



Surgical & Cosmetic Dermatology

www.surgicalcosmetic.org.br/

Estudo comparativo para avaliação da eficácia cicatrizante de formulações tópicas contendo *Triticum aestivum* L. (sinônimo *Triticum vulgare*) em modelo de pele humana nativa

Comparative study to evaluate the wound healing efficacy of topical formulations containing Triticum aestivum L. (Triticum vulgare) in a native human skin model

DOI: <http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.2022140118>

RESUMO

Introdução: extratos vegetais e ativos derivados de plantas tem sido desenvolvidos com o objetivo de melhorar e potencializar o processo de cicatrização cutânea, dentre eles, o *Triticum aestivum* L. (sinônimo *Triticum vulgare*).

Objetivo: avaliar o efeito do extrato de grão inteiro (EGTA-PR) e extrato aquoso (EATA-FI) de *Triticum aestivum* L. na cicatrização cutânea em pele humana *ex vivo*.

Métodos: fragmentos de pele obtidos de cirurgia plástica eletiva foram submetidos a lesões teciduais e tratados com os extratos durante oito dias para avaliação histológica da reepitelização e marcação proteica do fator de crescimento epidérmico (EGF).

Resultados: EGTA-PR e EATA-FI aceleraram o processo de reepitelização em cultura de pele humana submetida a lesão tecidual. Adicionalmente, foi observado um aumento da marcação proteica de EGF após o tratamento com EGTA-PR.

Conclusão: EGTA-PR apresentou um melhor desempenho na reepitelização quando comparado ao EATA-FI, pois apresentou uma maior marcação proteica para EGF em cultura de pele humana. Da mesma forma, os resultados histológicos mostraram que a redensificação dérmica obtida com o EGTA-PR foi visualmente superior à observada com EATA-FI. Os resultados obtidos são promissores e corroboram as diversas ações biológicas já reportadas na literatura para extrato de *Triticum aestivum* L. nas etapas da cicatrização tecidual.

Palavras-chave: Regeneração; Fator de Crescimento Epidérmico; *Triticum*; Técnicas *in vitro*; Cicatrização

ABSTRACT

Introduction: Plant extracts and actives derived from plants were developed to improve and enhance the skin healing process including *Triticum aestivum* L. (*Triticum vulgare*).

Purpose: To evaluate the effect of whole grain extract (EGTA-PR) and aqueous extract (EATA-FI) of *Triticum aestivum* L., on *ex vivo* skin healing.

Methods: Skin fragments obtained from elective plastic surgery were subjected to tissue damage and treated with extracts for eight days for histological evaluation of re-epithelialization and immunofluorescence for epidermal growth factor (EGF).

Results: EGTA-PR and EATA-FI accelerated the re-epithelialization process in human skin culture submitted to tissue injury. Additionally, we observed increased EGF protein labeling after treatment with EGTA-PR.

Conclusion: EGTA-PR showed a better performance in re-epithelialization when compared to EATA-FI, as it presented a higher protein labeling for EGF in human skin culture. Likewise, the histological results showed that the dermal redensification obtained with EGTA-PR was visually superior to that observed with EATA-FI. The results obtained are promising and corroborate the several biological actions already reported in the literature for *Triticum aestivum* L. extract in tissue healing stages.

Keywords: Regeneration; Epidermal growth factor; *Triticum*; *In vitro* techniques; Wound healing

Artigo Original

Autores:

Brayan Styven Merchan Rojas¹
Jose Luis De-la-hoz¹
Gustavo Facchini²
Gustavo Henrique da Silva²
Ana Lúcia Tabarini Alves Pinheiro³
Samara Eberlin²

- ¹ Megalabs SAS, Research and Development, Bogotá, Cundinamarca, Colombia.
- ² Kosmoscience Group, Skin Vitro, Pre-Clinical Safety and Efficacy Laboratory, Valinhos (SP), Brazil.
- ³ Kosmoscience Group, Clinical Research, Valinhos (SP), Brazil.

Correspondência:

Samara Eberlin
Email: samara@kosmoscience.com
Alternative email: samara.eberlin@gmail.com

Fonte de financiamento: Estudo patrocinado por Megalabs SAS, Bogotá, Colômbia.

Conflito de interesses: Nenhum.

Data de submissão: 16/12/2021

Decisão Final: 16/07/2022

Como citar este artigo:

Rojas BSM, De-la-hoz JL, Facchini G, Silva GH, Kawakami CM, Pinheiro ALTA, Eberlin S. Estudo comparativo para avaliação da eficácia cicatrizante de formulações tópicas contendo *Triticum aestivum* L. (sinônimo *Triticum vulgare*) em modelo de pele humana nativa. *Surg Cosmet Dermatol.* 2022;14:e20220118.



