

ESTUDO DAS REEPITELIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS TRATADAS COM COBERTURA COMPOSTA POR NANOFIBRAS CONSTITUÍDAS DE PCL E PLURÔNICO F-108 CONTENDO CURCUMINA

Guilherme Galerani Mossini (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Thamara Thaiane da Silva, Luzmarina Hernandez (Orientador), e-mail: lhernandes@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Ciências Morfológicas

Área e subárea: Ciências Biológicas/Histologia

Palavras-chave: reparação tecidual, fitofármacos, *Curcuma longa*

Resumo

O tratamento de feridas cutâneas ainda representa um desafio. Apesar das muitas opções terapêuticas ainda não existe um fármaco ideal, para todos os tipos de feridas. Estudos mostram que a curcumina pode ser um agente promissor para a cicatrização de feridas. O objetivo deste estudo foi avaliar a contração e a reepitelização de feridas cutâneas excisionais após cobertura com nanofibras de PCL e Pluronic® (F-108) contendo curcumina. Em 40 ratos Wistar, machos, foram feitas 2 feridas excisionais de 1cm². As feridas do lado direito foram cobertas com PCL/F-108 (controle), e as do lado esquerdo com as nanofibras combinadas com curcumina na concentração de 0,004% (PCL/F-108C4) ou 0,7% (PCL/F-108C7). Após 4, 7, 10 e 14 dias os animais foram eutanasiados, as feridas coletadas, fixadas e processadas para inclusão em parafina e coloração com H&E. Feridas tratadas com PCL/F-108C7 apresentaram grau de contração cerca de 13% maior que as feridas controle. Aos 7 e 10 dias as feridas tratadas com PCL/F-108C7 apresentaram maior ($p < 0,05$) migração de queratinócitos ao longo de sua margem em comparação com aquelas tratadas com PCL/F-108 e PCL/F-108C4. Em 14 dias feridas tratadas com PCL/F-108C4 e PCL/F-108C7 apresentaram um aumento ($p < 0,05$) na espessura da epiderme, em comparação com feridas tratadas com nanofibra controle. Conclui-se que a aplicação das nanofibras auxiliou a cicatrização e garantiu a entrega do fármaco incorporado, pois com a aplicação de nanofibras com curcumina a reepitelização foi estimulada em períodos distintos.

Introdução

A curcumina tem sido estudada como um agente promotor de cicatrização de feridas (CHEREDDY et al., 2013; SWARNAKAR et al., 2005), porém, sua baixa solubilidade em água e sensibilidade ao pH, aquecimento, luz solar e oxigênio limitam sua utilização. Neste estudo, para otimizar sua ação terapêutica, a curcumina foi associada a nanofibras hidrofílicas com o polímero F-108 (Pluronic®), e sua ação sobre a contração e a reepitelização de feridas cutâneas foi avaliada.

Materiais e métodos

Para a obtenção da nanofibra PCL/F-108 foi utilizado PCL (policaprolactona) e o F-108 (Pluronic®). Para a preparação das membranas com curcumina foi utilizado o método de dispersão sólida (Zhang et al., 1996). Pelo método de eletrospiação foram preparadas duas nanofibras com curcumina (m/V) nas concentrações de 0,004% (PCL/F-108C4) e 0,7% (PCL/F-108C7). Para os experimentos *in vivo* (CEUA 5454231117) foram utilizados 40 ratos (10 ratos/período) Wistar, machos. Na região dorsal de cada animal, sob anestesia, foram confeccionadas duas feridas excisionais, paralelas de 1 cm² cada. Após excisão e limpeza com salina, as lesões foram decalcadas em filme transparente para obtenção de sua área inicial. A seguir as feridas do lado direito foram cobertas com a nanofibra PCL/F-108 (controle) e aquelas do lado esquerdo com nanofibras com curcumina (PCL/F-108C4 ou PCL/F-108C7). Diariamente, as feridas foram avaliadas quanto ao aspecto macroscópico. Após 4, 7, 10 e 14 dias, os animais foram eutanasiados e as feridas foram decalcadas para obtenção da área final. As amostras foram coletadas, fixadas em paraformaldeído 4% e processadas para inclusão em parafina. Foram obtidos cortes histológicos de 6µm, corados com H&E para análise morfométrica do epitélio neo formado. Para a determinação do % de contração das feridas, os dados foram digitalizados e ampliados com escala milimétrica, sendo a área calculada pelo programa de imagem *Image-Pro Plus*®, versão 4.5 Os resultados expressos em cm², e o grau de contração expresso em percentual. Para avaliar o comprimento e espessura do epitélio neoformado foram utilizadas imagens de 10 cortes histológicos/animal (50 cortes/tempo de tratamento/grupo) obtidas com objetiva de 10X em microscópio óptico Nikon Eclipse 80I acoplado com câmera de alta resolução Nikon DS-Fi1C Nikon DS-Fi1C. O comprimento das duas línguas de reepitelização nas feridas de 4, 7 e 10 dias foi medido e os valores obtidos somados. Para as feridas de 10 e 14 dias, completamente reepitelizadas, foi determinada a espessura em 3 pontos distintos do epitélio neo formado. Os resultados (média ± erro padrão) foram expressos em micrometros.

