

EFEITO DE BIOMATERIAIS CONTENDO HIDROCORTISONA EM UM MODELO DE DERMATITE ATÓPICA EM CAMUNDONGOS

GUILHERME TEIXEIRA VOSS¹; LUIZA BLOTTA CORRÊA²; MATHEUS DA
SILVA GULART³; ANDRÉ RICARDO FAJARDO⁴; CRISTIANE LUCHESE⁵;
ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – gui_voss@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – blottaluiza@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - omatheusgularte@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – drefajardo@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br (coorientadora)

⁶Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é considerada uma doença inflamatória, alérgica e crônica, que envolve uma inter-relação entre fatores ambientais, imunológicos, genéticos além de uma disfunção da barreira cutânea (YANXI et al. 2016). Esta é considerada uma doença multifatorial e sua morbidade tem aumentado gradualmente em países desenvolvidos e em desenvolvimento, acometendo principalmente crianças (20%), sendo que aproximadamente 50% dos pacientes apresentam essa doença antes dos 5 anos de vida (BIEBER et al. 2012; NUTTEN, 2015).

Segundo a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD, 2017) a principal característica da DA é o ressecamento cutâneo com intenso prurido que como consequência ocasiona ferimentos, inflamações de pele, irritação, espessamento da pele, entre outros sintomas. Frente a isto, um dos problemas mais significativos em pacientes com DA é a coceira excessiva, uma vez que esta condição crônica provoca um agravamento da doença, levando a quadros inflamatórios devido a invasão e contaminação das feridas por bactérias, principalmente o *Staphylococcus aureus* (HASHIMOTO et al. 2011). Portanto, a busca de tratamentos alternativos para amenizar ou eliminar os sintomas da DA é necessária.

As estratégias terapêuticas mais eficazes para melhorar a qualidade de vida dos pacientes com DA consiste em aliviar a coceira associada ao prurido, porém, devido às condições crônicas da coceira apresentarem etiologias muito diferentes, a maioria dos tratamentos tem resultados ruins e são acompanhadas de efeitos colaterais (STEINHOFF et al. 2011). Frente a isto, a busca por novos agentes que possam ser efetivos na DA se intensificou nos últimos anos. De fato, o uso de corticosteroides tópicos, como a hidrocortisona (HC), é considerado a base dos tratamentos farmacológicos para DA. Entretanto, para muitos pacientes com esta doença nas fases moderada a grave, a eficácia dos tratamentos tópicos é limitada e a aplicação a longo prazo destes acarreta efeitos colaterais (RING et al. 2012).

Paralelamente a isto, o uso de biomateriais está sendo amplamente utilizado para cobrir feridas como uma barreira física, capaz de manter o equilíbrio de umidade, permitir trocas gasosas e impedir que as feridas sejam infectadas, além de proporcionar uma redução de efeitos colaterais de algumas drogas (RIZZI et al. 2010). Estes curativos (biomateriais) formulados a partir de biopolímeros (por exemplo, gelatina e amido) têm recebido uma atenção importante por apresentarem propriedades atrativas, como não toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e fácil processamento e moldabilidade (BIRCH et al. 2015; FACCHI et al. 2017). Frente a isto, este estudo visou avaliar o efeito de

biomateriais incorporados com HC na DA induzida por 2,4-dinitroclorobenzeno (DNCB) em camundongos, a fim de avaliar a redução de efeitos colaterais deste tratamento amplamente utilizado na DA.

2. METODOLOGIA

Para a realização do protocolo experimental foram utilizados camundongos machos da raça BALB/c, pesando entre 25 e 35g. Os procedimentos foram realizados de acordo com as orientações da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) (CEEAA 4294-2015). Os biomateriais utilizados neste estudo foram preparados no Laboratório de Tecnologia e Desenvolvimento de Compósitos e Materiais Poliméricos (LaCoPol) da UFPEL. Para aplicação tópica, a HC foi incorporada em um biomaterial de gelatina e/ou gelatina + amido na proporção 100:00 e/ou 70:30 (m/m). Estes foram incorporados com HC (0,5g), que equivalem a 1% de hidrocortisona creme (utilizado como controle positivo).

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais: I) Controle; II) DNCB (Induzido); III) DNCB + Biomaterial 100:00; IV) DNCB + Biomaterial HC 100:00; V) DNCB + Biomaterial 70:30; VI) DNCB + Biomaterial HC 70:30 e VII) DNCB + HC (creme). Para a avaliação da DA, os animais foram sensibilizados com DNCB 0,5%, nos dias 1, 2 e 3, de acordo com CHAN e colaboradores (2013) (Figura 1). A aplicação tópica de haptenos tais como o DNCB em camundongos é comumente utilizada para induzir hipersensibilidade de contato da pele, pois mimetiza os processos envolvidos no desenvolvimento e manutenção da DA em pacientes (BERKE, 2012).

