



# REVISTA LATINOAMERICANA DE ENFERMERAS EN HERIDAS Y OSTOMÍAS

VOLUMEN 4 - OCTUBRE 2023 - ISSN 2452-4565



# GES FOFAR

- GES-FOFAR
- ÚLCERA DEL PIE DIABÉTICO Y VENOSA
- OSTOMÍAS Y SEXUALIDAD
- INVESTIGACIÓN
- TOMA DE CULTIVO
- TUL DE PETROLATO/SILICONA
- CASOS CLÍNICOS
- VOCES DE ENFERMERÍA

# ESTRÉS OXIDATIVO: UN FACTOR CLAVE EN LA HERIDA CRÓNICA

AUTORA

*Begoña Castro Feo*

PhD Ciencias Biológicas, Área de Investigación y Desarrollo, HistoCell Regenerative Medicines, Derio, Bizkaia, España.

Correspondencia a: bcastro@histocell.com

Las heridas crónicas constituyen un problema de salud mundial que se va agravando con el tiempo. El envejecimiento de la población y la prevalencia creciente de enfermedades como la Diabetes Mellitus (DM) aumentan el riesgo de padecer una herida compleja de difícil cicatrización. Los pacientes con importantes comorbilidades presentan un mayor nivel de metabolitos reactivos del oxígeno en sus tejidos y unas defensas antioxidantes disminuidas, lo que genera una situación patológica de estrés oxidativo (EO), que contribuye de forma importante al mantenimiento del ambiente inflamatorio. En este artículo se profundiza en las alteraciones inducidas por el EO en el proceso de cicatrización, la relación que existe entre el EO y la capacidad de la formación del biofilm en las heridas y la situación especial que presentan las personas con DM. El EO es también una barrera que debe ser considerada para el abordaje adecuado de la herida compleja de difícil cicatrización.

Palabras claves: Herida crónica, estrés oxidativo, biofilm, Diabetes Mellitus.

## ABSTRACT

Chronic wounds are a global health problem that is getting worse over time. The aging of the population and the increasing prevalence of diseases such as diabetes, enhance the risk of suffering from a hard-to-heal wound. Patients with significant comorbidities present a higher level of reactive oxygen species in their tissues and decreased antioxidant defenses, which generates a pathological situation of oxidative stress (OS), that contributes significantly to the maintenance of the inflam-



matory environment. This article presents the alterations induced by OS in the wound healing process, the relationship between OS and biofilm formation, and, finally, the special situation of diabetic patients. Here it is shown that OS is also a barrier that must be considered for an adequate therapeutic approach in complex wounds.

**Keywords:** Chronic wound, oxidative stress, biofilm, Diabetes Mellitus.

## LAS HERIDAS CRÓNICAS, UN PROBLEMA GLOBAL

Las heridas crónicas (úlceras) son un problema de salud pública global cuya incidencia aumenta cada año como una “epidemia silenciosa”. Esto es debido a una población cada vez más envejecida y con mayor presencia de enfermedades asociadas al estilo de vida, como la DM, la obesidad, la Hipertensión Arterial y las enfermedades vasculares periféricas<sup>1</sup>. Suponen un gran costo para la sociedad por la gran cantidad de dinero que requiere el tratamiento de las heridas, la pérdida de productividad del paciente y de los familiares que le cuidan y, fundamentalmente, la significativa disminución de la calidad de vida de las personas afectadas<sup>1</sup>. Se estima que la prevalencia global de las heridas crónicas se encuentra en torno al 1.5-2.2 por 1000 personas<sup>2,3,4</sup>.

Las heridas crónicas más comunes están inducidas por alteraciones metabólicas (DM), déficits vasculares (insuficiencia arterial o venosa) o impactos mecánicos (presión sobre el tejido de forma localizada y persistente)<sup>5</sup>. Son heridas que no se curan en la apropiada secuencia temporal a pesar de un adecuado abordaje terapéutico o debido a un deficiente abordaje terapéutico que las ha hecho perpetuarse en el tiempo. Frecuentemente este comportamiento no se detecta de forma temprana y se genera una herida compleja