INTRODUÇÃO

A cicatrização tecidual é um processo dinâmico e complexo, composto de quatro fases: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação do tecido. Após a lesão tecidual, forma-se um coágulo seguido de infiltração de neutrófilos, macrófagos e células endoteliais, que promovem uma resposta inflamatória e imunológica, proporcionando a reconstrução tecidual.¹

Nesse arsenal metabólico, são produzidos citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que estimulam e ativam a proliferação e migração celular, orquestrando o processo de cicatrização.¹⁻² Dentre os fatores de crescimento, destacamos o fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator transformador do crescimento beta (TGF- β), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e fator de crescimento para insulina (IGF).³⁻⁴

EGF, TGF- β e PDGF estimulam a infiltração de fibroblastos no local da lesão. O TGF- β e o PDGF também iniciam alterações fenotípicas nessas células, convertendo os fibroblastos em miofibroblastos, que se alinham nas bordas da matriz extracelular, gerando uma força constritiva para o fechamento da ferida.⁵⁻⁶

Horas após o dano, inicia-se o processo de reepitelização e ocorre a liberação de EGF, TGF- β , FGF e fator de crescimento de queratinócitos (KGF ou FGF7), que atuam estimulando a migração e proliferação de células epiteliais. Uma vez fechada a ferida, os queratinócitos passam pelo processo de estratificação e diferenciação para restaurar a barreira.⁷⁻⁸

A formação da matriz requer a remoção do tecido de granulação. Em seguida, a estrutura é saturada com proteoglicanos e glicoproteínas. Essa etapa é seguida pela remodelação do tecido envolvendo a síntese de novo colágeno, mediada por TGF- β e clivagem do colágeno antigo por PDGF. O produto final desse processo é o tecido de cicatrização.⁷⁻⁸

O sucesso da cicatrização depende de fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas envolvidos em uma integração harmônica de sinais que coordenam os processos celulares. Nesse estudo, avaliamos os efeitos de dois produtos fitoterápicos de uso tópico, contendo extratos padronizados da espécie *Triticum aestivum* L. (sinônimo *Triticum vulgare*) no processo de reepitelização cutânea e produção de fatores de crescimento teciduais, utilizando um modelo experimental de pele humana nativa.

MÉTODOS

Os produtos fitoterápicos de uso tópico contendo extratos padronizados de *Triticum aestivum* L. (sinônimo *Triticum vulgare*) foram fornecidos por Megalabs SAS, Bogotá, Colômbia. A formulação principal apresenta como ingrediente ativo o extrato de grão inteiro de trigo *Triticum aestivum* L. (EGTA-PR; PRO-CICAR REGENERIX®). Esse extrato é obtido em condições padronizadas de tempo, iluminação e temperatura que favorecem a ativação e germinação de sementes para uma subsequente extração aquosa. Essas condições favorecem a hidrólise enzimática

do amido e a produção de oligossacarídeos com determinados pesos moleculares associados à atividade farmacológica. No intuito de comparar as especificidades de cada método de extração, avaliamos em paralelo as respostas biológicas produzidas por uma formulação fitoterápica contendo o extrato aquoso de *Triticum aestivum* L. (EATA-FI; FITOSTIMOLINE®).

A pele humana utilizada neste estudo foi proveniente de uma doadora, do sexo feminino, fototipo II, 36 anos, submetida à cirurgia plástica eletiva na região abdominal (abdominoplastia). Após a realização do procedimento cirúrgico, os fragmentos de pele foram coletados em frascos plásticos com solução salina 0,9% e mantidos sob refrigeração por até 24 horas. Este projeto não inclui o armazenamento e estoque de material biológico para seu uso futuro, portanto os fragmentos remanescentes foram devidamente descartados como lixo infeccioso. A aprovação da utilização de fragmentos de pele humana de cirurgia eletiva para este estudo foi dada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco - SP, CAAE 82685618.9.0000.5514, sob o parecer 2.493.285.

A pele humana foi fracionada em 12 fragmentos de aproximadamente 1,5cm², distribuídos em triplicata para cada um dos quatro grupos experimentais, conforme descrito na tabela 1. O grupo controle basal foi mantido como controle do experimento durante os oito dias de duração, apenas com trocas de meio de cultura a cada 48 horas. O controle positivo contemplou apenas a lesão tecidual, sem tratamento. Os grupos que receberam tratamento com EGTA-PR e EATA-FI foram submetidos a lesões teciduais com bisturi, tratados diariamente com os produtos avaliados na proporção de 25-30mg/cm², e mantidos em incubadora a 37°C na presença de 5% de CO₂ durante oito dias consecutivos.

Os fragmentos de pele, que continham lesões teciduais, foram tratados durante todos os dias de incubação. Após esse período, os fragmentos foram submetidos à análise histológica para avaliação da reepitelização epidérmica pela coloração hematoxilina & eosina (Sigma, San Luis, MO, EUA) e para realização do ensaio de imunofluorescência para EGF. Os sobrenadantes das culturas de pele também foram coletados para quantificação de KGF e TGF- β .

