AVALIAÇÃO DE ÁREA DE RETRAÇÃO DE FERIDAS DE RATOS DIABÉTICOS TRATADOS TOPICAMENTE COM NANOPARTÍCULAS DE ZINCO

Vitória Geovanna Alves Pedroso (BIC/Fundação Araucária), Leandro Cavalcante Lipinski, e-mail: leandrolipinski@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Medicina.

Área: Cirurgia/ Subárea: Cirurgia Experimental.

Palavras-chave: nanopartículas, cicatrização e zinco.

Resumo

A cicatrização de feridas se inicia a partir da perda da integridade de um tecido, gerando uma solução de continuidade que atinge os planos implícitos em diversos graus. Para a reparação tecidual, é possível o emprego de sistemas a fim de promover a liberação de fármacos em sítios específicos de ação (utilizando vetores), através da nanotecnologia farmacêutica. Foram utilizados 60 ratos Wistar (fêmeas) distribuídos em 3 grupos (n=20): grupo controle (não tratado), grupo 1 tratado com óxido de zinco convencional e grupo 2 tratado com ZnO nanoencapsulado. A área de retração da lesão foi realizada através da avaliação das fotos tiradas no dia da lesão, 7° dia, 14° dia e 21°dia. Através desta pesquisa, foi possível concluir que o grupo tratado com zinco nanoencapsulado apresentou melhores resultados na cicatrização nos dias pós-lesão em comparação com o grupo tratados com zinco convencional.

Introdução

A pele é o maior órgão do corpo humano, exercendo sua função como barreira entre o meio externo e interno. Frente a uma lesão, a cicatrização de feridas é um complexo evento fisiológico destinado a restaurar a função de barreira da pele e a homeostase, além de reduzir o risco de infecção e outras complicações (GAINZA et al., 2015)

A cicatrização é o processo pelo qual um tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado, quer a lesão tenha sido traumática ou necrótica (PANOBIANCO et al., 2012).

Atualmente, existe um grande arsenal de produtos cicatrizantes para tratamento de feridas, estes vêm sofrendo avanços científicos e tecnológicos ao longo dos anos, de formas variadas. Para amenizar os custos e o tempo prolongado de tratamento. A nanotecnologia é um dos maiores progressos da ciência, pois ela possibilita, por exemplo, alcançar um resultado excelente de eficiência com menos recursos que podem ter proporções moleculares e atômicas. Com isso, o projeto teve como objetivo avaliar a retração da lesão de animais diabéticos tratados com óxido de zinco convencional e nanoestruturado.

Materiais e Métodos

Trata-se de um estudo experimental prospectivo controlado em modelo animal. Os procedimentos com animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) de acordo com o protocolo 12393/2017. Todos os experimentos envolvendo manipulação do modelo

foram realizados no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UEPG.

Avaliação da área de retração

Experimento in vivo

Foram utilizados 60 ratos Wistar (fêmeas) com peso entre 200 e 250g. Todos os animais foram diabetizados com duas aplicações de estreptozootocina intraperitoneal (50mg/kg) em dois dias consecutivos.

Os ratos foram distribuídos em 3 grupos (n=20): a) grupo controle (não tratado), b) grupo 1 tratado com óxido de zinco convencional e c) grupo 2 tratado com óxido de zinco nanoencapsulado.

Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (40mg/kg) e cloridrato de xilazina (5mg/kg) por via intraperitoneal e era produzida uma lesão na pele da região cervico-lombar, medindo 2 cm², em cada animal. Após a produção das lesões, receberam citrato de fentanila (2mg/kg), para minimizar o desconforto pós-operatório. Após o efeito da anestesia, receberam água e ração comercial ad libitum. Todos permaneceram em caixas individuais, com temperatura, luminosidade e umidade controlada. Os grupos tratados receberam diariamente solução tópica de zinco (grupo 1) e solução tópica de zinco nanoencapsulado (grupo 2) 2h após a produção das feridas.