Resultados e Discussão

Todas as nanofibras testadas aderiram ao ferimento e sua absorção ocorreu em poucas horas, com boa umidade e retenção. As feridas apresentaram crostas secas, escuras e limpas, até o 7º dia de tratamento (Figura 1A-E). Não houve diferença na contração, nos tempos de 4, 10 e 14 dias (Figura 1F). No 7º dia houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as feridas tratadas com nanofibra contendo 0,7% de curcumina e a controle (PCL/F-108). Feridas tratadas com PCL/F-108C7 apresentaram grau de contração cerca de 13% maior que as feridas controle. O fechamento quase completo das feridas foi evidenciado no 14º dia de tratamento com as nanofibras controle e combinadas com 0,04% e 0,7% de curcumina, proporcionando 92,2%, 95,6% e 94,3% de grau de contração, respectivamente. Em estudo semelhante, Bui et al. (2014) avaliaram o tratamento de feridas cutâneas em camundongos com nanofibras de PCL e PEG com e sem curcumina e os resultados não apresentaram diferença significativa entre a aplicação dos *scaffolds* nos períodos avaliados (5 e 10 dias).

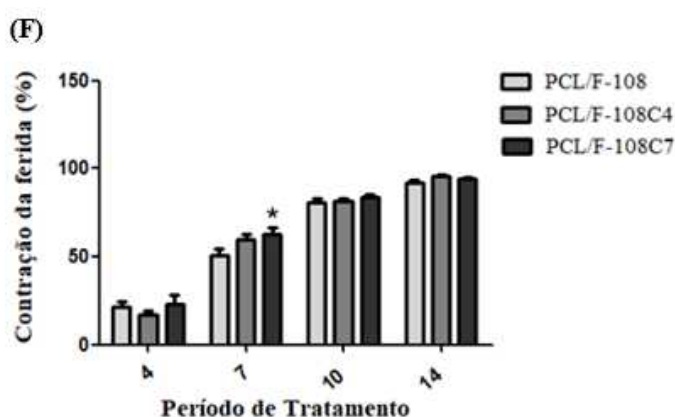


Figura 1. (A-E) Fotografia da região dorsal de ratos Wistar com feridas cutâneas excisionais. Em (A), tempo zero, sem cobertura, e após (B) 4, (C) 7, (D) 10 e (E) 14 dias de tratamento com nanofibra PCL/F-108 padrão (direito) e nanofibra combinada com 0,7% de curcumina (PCL/F-108C7) (esquerda). (F) Percentual de contração das feridas excisionais cobertas com nanofibras PCL/F-108, PCL/F-108C4 e PCL/F-108C7 após 4, 7, 10 e 14 dias (n=10). ANOVA com pós-teste de Tukey. * $p < 0,05$ diferente do controle (PCL/F-108).

No 4º dia o comprimento da epiderme foi maior ($p < 0,05$) nas feridas tratadas com curcumina em comparação com feridas tratadas com a nanofibra controle. No 7º e 10º dias observou-se maior ($p < 0,05$) migração de queratinócitos ao longo de sua margem nas feridas tratadas com PCL/F-108C7 em comparação com as feridas tratadas com os biomateriais PCL/F-108 e PCL/F-108C4, sugerindo estímulo na migração de queratinócitos nas feridas tratadas com a nanofibra com maior concentração de curcumina.

