

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CÉRIO ASSOCIADOS AO ÁCIDO TÂNICO

Maria Julia Bovetto Munhoz (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager (Orientador). E-mail: lautenschlager@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Maringá, PR.

Farmácia/ Farmacognosia

Palavras-chave: Fotoquimioproteção; antioxidantes; radiação UVB.

RESUMO

Em exposições crônicas à radiação solar o sistema antioxidante endógeno é incapaz de proteger as células da pele contra os danos promovidos pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) induzidas pela radiação ultravioleta (UV). Dessa forma podem surgir distúrbios dermatológicos, incluindo fotoenvelhecimento e fotocarcinogênese. Para prevenir os danos oxidativos celulares causados pelas ERO, uma alternativa é o uso de compostos antioxidantes que possuem capacidade de neutralizar as EROS. Desse modo, o objetivo desse estudo foi investigar a atividade antioxidante de nanopartículas de óxido de cério associados ao ácido tânico (CNP-TA), através de sistema livre de células. E também, analisar o efeito fotoprotetor de CNP-TA em células L-929 irradiadas com 600 mJ/cm² de UVB. Os resultados demonstraram que CNP-TA apresentou atividade antioxidante considerável no ensaio de xantina/luminol/ XOD e atividade fotoprotetora pela diminuição da lipoperoxidação e a proteção da membrana mitocondrial em fibroblastos L-929 expostos a UVB. Esses achados sugerem CNP-TA como uma estratégia vantajosa em administrações tópicas para atenuarem o dano oxidativo induzido por UVB em fibroblastos L-929.

INTRODUÇÃO

A radiação solar é composta pela luz visível, raios infravermelhos e ultravioleta (UV), incluindo UVA, UVB e UVC. Os raios UVB apresentam maior preocupação por causarem danos diretos ao DNA, desencadeiam inflamação, eritemas solares, fotoenvelhecimento e câncer de pele. A exposição à radiação UV induz danos causados pela geração de espécies reativas do oxigênio (ERO). Em exposições crônicas a radiação solar, o sistema de defesa antioxidante endógeno do organismo se torna sobrecarregado, levando a um desbalanço entre compostos oxidantes e defesa antioxidante natural (JAFFRI, 2023).

Nesse sentido, compostos fotoprotetores com ação antioxidante atenuam os danos oxidativos causados pela radiação UV através do sequestro de ERO (MOYAL et al., 2008). Pesquisas com o ácido tânico (TA) constataram que ele previne danos induzidos por UVB em fibroblastos L-929 por meio de redução de ERO, inibição da

ativação de enzimas oxidantes, preservação de antioxidantes endógenos e prevenção da peroxidação lipídica, da despolarização mitocondrial e de danos ao DNA (DARÉ et al., 2020). Além disso, estudos com nanopartículas de óxido de cério demonstraram seu efeito fotoprotetor pela mimetização de enzimas antioxidantes, conseqüentemente redução do estresse oxidativo pela exposição ao UV (PELOI et al., 2020). Diante disso, a combinação de ambos os compostos deve ser investigada para síntese de formulações fotoquimioprotetoras.

MATERIAIS E MÉTODOS

Atividade Antioxidante pelo Sistema Xantina/ Luminol/ XOD

Experimento luminescente em que ocorre a oxidação do luminol na presença do radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Quanto maior a emissão de luminescência gerada pelo luminol, maior a quantidade de $O_2^{\bullet-}$. Compostos antioxidantes conseguem sequestrar esse radical, diminuindo a luz emitida comparada com o controle.

Manutenção da Cultura Celular L-929

Foram utilizados fibroblastos murino L-929 (ATCC CCL1™, Manassas, EUA) mantidos em meio DMEM suplementado com soro fetal bovino e antibióticos.

Avaliação da Peroxidação Lipídica

Método realizado para avaliar as membranas celulares de fibroblastos L-929 expostos ao UVB. Em que o difenil-1-pirenilfosfina (DPPP), que a princípio não apresenta fluorescência, reage estequiometricamente com hidroperóxidos lipídicos para dar origem ao óxido DPPP fluorescente (DPPP = O). As moléculas de DPPP são incorporadas as membranas celulares, e segundo a literatura, os hidroperóxidos localizados na membrana reagem preferencialmente com o DPPP.

Avaliação do potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Phi_m$)

Foi utilizado tetrametilrodamina (TMRE), um marcador carregado positivamente permeável as membranas mitocondriais ativas devido a presença de cargas elétricas negativas.

Análise Estatística

Os dados encontrados foram calculados a partir da média \pm desvio padrão de três experimentos independentes. A análise estatística foi efetuada pelo software Prism 5.0, através do teste ANOVA (one-way) e teste de comparações de Tukey, considerando significativo $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação a atividade antioxidante das CNP-TA, a Tabela 1 apresenta os valores de EC_{50} de CNP-TA e quercetina (QT) de 1,8 μg e 0,36 μg , respectivamente. Esses resultados demonstram que CNP-TA foi capaz de sequestrar os radicais $O_2^{\bullet-}$, confirmando a atividade antioxidante da substância.