de cada vez más difícil abordaje. Incluso con el mejor cuidado local, hay referencias que indican que alrededor del 50-60% de las úlceras no se cierran entre las semanas 20 y 24. Estas úlceras pueden no ser fáciles de identificar cuando se ven por primera vez, pero una serie de factores sugieren un mal pronóstico de curación: su tamaño (mayor de 10 cm<sup>2</sup>), la antigüedad (abierta durante 12 meses o más), la recurrencia y la presencia de una afectación venosa profunda<sup>6</sup>. Además, una o más de las siguientes anomalías estarán presentes en una herida de difícil cicatrización: isquemia, infección, presencia de tendón o hueso expuesto, sobre el que es muy difícil que se establezca tejido de granulación sano y una inflamación anormal o persistente<sup>7</sup>. El reconocimiento de una alteración en la cicatrización requiere la reevaluación de la herida, de la zona en la que se encuentra la herida, del paciente y de la estrategia terapéutica seguida hasta entonces, con el objetivo de identificar las barreras concretas tanto intrínsecas como extrínsecas, dependiendo de si son o no propios del paciente, y actuar sobre ellas<sup>8</sup>.

## LA FASE INFLAMATORIA EN LAS HERIDAS CRÓNICAS

Se considera que una herida crónica es aquella que no evoluciona significativamente tras 4 semanas de tratamiento adecuado<sup>9</sup>. En estas heridas la cicatrización se bloquea en la fase inflamatoria. Una herida estancada presenta anomalías microbianas, bioquímicas, moleculares y celulares, que pueden estar ocurriendo a pesar de presentar un lecho aparentemente adecuado. Se ha demostrado que el exudado de las heridas que no cicatrizan presenta un mayor contenido en citoquinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), Interleukinas (IL) tipo IL-1, IL-6 y IL-8), radicales libres o metabolitos

reactivos del oxígeno y proteasas (metaloproteasas de matriz (MMPs) y elastasas de neutrófilos)<sup>10,11</sup>; por este motivo, el exudado de este tipo de heridas parece tener un efecto más corrosivo y puede causar una mayor irritación y reacciones alérgicas en la piel perilesional<sup>12</sup>.

La fase inflamatoria en las heridas que cicatrizan de forma adecuada tiene una duración de unos 5 días. Esta fase inicia el proceso de cicatrización con una actuación de las células del sistema inmunitario. Primeramente los neutrófilos, los leucocitos más abundantes en la sangre, se movilizan de forma rápida a través del sistema vascular y atraviesan las paredes de los vasos sanguíneos para migrar a la zona de la herida. Su primera misión es descontaminar la herida de microorganismos (fundamentalmente bacterias y hongos) que acuden a la zona abierta. Para ello, se activan y ponen en marcha un mecanismo de explosión respiratoria (“respiratory burst”). Es un importante mecanismo de defensa de la inmunidad innata, mediante el cual la enzima NADPH oxidasa, presente en la membrana de los neutrófilos, aumenta súbitamente su actividad e incrementa el consumo de oxígeno para producir metabolitos reactivos del oxígeno (MROs) de forma rápida e independiente de la mitocondria, los cuales dañan de forma directa a microorganismos potencialmente patógenos<sup>13</sup>. Finalmente, mediante su capacidad fagocítica, los neutrófilos participan en la eliminación de estos microorganismos, así como de restos de tejido dañado, ayudando en el desbridamiento de la herida y liberan mediadores solubles que reclutan a otras células del sistema inmunitario. Transcurridos 3 días su nivel decrece de forma significativa por apoptosis celular. A medida que el nivel de neutrófilos disminuye, el reclutamiento del sistema fagocítico mononuclear aumenta. En la piel, los macrófagos que acuden a la heri-

