AVALIAÇÃO DO EFEITO FOTOQUIMIOPROTETOR DE NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO ÁCIDO CAFEICO-FTALIMIDA EM FIBROBLASTOS L-929

Rayane Camilly De Freitas (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager (Orientador). E-mail: lautenschlager@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/ Farmácia.

Palavras-chave: Fotoquimioproteção; nanopartículas lipídicas sólidas; ácido cafeico-ftalimida

RESUMO

A radiação UV quando em excesso provoca estresse oxidativo causando danos à pele e favorecendo o fotoenvelhecimento. Nesse contexto, substâncias antioxidantes surgem como estratégia promissora para a fotoproteção. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito fotoquimioprotetor de nanopartículas lipídicas sólidas contendo ácido cafeico-ftalimida (NLS-CF) em fibroblastos L-929 irradiados com UVB, por meio da análise da condensação do DNA e da avaliação morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

INTRODUÇÃO

A pele atua como a principal barreira contra a radiação ultravioleta (UV), porém a exposição excessiva compromete sua capacidade regenerativa e favorece o fotoenvelhecimento. A radiação UV, especialmente a UVB, induz a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), promovendo estresse oxidativo, danos ao DNA e morte celular (Nakamura et al., 2021). Nesse contexto, antioxidantes associados a fotoprotetores representam uma estratégia promissora para minimizar esses efeitos (Mani Rajasekar et al., 2024). Entre eles, destaca-se o ácido cafeico-ftalimida, derivado do ácido cafeico com propriedades antioxidantes e lipofílicas. Assim, este estudo avalia o potencial fotoquimioprotetor de nanopartículas lipídicas sólidas contendo ácido cafeico-ftalimida (NLS-CF) em fibroblastos L-929 expostos à radiação UVB.

MATERIAIS E MÉTODOS

Produção de nanopartículas lipídicas sólidas contendo ácido cafeíco-ftalimida

As nanopartículas lipídicas sólidas contendo ácido cafeico-ftalimida (2,5 ou 5% p/p) (Figura 1) foram produzidas por homogeneização a quente, utilizando Compritol® 888ATO (5%), Tween 80, Pluronic® F-127 (1%) e água ultrapurificada aquecidos a 70

°C. A fase aquosa foi adicionada à fase lipídica para formação da emulsão primária, seguida de homogeneização em Ultra-Turrax® (10.000 rpm/3 min) e sonicação (70% de amplitude/5 min). As formulações foram resfriadas à temperatura ambiente e armazenadas em frascos de vidro âmbar (Silva et al., 2025) e Manjunath et al., 2005).

Formulação	Proporção lipídica (Compritol® 888 ATO: surfactantes)	Concentração de CF (%)
SLN-CF 85:15 5%	85:15	5,0
SLN-CF 90:10 2,5%	90:10	2,5
SLN Bare 90:10	90:10	0 (sem CF)
SLN Bare 85:15	85:15	0 (sem CF)

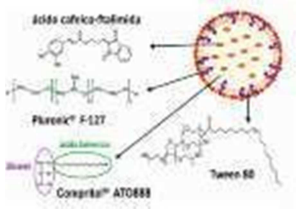


Figura 1: Proporção lipídica e concentração do CF nas nanopartículas

Análise da condensação do DNA pela técnica de Hoechst.

A condensação da cromatina foi avaliada pela técnica de Hoechst 33342 em fibroblastos L-929 tratados com NLS-CF (1, 2,5 e 5 µM) por 24 h, irradiados com UVB e incubados por 24 h. Em seguida, as células foram submetidas à dupla coloração com Hoechst 33342 (2 µg/mL) e iodeto de propídio (4 µg/mL) por 15 min, com a fluorescência quantificada em fluorímetro. A digitonina (80 µM) foi utilizada como controle positivo (Allen; Hunter; Agrawal, 1997).

Análise de alterações nucleares associadas à apoptose pelo método de coloração com laranja de acridina

As alterações nucleares associadas à apoptose foram avaliadas por coloração com laranja de acridina em fibroblastos L-929 cultivados em placas de 96 poços ($5,0 \times 10^4$ células/mL), tratados com NLS-CF por 24 h, irradiados com UVB e incubados por mais 24 h. As células foram coradas com laranja de acridina (1 µg/mL) por 10 min, protegidas da luz, e a fluorescência foi analisada e quantificada em fluorímetro. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi utilizado como controle positivo (Kaufmann;2000).

Avaliação morfológica dos fibroblastos L-929 após o tratamento com as NLS-CF, usando microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A morfologia dos fibroblastos L-929 foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) após tratamento com NLS-CF, quercetina (controle positivo) ou meio de cultura (controle negativo). Após incubação, as células foram coletadas, fixadas em glutaraldeído 2,5%, aderidas em lamínulas com poli-L-lisina, desidratadas em série crescente de etanol, secas ao ponto crítico, metalizadas com ouro e analisadas em microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 250.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 demonstra que a exposição à radiação UVB promoveu aumento de 78,2% na condensação da cromatina em relação ao controle negativo, indicando maior ocorrência de apoptose. O tratamento com as formulações NLS-CF 90:10 (2,5%) e 85:15 (5%) reduziu significativamente a intensidade de fluorescência em 32% e 64%, respectivamente. De modo geral, as formulações apresentaram valores próximos ao controle negativo.