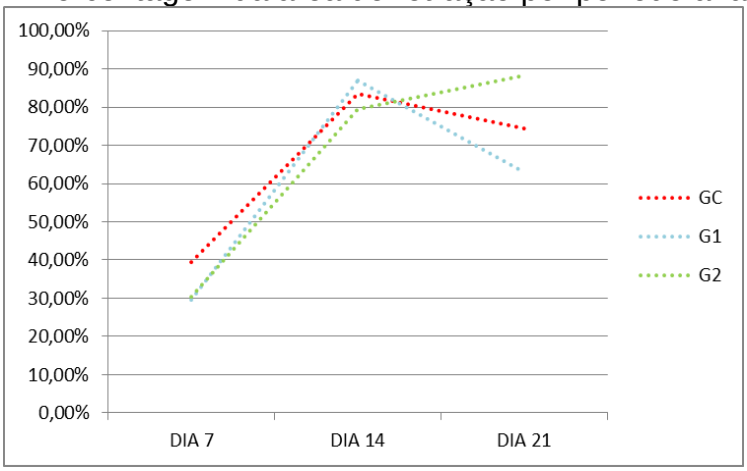
A mensuração da área de cada ferida foi realizada nos dias 0, 7, 14 e 21 através de fotos utilizando suporte padronizado e a área das lesões foi determinada pela digitalização das imagens obtidas com os desenhos e avaliadas utilizando o programa Image J.

Resultados e Discussão

Durante o desenvolvimento do estudo, das 60 ratas diabetizadas com estreptozotocina apenas uma não atingiu aumento de 40% em relação à glicemia capilar inicial, sendo excluída da amostra. Apesar disso, o número amostral não foi comprometido em nenhum dos grupos. A medição da glicemia foi realizada nos grupos com diabetes usando glicosímetro portátil nos dias 7, 14 e 21 e a média das aferições foram 361,4mg/dL, 272,8mg/dL e 422mg/dL, respectivamente.

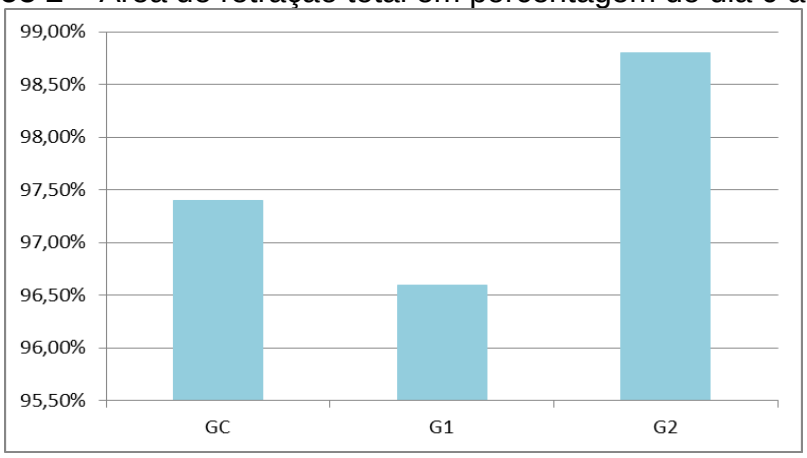
Todos os grupos apresentaram retração visível na área da ferida. O gráfico 1 demonstra em porcentagem o quanto as lesões dos grupos regrediram em cada período. Nota-se que o pico de retração ocorre entre os dias 7 e 14.

Gráfico 1 – Porcentagem da área de retração por período analisado.



Diante avaliação a reepitelização total entre o dia 0 e 21º mostrou que todos os grupos apresentaram retração da ferida acima de 92%. Como mostra o gráfico abaixo (Gráfico 2).

Gráfico 2 – Área de retração total em porcentagem do dia 0 ao dia 21.



A estreptozotocina é captada pelos transportadores de glicose GLUT-2 das células pancreáticas, causando alterações no DNA com consequente inibição da síntese e secreção da insulina (SILVA et al., 2011). Nesta pesquisa, foi utilizada com o objetivo de induzir um quadro diabético crônico reproduzindo as alterações que levam ao processo de lentificação da cicatrização como redução na migração de leucócitos, quimiotaxia e fagocitose, causando um retardo acentuado na fase inflamatória, na deposição de MEC e na formação do tecido de granulação.

