatun A, Alam MM, Al-Bari MAA. *Tridax procumbens* flavonoids: a prospective bioactive compound increased osteoblast differentiation and trabecular bone formation. *Biol Res*. 2017; 50:28.
48. Rothwell JA, Knaze V, Zamora-ros R. Polyphenols: dietary assessment and role in the prevention of cancers. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017; 20(6): 512-21.
49. Tree E, Nobakht M, Trueman SJ, Wallace HM, Brooks PR, Streeter KJ. Antibacterial properties of flavonoids from kino of the eucalypt tree, *Corymbia torelliana*. *Plants (Basel)*. 2017; 6:39.
50. Choi IY, Kim SJ, Jeong HJ, Park SH, Song YS, Lee JH et al. Hesperidin inhibits expression of hypoxia inducible factor-1 alpha and inflammatory cytokine production from mast cells. *Mol Cell Biochem*. 2007; 305: 153-61.

51. Huang TC, Tseng KY, Tsai SS, Liu HJ, Ho CT, Lin HY et al. Eriodictyol decreases very late antigen-4 (VLA-4) expression, cellular adhesion, and migration through an NFkB-dependent pathway in monocytes. *J Funct Foods*. 2010; 2: 263-70.
52. Hu Q, Zhang DD, Wang L, Lou H, Ren D. Eriodictyol-7-O-glucoside, a novel Nrf2 activator, confers protection against cisplatin-induced toxicity. *Food Chem Toxicol*. 2012; 50: 1927-32.
53. Jing X, Ren D, Wei X, Shi H, Zhang X, Perez RG et al. Eriodictyol-7-O-glucoside activates Nrf2 and protects against cerebral ischemic injury. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013; 273: 672–9.
54. Johnson J, Maher P, Hanneken A. The Flavonoid, eriodictyol, Induces Long-term protection in ARPE-19 cells through Its effects on Nrf2 activation and phase 2 gene expression. *Investig Ophthalmology Vis Sci*. 2009; 50: 2398.
55. Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Therapeut*. 2002; 96: 67-202.
56. Nazaruk J, Galicka A. The influence of selected flavonoids from the leaves of *Cirsium palustre*(L.) Scop. on collagen expression in human skin fibroblasts. *Phytother Res*. 2014; 28(9): 1399-405.
57. Wessels Q, Pretorius E, Smith CM, Nel H. The potential of a niacinamide dominated cosmeceutical formulation on fibroblast activity and wound healing in vitro. *Int Wound J*. 2014; 11(2): 152-8.
58. Man MQ, Yang B, Elias PM . Benefits of hesperidin for cutaneous functions. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019; 2019: 2676307.
59. Li W, Kandhare AD, Mukherjee AA, Bodhankar SL. Hesperidin, a plant flavonoid accelerated the cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats: role of TGF-B/SMADS and ANG-1/TIE-2 signaling pathways. *EXCLI J*. 2018; 17: 399-419.
60. Singh WR, Devi HS, Kumawat S, Sadam A, Appukuttan AV, Patel MR et al. Angiogenic and MMPs modulatory effects of icariin improved cutaneous wound healing in rats. *Eur J Pharmacol*. 2019; 858: 172466.
61. Palungwachira P, Tanchaoen S, Phruksaniyom C, Klungsaeng S, Srichan R, Kikuchi K et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of anthocyanins extracted from *Oryza sativa* L. in primary dermal fibroblasts. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 31(2019):2089817.
62. Santana LCL, Spolidorio LC, Pitombo JCP, Basso FG, Guarengi GG, Prates RC et al. Testosterone Increases fibroblast proliferation in vitro through androgen and estrogen receptor activation. *J Int Acad Periodontol*. 2020; 22(3): 146-155.

63. Lv P, Yu J, Xu X, Lu T, Xu F. Eriodictyol inhibits high glucose-induced oxidative stress and inflammation in retinal ganglial cells. *J Cell Biochem.* 2019; 120(4): 5644-56.
64. Matsuo M, Sasaki N, Saga K, Kaneko T. Cytotoxicity of flavonoids toward cultured normal human cells. *Biol Pharm Bull.* 2005; 28(2), 253-9.
65. San Miguel SM, Opperman LA, Allen EP, Zielinski J, Svoboda KK. Bioactive antioxidant mixtures promote proliferation and migration on human oral fibroblasts. *Arch Oral Biol.* 2011; 56(8): 812-22.
66. Basso FG, Pansani TN, Turrioni AS, Bagnato VS, Hebling J, de Costa CA. In vitro wound healing improvement by low-level laser therapy application in cultured gingival fibroblasts. *Int J Dent.* 2012; 2012:719452.
67. Matos AA. Avaliação do efeito antiproliferativo da apocinina e diapocinina em células de osteossarcoma humano [tese de doutorado]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo; 2017.
68. Abbas MM, Al-Rawi N, Abbas MA, Al-Khateeb I. Naringenin potentiated β -sitosterol healing effect on the scratch wound assay. *Res Pharm Sci,* 2019; 14(6): 566–73.
69. Nanashima N, Horie K, Maeda H, Tomisawa T, Kitajima M, Nakamura T. Blackcurrant anthocyanins increase the levels of collagen, elastin, and hyaluronic acid in human skin fibroblasts and ovariectomized rats. *Nutrients* 2018; 10; 495.
70. Xie Y, Su N, Yang J, Tan Q, Huang S, Jin M, et al. FGF/FGFR signaling in health and disease. *Signal Transduct Target Ther.* 2020; 5:181.