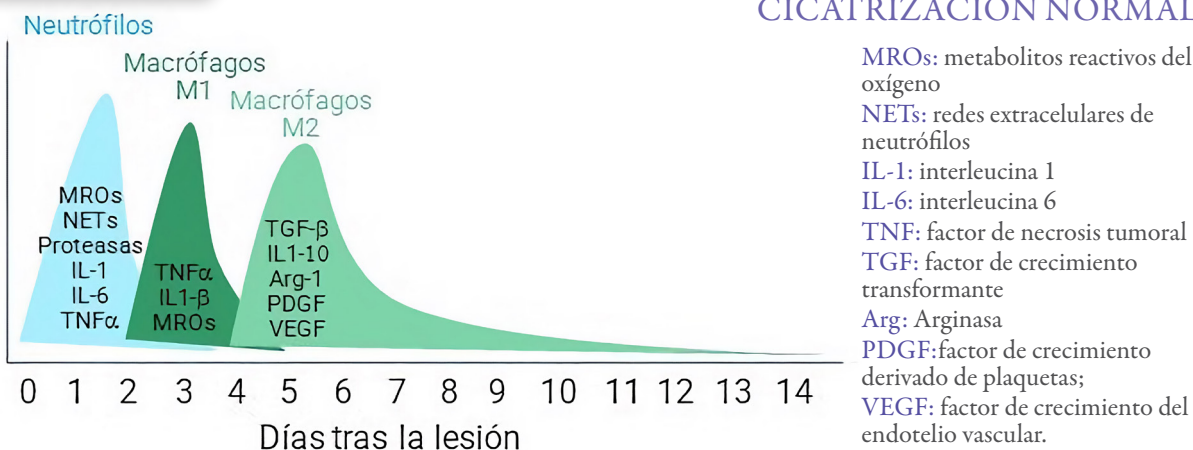
da son derivados preferentemente de monocitos circulantes que se van diferenciando en ruta, más que macrófagos residentes en el tejido. En un primer momento los monocitos se diferencian a macrófagos M1 proinflamatorios, los cuales eliminan los neutrófilos apoptóticos, secretan factores de crecimiento, citokinas inflamatorias y otros mediadores de señalización y estimulan la proliferación, diferenciación y migración de fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales, para promover la formación de nueva matriz extracelular (MEC), la reepitelización y la formación de nuevos vasos, respectivamente. A medida que la fase inflamatoria va evolucionando, entran en acción los macrófagos M2 de carácter antiinflamatorio y que promueven la reparación del tejido. Estos macrófagos M2 provienen de la diferenciación directa de los monocitos circulantes y también de la transdiferenciación de los macrófagos M1. La transición de macrófagos M1 proinflamatorios a M2 reparadores es clave para superar la fase inflamatoria, Figura 1. La presencia de los M2 permite la evolución de la fase proliferativa, el establecimiento de un nuevo tejido de granulación, con el suficiente aporte vascular, y la formación y el mantenimiento de la MEC, que irá evolucionando a lo largo del proceso de cicatrización hasta el establecimiento de la definitiva al final de la fase de remodelado (1-2 años)<sup>14,15,16</sup>.

En las heridas crónicas, el ambiente inflamatorio y muchas veces hipóxico, produce niveles excesivos de metabolitos reactivos del oxígeno (MROs) que generan una situación de estrés oxidativo (EO), es decir, un desbalance entre los compuestos oxidantes (MROs) y los antioxidantes presentes en los tejidos, a favor de los oxidantes<sup>17,18</sup>. El término EO implica que se está produciendo un daño sobre el tejido. Existen evidencias sobre la presencia de EO en las heri-

1

FIGURA

## RECLUTAMIENTO DE CÉLULAS INFLAMATORIAS EN LA CICATRIZACIÓN NORMAL



Reclutamiento de células inflamatorias en la cicatrización normal. Los neutrófilos son las primeras células que acuden a la zona de la herida y su nivel decrece de forma significativa a los 3 días, dando paso a los macrófagos M1 inflamatorios, que ayudan a la eliminación de restos de tejido y neutrófilos apoptóticos. En último término, la transición de M1 a macrófagos M2 reparadores, permite la resolución de la fase inflamatoria y la evolución de la fase proliferativa. Se indican las moléculas principales secretadas por las células, que participan en la defensa y regulación del proceso de cicatrización.

das crónicas. Se ha demostrado que la liberación del anión superóxido (uno de los MROs más reactivos) por parte de los neutrófilos presentes en las heridas crónicas es un 170% superior con respecto a los neutrófilos de las heridas agudas. Por otro lado, el índice alantoína/ácido úrico, un marcador de EO (la alantoína en presencia de MROs se convierte en ácido úrico), es 5 veces superior en la herida crónica. Además, en biopsias obtenidas en heridas venosas crónicas se evidencian depósitos de hierro (mediante el marcaje azul Prusia), que están implicados en la reacción de Fenton, en la que se produce radical hidroxilo (OH $\cdot$ ), uno de los que más daños produce en los tejidos<sup>19,20</sup>.