Para avaliação histológica, os fragmentos de pele foram incluídos em Tissue-Tek® O.C.T.™ e, em seguida, os cortes se-

Tabela 1: Grupos experimentais de estudo.

Grupo experimental	Lesão tecidual – bisturi	Tratamento com produto
Controle basal	-	-
Controle positivo – lesão tecidual	X	-
EGTA-PR	X	X
EATA-FI	X	X

riados de 12 microns foram coletados diretamente em lâminas silanizadas em criostato (Leica Biosystems, Buffalo Grove, IL, EUA). As seções foram lavadas com tampão fosfato e incubadas overnight com anti-EGF (Bioss, Woburn, MA, EUA). Posteriormente, as seções foram enxaguadas novamente e incubadas por uma hora com Alexa Flour 488-Secondary Antibody (Life Technologies, Calsbad, CA, EUA). Uma incubação adicional foi realizada com DAPI (4'-6-diamidino-2-fenilindol; marcador de DNA; Sigma) seguida por lavagens com tampão fosfato.

As lâminas foram preparadas, utilizando-se meios de montagem específicos, e analisadas ao microscópio (Olympus, Tóquio, Japão) usando o *software CellSens* padrão (© 2010 *Olympus Corporation*). A intensidade do parâmetro de fluorescência emitida pela marcação de anticorpos específicos foi avaliada. Após a obtenção das imagens, a intensidade de fluorescência foi quantificada com o auxílio do *software ImageJ* (versão 1.48; Unidades Arbitrárias - U.A.).

As quantificações de KGF e TGF- β foram realizadas no sobrenadante por meio de ensaio imunoenzimático, utilizando-se kit adquirido comercialmente (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA). A leitura da absorbância foi realizada a 450nm em um monocromador Multiskan GO (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA).

Na avaliação estatística, foi utilizado o teste ANOVA para mensurar a variação dos resultados, comparando-se os dados entre os grupos. Em seguida, foi aplicado o pós-teste de Bonferoni, que fortaleceu e tornou mais preciso o resultado apresentado na ANOVA. Foi utilizado o nível de significância de 5% (GraphPad Prism v6).

RESULTADOS

Na figura 1, apresentamos os resultados obtidos no processo de reepitelização em fragmentos de pele humana nativa