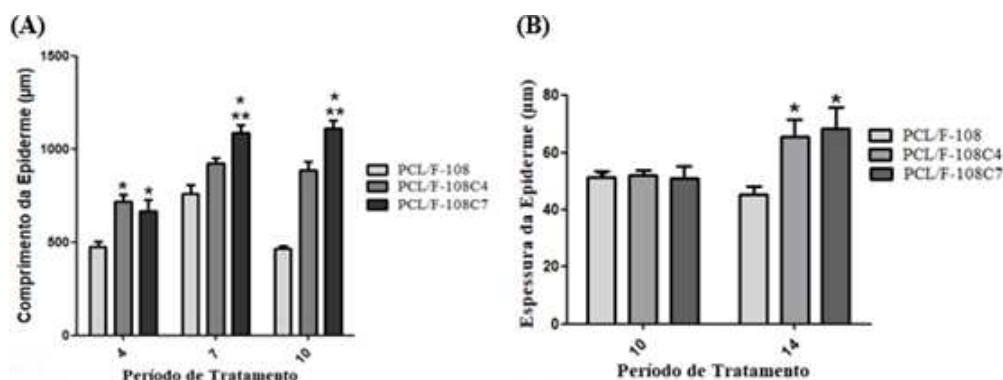


Figura 2. (A) Medida de comprimento da língua de reepitelização no 4º, 7º e 10º dia de tratamento; (B) medida da espessura no 10º e 14º dia de tratamento, após tratamento com as nanofibras (PCL/F-108C, PCL/F-108C4 e PCL/F-108C7), 4º, 7º, 10º e 14º dia após aplicação. Análise estatística realizada por Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunns. * $p < 0,05$ diferente da nanofibra PCL/F-108 (controle); ** $p < 0,05$ diferente na nanofibra PCL/F-108C4.

Neste trabalho, a medida da espessura foi tomada aos 10 e 14 dias nas feridas que encontravam-se completamente reepitelizadas. A fase de reepitelização foi avaliada por meio das medidas do comprimento e espessura da epiderme neoformada (Figura 2). A figura 2B mostra que no período de 14 dias as feridas tratadas com PCL/F-108C4 e PCL/F-108C7 apresentaram um aumento ($p < 0,05$) na espessura em comparação com as feridas tratadas com a nanofibra controle. No 14º dia todas as feridas estavam completamente reepitelizadas. O estímulo migratório pode ser atribuído ao potencial cicatrizante da curcumina, proporcionando reparo epitelial mais acelerado. Resultados análogos foram obtidos por Panchatcharam et al. (2006), em modelos de ratos normais.

Conclusões

A utilização de nanofibras com curcumina auxiliou a cicatrização de feridas excepcionais. Estimulou a contração das margens das feridas e contribuiu para a reepitelização porque estimulou a migração dos queratinócitos sobre o leito ferido. A utilização de nanofibras de PCL/F-108 representa uma alternativa inovadora e promissora para a terapêutica de feridas excisionais. Este efeito pode ser potencializado quando as nanofibras são associadas a fármacos ou fitofármacos, como a curcumina.

Agradecimentos - Ao CNPq pela concessão de bolsa.

Referências

BUI HT et al. Fabrication and characterization of electrospun curcumin-loaded polycaprolactone-polyethylene glycol nanofibers for enhanced wound healing. **Macromolecular Research**, 22:1288-1296, 2014.

CHEREDDY KK et al. Combined effect of PLGA and curcumin on wound healing activity. **Journal of Controlled Release**, 171(2):208-225, 2013.

PANCHATCHARAM M et al. Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species. **Molecular and Cellular Biochemistry** 290(1-2):87-96, 2006.

SWARNAKAR et al. Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 during prevention and healing of indomethacin-induced gastric ulcer. **The Journal of Biological Chemistry**, 280: 9409-9415, 2005.

ZHANG X, JACKSON JK, BURT HM. Development of amphiphilic diblock copolymers as micellar carriers of taxol. **International Journal of Pharmaceutics**, 132(1-2):195-206, 1996.