Los MROs son metabolitos del oxígeno con una alta capacidad oxidante, que a niveles bajos-moderados tienen un importante papel en la señalización celular y en la defensa frente a microorganismos. A nivel endógeno, se generan principalmente a través de las reacciones de óxido-reducción de la cadena de electrones mi-

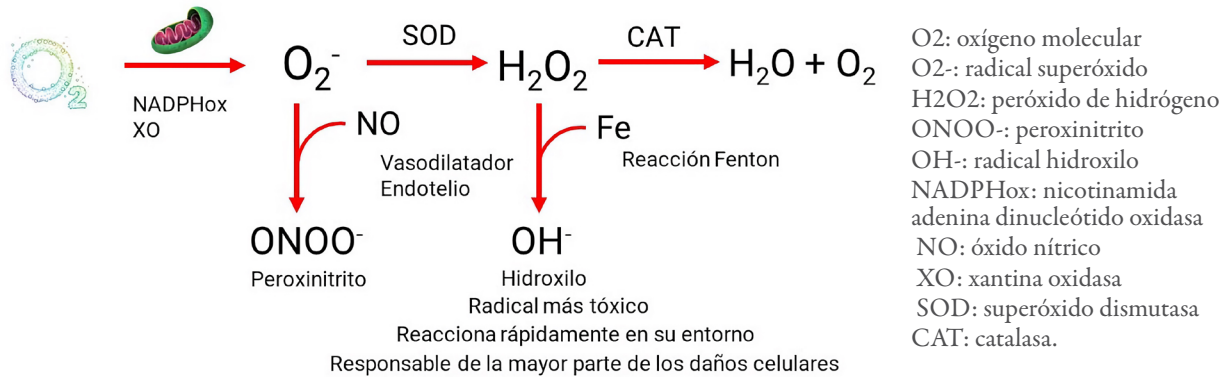
tocondrial, para la generación de ATP (energía), es decir, debido al propio metabolismo celular. Otras fuentes de MROs son los peroxisomas (orgánulos intracitoplasmáticos ricos en oxidasas) y las enzimas Xantina Oxidasa (en diferentes localizaciones, incluido el endotelio) y NADPH oxidasa (en la membrana de los neutrófilos), que se activa de forma rápida para generar MROs como mecanismo de defensa<sup>21,22,23</sup>, Figura 2.

En los individuos sanos, una vez realizada su función, la defensa antioxidante fisiológica mantiene los niveles adecuados de MROs, evitando la situación de EO y el daño a los tejidos<sup>24</sup>. Sin embargo, existen determinadas comorbilidades, como es el caso de la DM, la obesidad, el envejecimiento o los desórdenes vasculares, que inducen la formación de MROs y disminuyen la disponibilidad de antioxidantes endógenos. En estas situaciones existe una alta probabilidad de que en caso de producirse un daño en un tejido (herida), el proceso de curación sea complejo y no se produzca una regulación adecuada del proceso de cicatrización<sup>25</sup>.

2

FIGURA

## RECLUTAMIENTO INMEDIATO DE CÉLULAS INFLAMATORIAS



La alteración del balance oxidativo contribuye de forma esencial en la persistencia del ambiente inflamatorio, lo que inicia un “círculo vicioso” inflamatorio del que el tejido no es capaz de liberarse y que genera una situación crónica. En este contexto, cuando se produce una herida, se realiza un reclutamiento de células inflamatorias que aumentan de forma significativa la presencia de MROs. Si las defensas antioxidantes no realizan un control eficaz del nivel de estas moléculas, su exceso da lugar a daños en las moléculas que forman parte de la ECM (matriz extracelular), en estructuras celulares esenciales, que disminuyen la capacidad de generación de energía e inducen la senescencia de las células del entorno. Estos procesos incrementan la formación de proteasas y de mediadores inflamatorios, produciendo el reclutamiento continuo de células inflamatorias en la herida. De forma paralela, estas células del sistema inmune, en este ambiente desregulado, presentan una disminución de su eficacia en cuanto a la defensa frente a microorganismos, produciéndose una alta probabilidad de infección y formación de biofilm en la herida, lo que, a su vez, contribuirá también al reclutamiento continuo de células inflamatorias<sup>26</sup>, Figura 3.