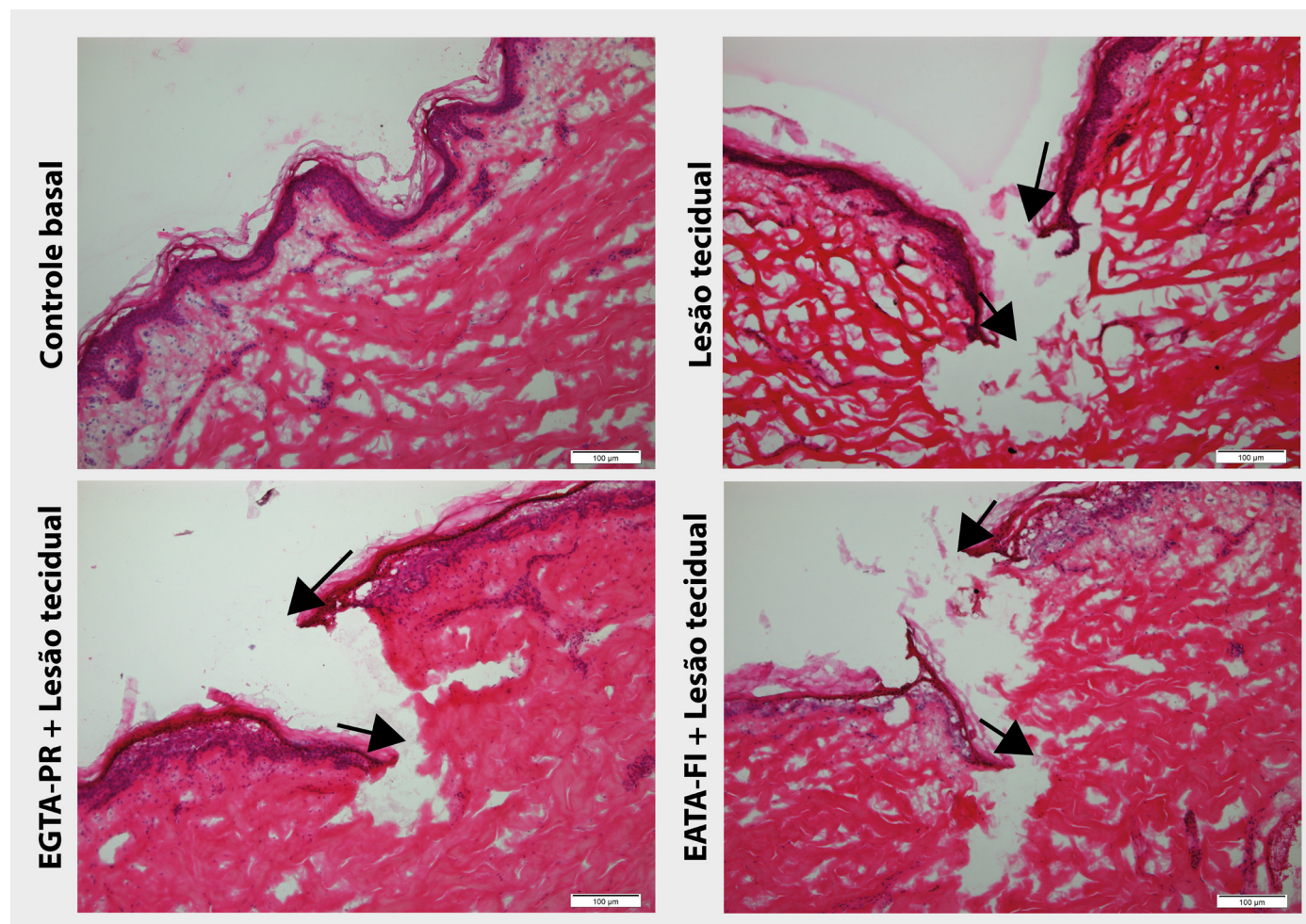


FIGURA 1: Avaliação histológica (coloração Hematoxilina & eosina) do processo de cicatrização cutânea em fragmentos de pele humana submetidos à lesão tecidual com bisturi e tratados com as formulações fitoterápicas EGTA-PR (extrato de grão inteiro de trigo *Triticum aestivum* L.) e EATA-FI (extrato aquoso de *Triticum aestivum* L.) durante oito dias consecutivos. As setas pretas representam a extensão da reepitelização. A barra de referência corresponde a 100 µm