Tabela 1. Avaliação do potencial antioxidante de nanopartículas de óxido de cério associadas ao ácido tânico (CNP-TA) e do padrão quercetina (QT) pelo método xantina/ luminol/ xantina oxidase (XO).

Substâncias	XO
	EC ₅₀ (µg)
CNP-TA	1,8 ± 0,09
QT	0,36 ± 0,04

Dados experimentais: média ± desvio padrão; n=4. EC50 = concentração efetiva de 50%.

A avaliação da peroxidação lipídica (Fig. 1) demonstrou que a lipoperoxidação aumentou significativamente em células irradiadas com UVB (110%), em comparação com o controle negativo. No entanto, o tratamento com CNP-TA 10 µg/mL atenuou de modo significativo (67,7%) o dano lipídico induzido por UVB em comparação com o controle de UVB.

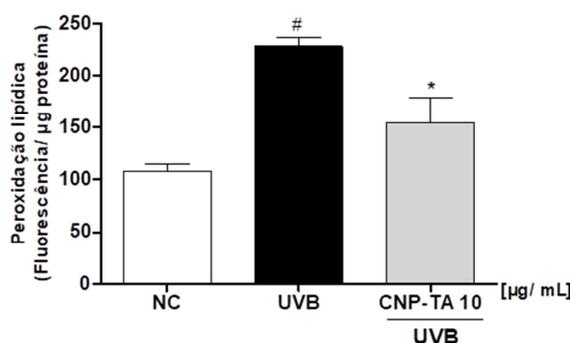


Figura 1 – Avaliação da peroxidação lipídica em fibroblastos L-929 tratados com CNP-TA 10 µg/ mL irradiados com UVB. NC (controle negativo) = células não tratadas e não irradiadas; controle UVB = células irradiadas e não tratadas; CNP-TA 10 µg/ mL = células irradiadas e tratadas com CNP-TA. *p < 0,05. Dados experimentais: média ± desvio padrão.

Os resultados da avaliação do potencial de membrana mitocondrial (Fig. 2) mostram uma redução significativa de $\Delta\Phi_M$ (67%) em células irradiadas com UVB comparadas ao controle negativo. Assim como houve uma diminuição em células expostas ao CCCP. Após a irradiação por UVB, o tratamento de CNP-TA 10 µg/ mL inibiu significativamente (28%) a perda da despolarização da membrana mitocondrial comparado ao controle UVB. Esse resultado foi ainda melhor do que as células irradiadas e tratadas com NAC, um antioxidante conhecido.

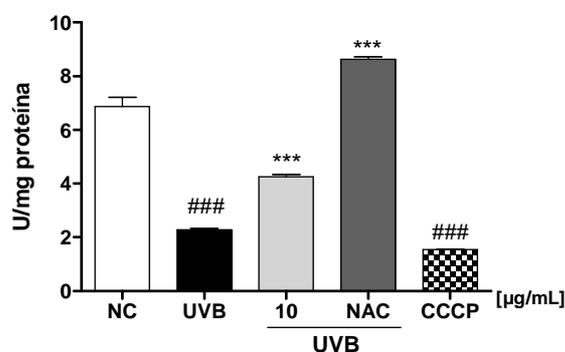


Figura 2 – Avaliação do potencial de membrana mitocondrial em fibroblastos L-929 tratados com CNP-TA 10 µg/ mL irradiados com UVB. NC (controle negativo): células não tratadas e não irradiadas; controle UVB: células irradiadas e não tratadas; 10: células irradiadas e tratadas com CNP-TA 10 µg/ mL; NAC: células irradiadas e tratadas com N-acetil-cisteína; CCCP: células tratadas com cianeto m-clorofenil hidrazona. ****p < 0,05. Dados experimentais: média ± desvio padrão.

CONCLUSÕES

Em conclusão, as CNP-TA apresentaram potencial antioxidante, capacidade de diminuir a peroxidação lipídica e proteger a membrana mitocondrial de despolarização induzidas por UVB em fibroblastos L929. Desse modo, CNP-TA apresenta potencial fotoquimioprotetor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pelo apoio e Bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

- DARÉ, R. G. et al. Tannic acid, a promising anti-photoaging agent: Evidences of its antioxidant and anti-wrinkle potentials, and its ability to prevent photodamage and MMP-1 expression in L929 fibroblasts exposed to UVB. **Free Radical Biology and Medicine**, 2020.
- JAFFRI, J. M. Reactive Oxygen Species and Antioxidant System in Selected Skin Disorders. **The Malaysian Journal of Medical Sciences**, 2023.
- MOYAL D. D.; FOURTANIER A. M. Broad-spectrum sunscreens provide better protection from solar ultraviolet-simulated radiation and natural sunlight-induced immunosuppression in human beings. **J Am Acad Dermatol**, 2008.
- PELOI, K. E. et al. Antioxidative photochemoprotector effects of cerium oxide nanoparticles on UVB irradiated fibroblast cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2020.