Uma das funções do zinco na restituição da integridade cutânea é agir na regulação da resposta imune inata e adaptativa, através do recrutamento de leucócitos durante a fase de inflamação guiando a reepitelização e deposição de fibroblastos, MEC, assim como na angiogênese e deposição do tecido de granulação. Era esperado um comportamento significativo da intensidade da congestão no dia 7 pós-lesão em G1, no entanto, houve um achado atípico onde esse mesmo parâmetro se encontra reduzido (não significativamente) em relação ao GC. Além disso, o grupo G2 tratado com nanopartículas também apresentou comportamento atípico quando comparação à G1 pois a intensidade de congestão do grupo G2 foi maior.

Isso pode ser explicado por uma possível toxicidade das nanopartículas do ZnO nas células do endotélio, pois possivelmente inibiram a angiogênese, exercendo um efeito tóxico relacionado com a concentração e tempo de exposição que ocasiona a produção de espécies reativas de oxigênio em excesso, que agem danificando as proteínas, membranas, DNA e peroxidação lipídica (LPO) por meio do processo de inflamação (SOUZA, 2015).

No 14º dia, a média da quantidade de neutrófilos diminuiu, pois a nanoestrutura agiu na fase precoce pós-lesão, melhorando a inflamação. Esse resultado favorável à nanotecnologia deve-se ao fato de suas moléculas apresentarem melhores características no controle e distribuição do medicamento, o que as tornam com um maior potencial para atravessar barreiras biológicas, alcançar a circulação sanguínea, vasos linfáticos, tecido e órgãos. Ainda nesse dia, comparando-se G1 e G2 há uma diferença significativa, sendo a intensidade de G2 maior que o outro grupo.

Nas fases de proliferação e de remodelamento tecidual, o zinco age nas metaloproteinases (MMPs) que são dependentes dele. Essas proteínas modulam, clivam, degradam e compõe a MEC, processando moléculas de citocinas, de migração de queratinócitos sobre a MEC, de angiogênese, de proliferação celular, de ativação e migração de fibroblastos e de deposição de colágeno (LIN, 2018). Os fibroblastos podem se diferenciar em miofibroblastos, que possuem capacidade contrátil acarretando no estreitamento da ferida. Além das MMPs, as plaquetas ativadas da fase inflamatória liberam grânulos alfa com fator de crescimento derivados de plaquetas que irão estimular a deposição de fibras colágeno e MEC. Visto isso, nos resultados do 21º dia, as médias foram aproximados, porém G1 apresentou comportamento inesperado com reduzida intensidade de deposição.

Conclusões

Através da realização desta pesquisa, conclui-se que os animais que foram tratados com óxido de zinco nanoencapsulado se apresentou com melhores resultados na área de retração total dos dias 0 a 21, quando comparado com óxido de zinco convencional e em comparação ao grupo de animais não-tratados (GC).

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela bolsa de iniciação científica concedida; à Universidade Estadual de Ponta Grossa pelo apoio nos cedendo o espaço físico e os meios para o desenvolvimento desta pesquisa e ao meu orientador Leandro Cavalcante Lipinski e as alunas de pós-graduação Adriana Yuriko Koga e Bruna Carletto.

Referências

GAINZA, G. et al. The topical administration of rhEGF-loaded nanostructured lipid carriers (rhEGF-NLC) improves healing in a porcine full-thickness excisional wound model. Journal of Controlled Release. vol 197, 2015.

LIN, P. H. et al. Zinc in wound healing modulation. Nutrients. 2018; 10(1):16.

SILVA, M. et al. Efeitos da estreptozotocina sobre os perfis glicêmico e lipídico e o estresse oxidativo em hamsters. Arq Bras Endocrinal Metab. 2011; 55(1):46-53.

SOUZA, R. C. Ação antimicrobiana de filmes de polietileno de baixa densidade e polietileno de baixa densidade linear modificado com anidrido maleico incorporados com nanopartículas de óxido de zinco [dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. 2015.

PANOBIANCO, M. S. et al. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. Rev. Rene. 2012; 11:15-22.