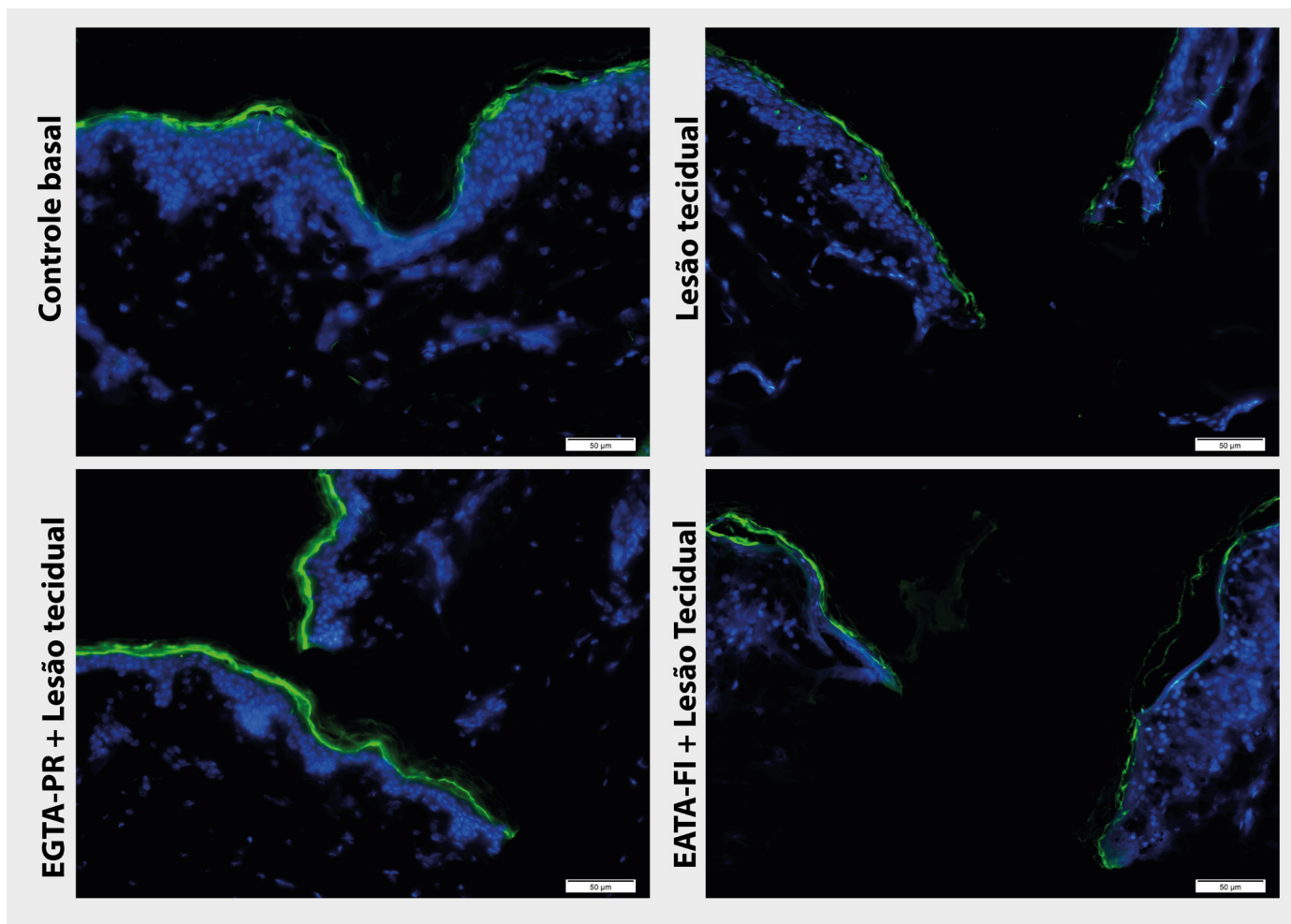


FIGURA 2: Imunomarcção fluorescente de EGF em fragmentos de pele humana submetidos à lesão tecidual com bisturi e tratados com formulações fitoterápicas EGTA-PR (extrato de grão inteiro de trigo *Triticum aestivum* L.) e EATA-FI (extrato aquoso de *Triticum aestivum* L.) durante oito dias consecutivos. A proteína EGF é marcada em verde, e a marcação azul representa o núcleo da célula (DNA-DAPI; Thermo). A barra de referência corresponde a 50 µm

submetidos à lesão tecidual e tratados com as formulações EGTA-PR e EATA-FI.

Como podemos observar, os fragmentos de pele submetidos ao corte com bisturi apresentaram uma lesão tecidual na epiderme e derme. Após oito dias de cultura, o grupo submetido somente à lesão apresentou sinal de reepitelização conforme representado pelas setas pretas na figura 1. Entretanto, os fragmentos de pele submetidos a ambos os tratamentos com EGTA-PR e EATA-FI apresentaram uma maior extensão na reepitelização quando comparados ao grupo não tratado. O tratamento com as formulações também demonstrou uma melhora da regeneração dérmica, visualizada por uma redensificação da matriz extracelular, com ênfase para o tratamento com EGTA-PR.

Nas figuras 2 e 3, apresentamos os resultados da imunomarcção e semiquantificação de EGF, respectivamente, em fragmentos de pele *ex vivo* submetidos à lesão tecidual com bisturi e

tratados com as formulações EGTA-PR e EATA-FI.

A figura 3 representa a quantificação da intensidade de fluorescência de EGF por meio de análise das imagens obtidas na figura 2. Podemos observar que os fragmentos submetidos apenas à lesão tecidual com bisturi apresentaram, após oito dias de cultura, uma redução de 57,18% na produção de EGF em relação ao controle basal ($P < 0,001$). O tratamento com a formulação EGTA-PR promoveu aumento de 98,68% ($P < 0,001$) na produção de EGF em relação ao grupo submetido somente à lesão tecidual. Por outro lado, a formulação EATA-FI não apresentou alterações significativas na produção de EGF em comparação ao grupo com lesão tecidual.

DISCUSSÃO

A integridade do tecido cutâneo desempenha um papel vital na interface com o ambiente externo. Portanto, a ocorrên-