Por lo tanto, una situación de estrés oxidativo da lugar a las siguientes consecuencias en la herida crónica:

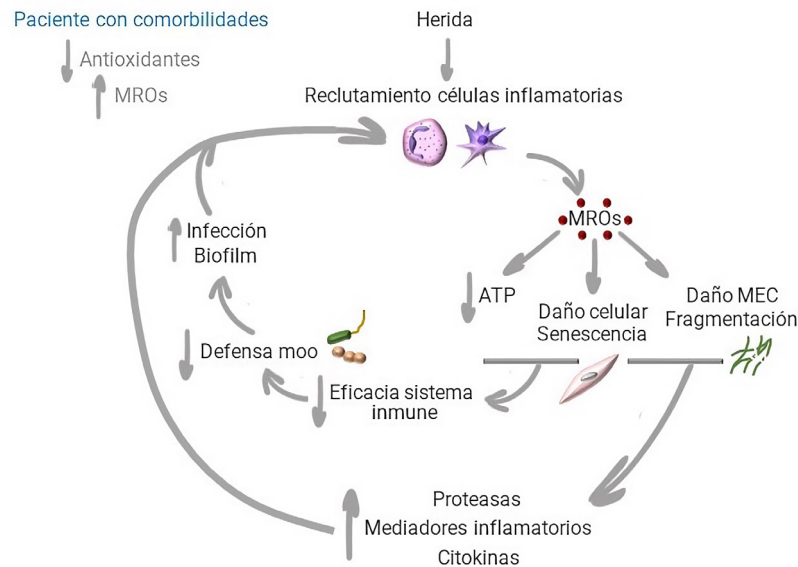
- Aumento de los mediadores inflamatorios (citoquinas inflamatorias).
- Disminución de la capacidad de polarización de los macrófagos M1 inflamatorios a M2 reparadores, manteniéndose unos niveles anormalmente altos de M1.
- Disminución de la biodisponibilidad de factores de crecimiento.
- Fragmentación de la ECM y disminución de su capacidad de establecimiento.
- Inducción de la formación de metil-metaloproteasas (MMPs) y disminución de sus inhibidores (TIMPs).
- Inducción de la senescencia en fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales, por una parada del ciclo celular, relacionado con los daños que producen los MROs en el ADN. Las células no son capaces de migrar y no responden a las señales adecuadas del entorno.



3

FIGURA

### RECLUTAMIENTO DE CÉLULAS INFLAMATORIAS EN LA CICATRIZACIÓN NORMAL



MROs: metabolitos reactivos del oxígeno

ATP: adenosina trifosfato

MEC: matriz extracelular

Moo: microorganismos.

Cuando se produce una herida se da un reclutamiento inmediato de células inflamatorias a la zona, que secretan MROs como mecanismo de defensa y señalización celular. Una vez estos MROs han realizado su función, las defensas antioxidantes los retornan a sus niveles basales. Sin embargo, en los pacientes con comorbilidades importantes, esta regulación no es efectiva, lo que da lugar a niveles altos sostenidos de MROs en el tejido. Se producen daños sobre las células del entorno de la herida (células inmunes, fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos), fragmentación de la MEC y disminución de la capacidad de generación de energía (ATP). Esto, por un lado, induce la formación de proteasas y mediadores inflamatorios y, por otro, disminuye la eficacia del sistema inmune, aumentando el riesgo de infección y formación de biofilm. Estos dos procesos promueven el reclutamiento constante de células inflamatorias, cerrando un "ciclo vicioso" inflamatorio que dificulta significativamente el proceso de cicatrización.

- Mayor predisposición a la infección, puesto que los neutrófilos y macrófagos reducen su capacidad fagocítica y bactericida.
- Alteración vascular, disminución de óxido nítrico, potente vasodilatador y neurotransmisor, por lo que se reducirá el aporte de oxígeno en la herida.

Diversas estrategias terapéuticas están enfocadas a mejorar estos aspectos que presentan las heridas crónicas, ayudando a romper el círculo inflamatorio y activar el proceso de cicatrización, como son la aplicación de antioxidantes para un eficaz control del estrés oxidativo, el aporte de oxígeno ectópico, la aplicación de factores de crecimiento o los productos reguladores de las MMPs para mantener una adecuada fase proliferativa y promover la repitelización.

### EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA MICROBIOTA DE LA PIEL

Existe cada vez más evidencia de la interrelación entre el estrés oxidativo y la presencia de biofilm para la formación de una herida crónica. De hecho, está establecido que un porcentaje alto de éstas están afectadas por un biofilm persistente.