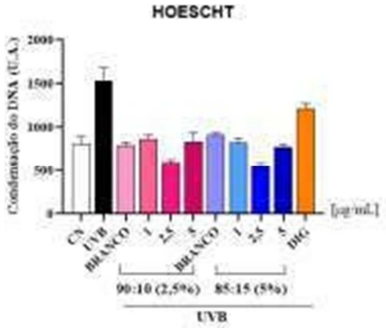


Figura 2. Análise da condensação do DNA pela técnica de Hoechst em fibroblastos L-929 tratados com NLS-CF 90:10 (2,5%) e NLS-CF 85:15 (5,0%) após exposição à radiação UVB (600 mJ/cm²).

A Figura 3 demonstra que a exposição à radiação UVB aumentou em 87,2% a apoptose dos fibroblastos L-929 em relação ao controle negativo. O tratamento com as formulações NLS-CF 90:10 (2,5%) e 85:15 (5,0%) reduziu significativamente a apoptose, com reduções entre 30,8% e 52,1%, destacando-se a formulação NLS-CF 85:15 (2,5 µM), que apresentou o maior efeito citoprotetor. O controle positivo (H_2O_2) apresentou elevada apoptose, confirmando a eficiência do modelo experimental.

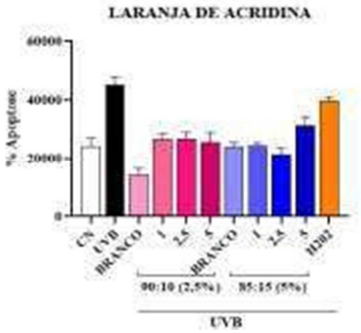


Figura 3. Avaliação das alterações nucleares associadas à apoptose em fibroblastos L-929 tratadas com NLS-CF 90:10 (2,5% m/m CF) e NLS-CF 85:15 (5,0% m/m CF) após exposição à radiação UVB (600 mJ/cm²), utilizando coloração com laranja de acridina.

A Figura 4 consta a análise por microscopia eletrônica de varredura que mostrou que a radiação UVB promoveu alterações morfológicas acentuadas nos fibroblastos L-929, como retração celular e perda do formato fusiforme. Em contrapartida, o tratamento com as formulações NLS-CF 90:10 e 85:15 preservou a morfologia celular em todas as concentrações avaliadas, mantendo células aderidas, alongadas e com prolongamentos citoplasmáticos. Os melhores resultados foram observados nas concentrações de 5,0 µg/mL (90:10) e 2,5 µg/mL (85:15), cujas células apresentaram morfologia semelhante ao controle negativo.

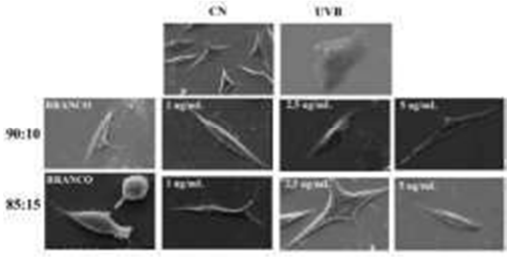


Figura 4. Análise da morfologia de fibroblastos L-929 por microscopia eletrônica de varredura (MEV) após tratamento com NLS-CF 90:10 (2,5%) e NLS-CF 85:15 (5,0%) e exposição à radiação UVB (600 mJ/cm²).

CONCLUSÕES

As NLS-CF apresentaram potencial fotoquimioprotetor, protegendo os fibroblastos L-929 dos danos induzidos pela radiação UVB.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

ALLEN, R. T.; HUNTER, W. J.; AGRAWAL, D. K. Morphological and biochemical characterization and analysis of apoptosis. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, New York, v. 37, n. 4, p. 215–228, 1997.

KAUFMANN, S. H.; EARNSHAW, W. C. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy. *Experimental Cell Research*, New York, v. 256, n. 1, p. 42–49, 2000.

MANI RAJASEKAR et al. **Recent developments in sunscreens based on chromophore compounds and nanoparticles.** *RSC Advances*, v. 14, n. 4, p. 2529–2563, 2024.

MANJUNATH, K. et al. Design and characterization of solid lipid nanoparticles containing a hydrophilic drug: in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Controlled Release*, Amsterdam, v. 107, n. 2, p. 215–228, 2005..

NAKAMURA, H.; TAKADA, K. **Reactive oxygen species in cancer: current findings and future directions.** *Cancer Science*, v. 112, n. 10, 2021.

SILVA, B. T. A. et al. Design of solid lipid nanoparticles for skin photoprotection through the topical delivery of caffeic acid-phthalimide. International Journal of Pharmaceutics, v. 669, p. 125010, 2025.