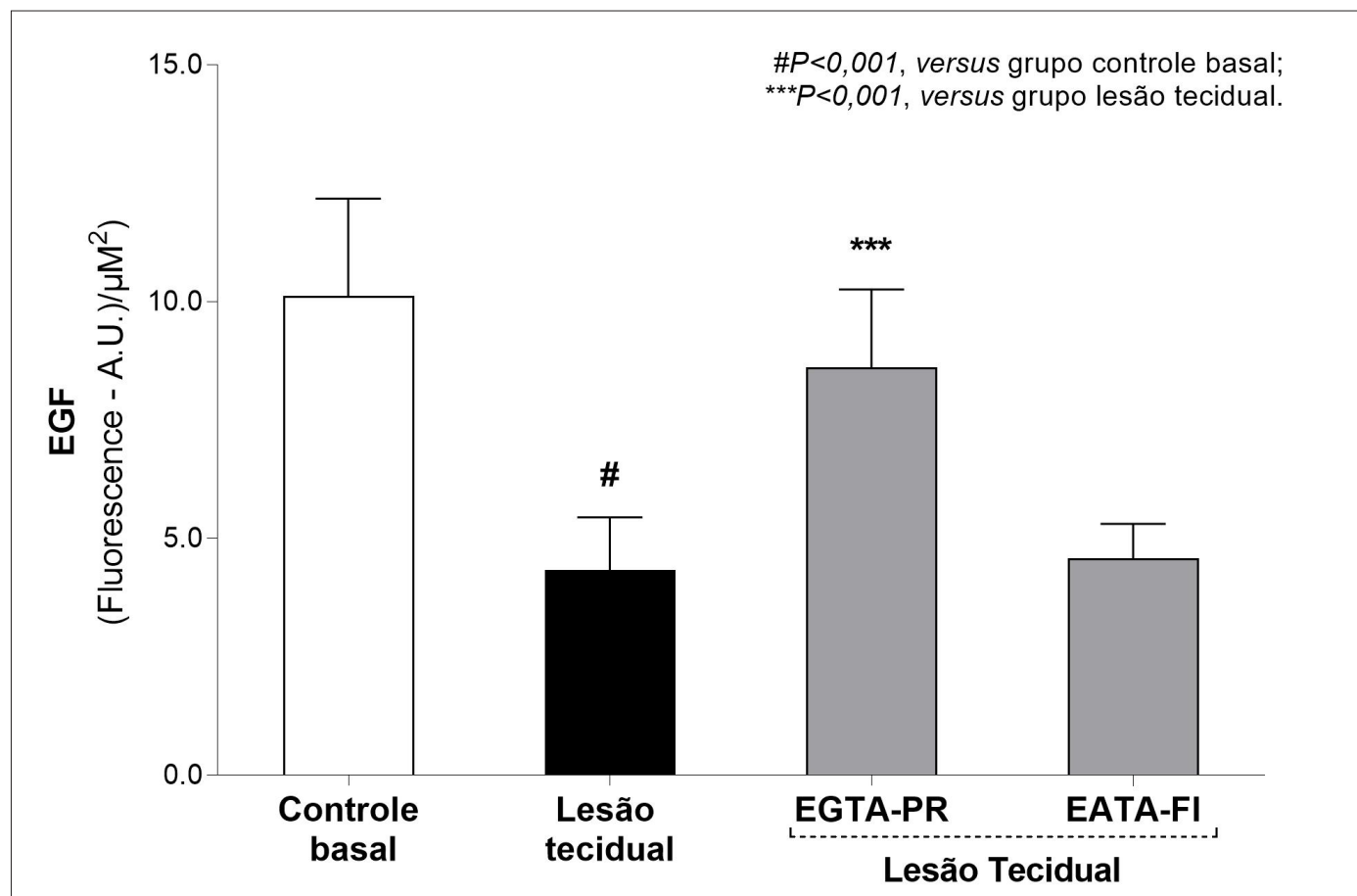


FIGURA 3: Semiquantificação da intensidade de fluorescência da síntese de EGF em fragmentos de pele humana submetidos à lesão tecidual com bisturi e tratados com as formulações fitoterápicas EGTA-PR (extrato de grão inteiro de trigo *Triticum aestivum L.*) e EATA-FI (extrato aquoso de *Triticum aestivum L.*) durante oito dias consecutivos. Os dados representam a média±desvio-padrão de seis áreas (ANOVA, Bonferroni)

cia de dano a este órgão pode resultar desde uma cicatriz inestética até a desestruturação sistêmica da saúde do ser que envolve.

Apesar de vários cuidados e tratamentos modernos da pele, nem sempre a cicatrização ocorre de forma harmônica. A recuperação do tecido após um dano é um processo complexo, dependente dos vários tipos celulares e mediadores que interagem em uma sequência temporal altamente sofisticada. É um processo dinâmico, desencadeado em resposta à lesão tecidual, que visa reparar a matriz e os danos celulares e restaurar a integridade da barreira cutânea, passando por quatro fases que se sobrepõem: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento.⁹

O processo de cicatrização começa com a fase de hemostasia, que consiste na formação de um coágulo sanguíneo que preenche a lesão, no intuito de estancar o sangramento e preservar as estruturas do tecido. Essa etapa está ligada à formação de uma matriz temporária, à secreção de citocinas e a outros fatores de crescimento que, ao interagirem com os componentes da ma-

triz extracelular (MEC), desencadeiam todo o processo de reparo. Na sequência, a fase inflamatória é iniciada por neutrófilos sob a influência de macrófagos, que limpam o local de bactérias e detritos e liberam citocinas pró-inflamatórias e mais fatores de crescimento, por sua vez, responsáveis pelo recrutamento e ativação de fibroblastos e células epiteliais.¹⁰

A fase proliferativa inicia-se, em média, no terceiro dia da lesão, sendo caracterizada pela reconstrução do tecido lesado e pelo aumento do número de células no local da ferida devido à migração e à proliferação de fibroblastos, células endoteliais e queratinócitos.¹¹ Durante essa fase, os fibroblastos, na presença dos vasos sanguíneos recém-formados, proliferam-se ativamente e sintetizam componentes da MEC que, além de seu papel estrutural, cumprem uma função de sinalização, regulando as etapas posteriores do remodelamento. Esta última fase ocorre quando a superfície da ferida é contraída, um novo epitélio se desenvolve e o tecido cicatricial final é formado.