Como ya se ha indicado, las úlceras se caracterizan por tener altos niveles de estrés oxidativo. De hecho, se ha demostrado que el EO es necesario para el inicio de una herida crónica y que a medida que aumentan los niveles de MROs, también aumenta la severidad de las úlceras. Además, el EO y las bacterias presentes en el microbioma de la herida interaccionan para mantener la situación crónica. Estudios basados en modelos de heridas en ratones diabéticos han demostra-

do que niveles basales o bajos de EO no alteran el proceso de cicatrización y niveles moderados producen un retardo en la cicatrización, pero se observa evolución del proceso. Sin embargo, niveles altos de EO mantienen un daño significativo en el tejido, las heridas se colonizan por bacterias y además se forma un biofilm agresivo. Ambos procesos en conjunto mantienen el estado crónico<sup>27</sup>.

La relación entre el EO y el biofilm parece que es el resultado de la coevolución del biofilm y el oxígeno en la Tierra. Las bacterias pueden haber integrado a los MROs como un mecanismo de señalización dinámico de sus rutas celulares, incluidas las que regulan la formación del biofilm. A través de estas vías los MROs intervienen en la fisiología bacteriana del biofilm. Las bacterias no solo son capaces de hacer frente al EO, sino que lo aprovechan en su beneficio para realizar modificaciones que les ayudan a adaptarse a los cambios del medio donde se encuentran y a hacer frente a estrategias antimicrobianas. El EO está implicado en la regulación de los genes relacionados con el incremento de la capacidad de agregación y adhesión bacteriana, la expresión del sistema quorum sensing, la producción de Fenacinas y la regulación de la liberación de eDNA(ADN extracelular) en bacterias como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* o *Campylobacter jejuni*, frecuentemente aisladas en heridas, y todo esto, incrementa su capacidad de formación de biofilm.

Por estos motivos, el control del EO contribuirá a eliminar el biofilm y mantener un nivel de microbiota en la herida que, al menos, permita que el proceso de cicatrización evolucione<sup>28</sup>.

## ESTRÉS OXIDATIVO EN EL PACIENTE CON DIABETES MELLITUS

El paciente con DM merece aquí un apartado especial. Se encuentra expuesto a una situación de hiperglucemia que desencadena la aparición y progresión de alteraciones bioquímicas que finalmente conducen a complicaciones sistémicas. En hiperglucemia hay un exceso de glucosa disponible en los tejidos. A pesar de que la mitocondria (el orgánulo encargado de transformar la glucosa en energía) aumenta su actividad, no puede metabolizar toda esta glucosa, entrando en funcionamiento otras vías metabólicas que normalmente funcionan a bajo nivel y que se encuentran muy reguladas.

El daño en los tejidos asociado a la hiperglucemia se produce principalmente por los siguientes 5 mecanismos: la vía de los polioles, la formación de productos de la glicación avanzada (AGEs), el aumento de sus receptores (RAGEs), la activación de la proteína quinasa C (PKC) y la vía de las hexosaminas. Estos 5 mecanismos están activados por un mismo elemento, la superproducción de MROs mitocondrial. El funcionamiento anormalmente alto de estas vías produce moléculas que contribuyen a la situación glucotóxica. Especial mención requieren los AGEs, que se producen por la glicosilación, es decir, la unión de compuestos derivados de la glucosa, y de la oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, alterando su función. Los AGEs se unen a sus receptores (RAGEs), presentes en la membrana de las células, iniciando una cascada de señalización celular que produce un aumento de MROs. Estos MROs activan el factor nuclear kB (NF-kB), que induce la formación de citoquinas inflamatorias, así como múltiples cambios patológicos<sup>29,30,31</sup>.



Como consecuencia de la actividad de estos 5 mecanismos se genera un incremento del EO, el agravamiento del ambiente inflamatorio, la alteración de funciones proteicas y daños en el endotelio. Esto produce una afectación neuropática que limita la movilidad de las articulaciones, dando lugar a deformidades en el pie y una pérdida de sensaciones, con un incremento de riesgo por cizalla, presión y traumatismo. A esto se une una angiopatía, que produce una disminución en la capacidad de sudoración y además una disfunción vascular, una aceleración de la arterioesclerosis y un aumento de las posibilidades de oclusión arterial periférica, lo que finalmente genera una perfusión pobre del tejido y una piel seca. Todo ello incrementa de forma significativa el riesgo de sufrir una úlcera en el pie y una infección en dicha úlcera<sup>32</sup>.