Nesse estudo, avaliamos os efeitos de duas formulações tópicas contendo extratos padronizados de *Triticum aestivum L.* (sinônimo *Triticum vulgare*) no processo de reepitelização cutânea, utilizando um modelo experimental de cultura de pele humana.¹²⁻¹³ Os resultados mostraram que a formulação contendo o extrato de grão inteiro de trigo *Triticum aestivum L.* (EGTA-PR) e o extrato aquoso de *Triticum aestivum L.* (EATA-FI) foram capazes de acelerar o processo de reepitelização após oito dias de tratamento em cultura de pele humana submetida a lesão tecidual. Adicionalmente, foram observados aumento da redensificação dérmica e marcação proteica de EGF, particularmente após o tratamento com o EGTA-PR.

É importante salientar que os resultados obtidos com a formulação contendo o extrato de grão inteiro de *Triticum aestivum L.* (EGTA-PR) foram mais efetivos do que aqueles contendo o extrato aquoso (EATA-FI) nos parâmetros avaliados neste estudo. Esse fato se deve às particularidades dos diferentes processos de obtenção desses extratos, o que afeta a composição fitoquímica e, conseqüentemente, a especificidade farmacológica.

Esses achados são importantes para o processo de cicatrização da pele, pois indicam o início de uma fase proliferativa que precede o remodelamento e a formação de um novo tecido.¹⁴ O papel do fator de crescimento epidérmico (EGF) foi extensivamente investigado na cicatrização de feridas normais e patológicas e está implicado na migração de queratinócitos, função de fibroblastos e formação de tecido de granulação.¹⁵

A cicatrização de feridas cutâneas é estudada há décadas, e diversos extratos vegetais e ativos derivados de plantas foram desenvolvidos com o objetivo de melhorar e potencializar o processo reparador. Entre eles, o *Triticum aestivum L.* (sinônimo *Triticum vulgare*) tem sido amplamente utilizado na medicina tradicional graças às suas propriedades de aceleração do reparo tecidual.¹⁶⁻²⁰

Diversos estudos mostraram que o extrato de *T. aestivum L.* foi capaz de induzir a proliferação de fibroblastos e de células endoteliais acelerando o reparo de feridas, em parte devido à presença de malto-oligossacarídeos de peso molecular superior a 1000.²¹⁻²⁵ Essa ação foi confirmada por estudos *in vivo* em modelos animais, em que o extrato regenerou lesões cutâneas.²⁵ Além das propriedades regeneradoras do extrato, evidências adicionais indicaram sua habilidade em reduzir a resposta inflamatória e prevenir danos teciduais irreversíveis.²⁶

Tito e colaboradores também mostraram uma ação do extrato de *T. aestivum L.* no estímulo da síntese de fibronectina, componente-chave na formação e organização da matriz extra-

celular e também da enzima hialuronan sintase 2, precursora do ácido hialurônico.⁹ Esses mesmos autores atribuíram ao extrato a propriedade de restauração da barreira cutânea por meio do aumento da síntese de ceramidas.⁹

Diversos extratos e frações isoladas de *T. aestivum L.* foram avaliados e confirmaram a habilidade dessa espécie em diferentes mecanismos envolvidos no processo de regeneração tecidual. Contudo, os resultados relatados na literatura e os dados apresentados no presente estudo demonstram que o método de extração aplicado, além da base farmacotécnica, é mandatório na atividade biológica observada, dificultando estudos comparativos de performance.

Os resultados apresentados neste trabalho constituem um estudo preditivo utilizando o modelo experimental de pele humana proveniente de cirurgia plástica eletiva. Esse sistema representa, dentre os métodos alternativos, o de maior proximidade a uma condição real de uso por preservar as características da população celular nativa da pele. Apesar dos resultados promissores obtidos na melhora do processo de reparo tecidual, estudos adicionais nesse modelo, e também clínicos, são necessários para comprovar efetivamente essa ação dos extratos de *Triticum aestivum L.*

CONCLUSÃO

A rapidez e robustez no processo de reparo tecidual é essencial para formação de uma cicatriz adequada e esteticamente aceitável. Apesar de vários cuidados e tratamentos modernos, o uso de produtos à base de ervas desempenha um papel importante na cicatrização de feridas, especialmente na medicina complementar. Neste trabalho, avaliamos o efeito de dois produtos fitoterápicos de uso tópico contendo extratos padronizados de *Triticum aestivum L.* (sinônimo *Triticum vulgare*) na cicatrização de feridas, utilizando um modelo *ex vivo* de reepitelização cutânea. Os resultados permitiram inferir que o extrato de grão inteiro (EGTA-PR) apresentou um melhor desempenho na reepitelização quando comparado ao extrato aquoso (EATA-FI), pois apresentou uma síntese de EGF significativamente maior em cultura de pele humana. Da mesma forma, os resultados histológicos mostram que a redensificação dérmica obtida com o EGTA-PR foi visualmente superior à observada com o extrato aquoso. Embora estudos complementares sejam necessários, os resultados obtidos com o extrato de grão inteiro de trigo *Triticum aestivum L.* (sinônimo *Triticum vulgare*) - EGTA-PR; PROCICAR REGENERIX® - são promissores e corroboram as inúmeras ações biológicas já reportadas na literatura nas etapas da cicatrização tecidual. ●

REFERÊNCIAS:

- Martin P. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*. 1997;276(5309):75-81.
- Hom DB, Linzie BM, Huang TC. The healing effects of autologous platelet gel on acute human skin wounds. *Arch Facial Plast Surg*. 2007;9(3):174-83.
- Xie Z, Paras CB, Weng H, Punnakitikashem P, Su LC, Vu K, Tang L, Yang J, Nguyen KT. Dual growth factor releasing multi-functional nanofibers for wound healing. *Acta Biomater*. 2013;9(12):9351-9.
- Koca Kutlu A, Ceçen D, Gürgen SG, Sayin O, Cetin F. A comparison study of growth factor expression following treatment with transcutaneous electrical nerve stimulation, saline solution, povidone-iodine, and lavender oil in wounds healing. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:361832.
- Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008;16(5):585-601.
- Hantash BM, Zhao L, Knowles JA, Lorenz HP. Adult and fetal wound healing. *Front Biosci*. 2008;13:51-61.
- Raja, Sivamani K, Garcia MS, Isseroff RR. Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Front Biosci*. 2007;12:2849-68.
- Abraham J, Klagsbrun M. Modulation of wound repair by members of the fibroblast growth factor family. In: Clark RA, editor. *The molecular and cellular biology of wound repair*. 2nd ed. New York: Plenum Press; 1996. p.195-248.
- Tito A, Minale M, Riccio S, Grieco F, Colucci MG, Apone F. A Triticum vulgare extract exhibits regenerating activity during the wound healing process. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2020;13:21-30.
- Lucas T, Waisman A, Ranjan R, Roes J, Krieg T, Müller W, et al. Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. *J Immunol*. 2010;184(7):3964-77.
- Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res*. 2009;37(5):1528-42.
- Eberlin S, Facchini G, Silva GH, Eberlin S, Bragatto AR, Pinheiro ALTA, et al. Ex Vivo human skin: an alternative test system for skin irritation and corrosion assays. *Altern Lab Anim*. 2021;49(4):137-46.
- Eberlin S, Silva MSD, Facchini G, Silva GHD, Pinheiro ALTA, Eberlin S, et al. The Ex Vivo skin model as an alternative tool for the efficacy and safety evaluation of topical products. *Altern Lab Anim*. 2020;48(1):10-22.
- Lee HJ, Jang YJ. Recent understandings of biology, prophylaxis and treatment strategies for hypertrophic scars and keloids. *Int J Mol Sci*. 2018;19(3):711.
- Hardwicke J, Schmaljohann D, Boyce D, Thomas D. Epidermal growth factor therapy and wound healing--past, present and future perspectives. *Surgeon*. 2008;6(3):172-7.
- Lordani TVA, Lara CE, Ferreira FBP, Souza Terron Monich M, Mesquita da Silva C, Felicetti Lordani CR, et al. Therapeutic effects of medicinal plants on cutaneous wound healing in humans: a systematic review. *Mediators Inflamm*. 2018;2018:7354250.
- Thakur R, Jain N, Pathak R, Sandhu SS. Practices in wound healing studies of plants. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011:438056.
- Lin TK, Zhong L, Santiago JL. Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. *Int J Mol Sci*. 2017;19(1):70.
- Martini P, Mazzatenta C, Saponati G. Efficacy and tolerability of fitostimoline in two different forms (soaked gauzes and cream) and citrizan gel in the topical treatment of second-degree superficial cutaneous burns. *Dermatol Res Pract*. 2011;2011:978291.
- D'Agostino A, Pirozzi AVA, Finamore R, Grieco F, Minale M, Schiraldi C. Molecular mechanisms at the basis of pharmaceutical grade triticum vulgare extract efficacy in prompting keratinocytes healing. *molecules*. 2020;25(3):431.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES:

Brayan Styven Merchan Rojas  ORCID 0000-0003-4322-1084

Aprovação da versão final do manuscrito; concepção e planejamento do estudo; participação efetiva na orientação da pesquisa; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica do manuscrito.

Jose Luis De-la-hoz  ORCID 0000-0001-9944-8961

Concepção e planejamento do estudo; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica do manuscrito.

Gustavo Facchini  ORCID 0000-0003-0111-7596

Análise estatística; concepção e planejamento do estudo; obtenção, análise e interpretação dos dados.

Gustavo Henrique da Silva  ORCID 0000-0003-0215-2246

Concepção e planejamento do estudo; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados.

Ana Lúcia Tabarini Alves Pinheiro  ORCID 0000-0002-0226-2544

Concepção e planejamento do estudo; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados.

Samara Eberlin  ORCID 0000-0001-7001-801X

Elaboração e redação do manuscrito; revisão crítica da literatura.