El control redox es clave en el paciente con DM, puesto que la progresión hacia las diferentes fases está altamente coordinada por diversos mecanismos en los que los MROs tienen un papel clave en su regulación. Sin embargo, en los pacientes diabéticos, expuestos a tantas alteracio-

nes, la cicatrización se convierte en un proceso descoordinado que se caracteriza por una fase inflamatoria extendida, una fase proliferativa limitada y una fase de remodelación irregular. Por este motivo, las terapias dirigidas al control del EO pueden aportar las defensas antioxidantes que el paciente con DM necesita de forma especial, para evitar la formación de una herida crónica o bien, activar el proceso de cicatrización.

## CONCLUSIÓN

El estrés oxidativo es un factor que debe tenerse en cuenta como una barrera más a considerar para el manejo adecuado de la herida. El control del exceso de MROs en el ambiente de la herida contribuye a rescatar al tejido de la situación inflamatoria persistente, lo que produce la activación de la herida y la evolución del proceso de cicatrización.

**Declaración de conflicto de interés:** La autora Begoña Castro es la Directora Científica de la empresa Histocell Regenerative Medicine; ella ha desarrollado la línea Reoxcare para el control del estrés oxidativo en las heridas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gupta S, Sagar S, Maheshwari G, Kisaka T, Tripathi S. Chronic wounds: magnitude, socioeconomic burden and consequences. *Wounds Asia*. 2021; 4(1): 8-14.
2. Zhu, X, Olsson, MM, Bajpai, R, Järbrink, K, Tang, WE, Car, J. Health-related quality of life and chronic wound characteristics among patients with chronic wounds treated in primary care: A cross-sectional study in Singapore. *Int Wound J*. 2022; 19(5): 1121- 1132. doi:10.1111/iwj.13708.
3. Cogo A, Quint BJ, Bignozzi CA. Restarting the Healing Process of Chronic Wounds Using a Novel Desiccant: A Prospective Case Series. *Wounds*. 2021 Jan;33(1):1-8. PMID: 33476282.
4. Martinengo L, Olsson M, Bajpai R, Soljak M, Upton Z, Schmidtchen A et al. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Annals of Epidemiology*. 2019; 29:8-15. doi: 10.1016/j.annepidem.2018.10.005
5. Sen CK. Human Wound and Its Burden: Updated 2020 Compendium of Estimates. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2021 May;10(5):281-292. doi: 10.1089/wound.2021.0026.
6. Margolis DJ, Allen-Taylor L, Hoffstad O, Berlin JA. The accuracy of venous leg ulcer prognostic models in a wound care system. *Wound Repair Regen*. 2004 Mar-Apr;12(2):163-8. doi: 10.1111/j.1067-1927.2004.012207.x.
7. Vowden P. Hard-to-heal wounds Made Easy. *Wounds International* 2011; 2(4): Available from <http://www.woundsinternational.com>
8. Bishop, A. (2021). Wound assessment and dressing selection: an overview. *British Journal of Nursing*, 30(5), S12–S20. doi:10.12968/bjon.2021.30.5.s12

9. Coerper S, Beckert S, Küper MA, Jekov M, Königsrainer A. Fifty percent area reduction after 4 weeks of treatment is a reliable indicator for healing--analysis of a single-center cohort of 704 diabetic patients. *J Diabetes Complications*. 2009 Jan-Feb;23(1):49-53. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2008.02.001.
10. World Union of Wound Healing Societies (WUWHS) Consensus Document. Wound exudate: effective assessment and management Wounds International, 2019
11. Cullen B, Gefen A. The biological and physiological impact of the performance of wound dressings. *Int Wound J*. 2022 Sep 15. doi: 10.1111/iwj.13960. Epub ahead of print. PMID: 36110054.
12. Una Adderley. Wound exudate: what it is and how to manage it. *Wound Essentials* 2008, Volume 3: 8-13.
13. El-Benna J, Hurtado-Nedelec M, Marzaioli V, Marie JC, Gougerot-Pocidal MA, Dang PM. Priming of the neutrophil respiratory burst: role in host defense and inflammation. *Immunol Rev*. 2016 Sep; 273(1):180-93. doi: 10.1111/imr.12447.
14. Bouchery T, Harris N. Neutrophil-macrophage cooperation and its impact on tissue repair. *Immunol Cell Biol*. 2019 Mar;97(3):289-298. doi: 10.1111/imcb.12241.
15. Kim SY, Nair MG. Macrophages in wound healing: activation and plasticity. *Immunol Cell Biol*. 2019 Mar;97(3):258-267. doi: 10.1111/imcb.12236.
16. Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *Int J Mol Sci*. 2017 Jul 17;18(7):1545. doi: 10.3390/ijms18071545.
17. Tafani M, Sansone L, Limana F, Arcangeli T, De Santis E, Polese M, Fini M, Russo MA. The Interplay of Reactive Oxygen Species, Hypoxia, Inflammation, and Sirtuins in Cancer Initiation and Progression. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3907147. doi: 10.1155/2016/3907147.
18. Hernansanz-Agustín P, Enríquez JA. Generation of Reactive Oxygen Species by Mitochondria. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Mar 9;10(3):415. doi: 10.3390/antiox10030415.
19. James TJ, Hughes MA, Cherry GW, Taylor RP. Evidence of oxidative stress in chronic venous ulcers. *Wound Repair Regen*. 2003 May-Jun;11(3):172-6. doi: 10.1046/j.1524-475x.2003.11304.x.
20. Wlaschek M, Scharffetter-Kochanek K. Oxidative stress in chronic venous leg ulcers. *Wound Repair Regen*. 2005 Sep-Oct;13(5):452-61. doi: 10.1111/j.1067-1927.2005.00065.x.
21. Kaushal GP, Chandrashekar K, Juncos LA. Molecular Interactions Between Reactive Oxygen Species and Autophagy in Kidney Disease. *Int J Mol Sci*. 2019 Aug 3;20(15):3791. doi: 10.3390/ijms20153791.
22. Sandalio LM, Rodríguez-Serrano M, Romero-Puertas MC, del Río LA. Role of peroxisomes as a source of reactive oxygen species (ROS) signaling molecules. *Subcell Biochem*. 2013;69:231-55. doi: 10.1007/978-94-007-6889-5\_13..
23. Čapek J, Roušar T. Detection of Oxidative Stress Induced by Nanomaterials in Cells-The Roles of Reactive Oxygen Species and Glutathione. *Molecules*. 2021 Aug 4;26(16):4710. doi: 10.3390/molecules26164710.
24. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int*. 2014;2014:761264. doi: 10.1155/2014/761264.
25. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018 Apr 26;13:757-772. doi: 10.2147/CIA.S158513.
26. Cano Sanchez M, Lancel S, Boulanger E, Neviere R. Targeting Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in the Treatment of Impaired Wound Healing: A Systematic Review. *Antioxidants (Basel)*. 2018 Jul 24;7(8):98. doi: 10.3390/antiox7080098.
27. Nouvong A, Ambrus AM, Zhang ER, Hultman L, Collier HA. Reactive oxygen species and bacterial biofilms in diabetic wound healing. *Physiol Genomics*. 2016 Dec 1;48(12):889-896. doi: 10.1152/physiolgenomics.00066.2016.
28. Kim JH, Yang B, Tedesco A, Lebig EGD, Ruegger PM, Xu K, Borneman J, Martins-Green M. High Levels of Oxidative Stress and Skin Microbiome are Critical for Initiation and Development of Chronic Wounds in Diabetic Mice. *Sci Rep*. 2019 Dec 17;9(1):19318. doi: 10.1038/s41598-019-55644-3.
29. Deng L, Du C, Song P, Chen T, Rui S, Armstrong DG, Deng W. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Feb 4;2021:8852759. doi: 10.1155/2021/8852759.
30. Alavi A, Sibbald RG, Mayer D, Goodman L, Botros M, Armstrong DG, Woo K, Boeni T, Ayello EA, Kirsner RS. Diabetic foot ulcers: Part I. Pathophysiology and prevention. *J Am Acad Dermatol*. 2014 Jan;70(1):1.e1-18; quiz 19-20. doi: 10.1016/j.jaad.2013.06.055.
31. Sifuentes-Franco S, Pacheco-Moisés FP, Rodríguez-Carrizalez AD, Miranda-Díaz AG. The Role of Oxidative Stress, Mitochondrial Function, and Autophagy in Diabetic Polyneuropathy. *J Diabetes Res*. 2017;2017:1673081. doi: 10.1155/2017/1673081.
32. Kunkemoeller B, Kyriakides TR. Redox Signaling in Diabetic Wound Healing Regulates Extracellular Matrix Deposition. *Antioxid Redox Signal*. 2017 Oct 20;27(12):823-838. doi: 10.1089/ars.2017.7263.