Posteriormente, entre os dias 14 a 29, os animais receberam a aplicação de DNCB (1%) na orelha direita e no dorso a cada 3 dias. Os animais do grupo controle receberam apenas a aplicação do veículo do DNCB (acetona:azeite de oliva (3:1)). Nos dias 14 a 29, os animais receberam a aplicação tópica dos biomateriais ou a HC (creme comercial).

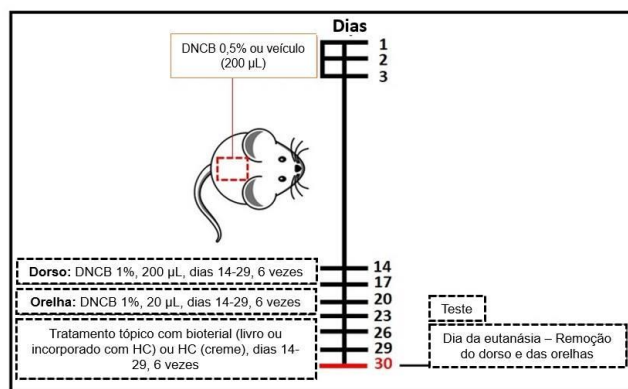


Figura 1. Resumo do protocolo experimental.

No 30º dia, foi avaliado o comportamento de coçar dos animais, sendo mensurado o tempo gasto coçando o nariz, as orelhas e a pele dorsal com as patas por um período de 20 minutos (KIM et al. 2014). Posteriormente, os animais foram submetidos à eutanásia e um fragmento do dorso e da orelha foram removidos para a determinação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), de acordo com SUZUKI et al. (1983), com algumas modificações. Os resultados foram expressos como a densidade óptica (OD)/mg proteína/min.

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os resultados com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como demonstrado na figura 2A, o tratamento com os biomateriais (livres e incorporados com HC) e HC (creme), protegeram contra o aumento no tempo de coçar induzido por DNCB. Ainda, os biomateriais incorporados com HC (BM + HC 100:00; BM + HC 70:30) reduziram o tempo de coçar quando comparados com o grupo de animais tratados somente com HC (creme).

Na figura 2B, os biomateriais livres ou incorporados com HC, diminuíram a atividade da enzima MPO induzida pelo DNCB no dorso dos animais. Por outro lado, o grupo HC (creme), não diminuiu a atividade desta enzima no dorso dos animais.

Os resultados mostrados na figura 2C revelam que os tratamentos com os biomateriais incorporados com HC (BM + HC 100:00; BM + HC 70:30), reverteram a atividade da enzima MPO na orelha dos animais. Além disso, o tratamento com HC (creme), neste caso também foi capaz de reverter este parâmetro. Desta forma, os resultados demonstram que os biomateriais exerceram uma melhora no comportamento de coçar e reverteram a atividade inflamatória causada nos animais.

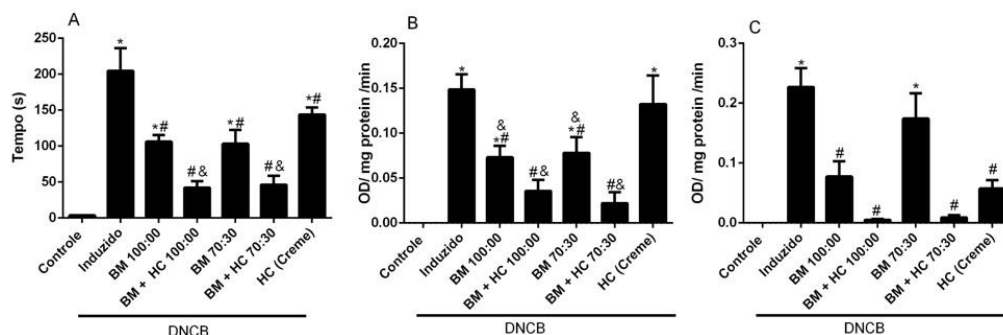


Figura 2. Efeito dos biomateriais no comportamento de coçar (A), atividade da enzima MPO no dorso (B) e na orelha (C) dos camundongos após a indução com o DNCB. (*), (#) e (&) indicam $p < 0,05$, quando comparado ao grupo controle, induzido e com o controle positivo, respectivamente. BM: Biomaterial; HC: Hidrocortisona.

4. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, sugere-se que a incorporação da HC em um biomaterial foi efetiva na melhora dos sintomas comportamentais e inflamatórios causados pela DA induzida por DNCB nos camundongos. Desta forma, a HC incorporada em um biomaterial representa uma possível estratégia terapêutica para o tratamento desta patologia. Contudo, mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos envolvidos nesta ação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAN, C.C.; Liou, C.J.; Xu, P.Y.; Shen, J.J.; Kuo, M.L.; Len, W.B.; CHANG, L.E.; HUANG, W.C. Effect of dehydroepiandrosterone on atopic dermatitis-like skin

lesions induced by 1-chloro-2,4-dinitrobenzene in mouse. **Journal of Dermatological Science**, v.72, p.149–157, 2013.

KIM, H.; KIM, J.R.; KANG, H.; CHOI, J.; YANG, H.; LEE, P.; KIM, J.; LEE, K.W. 7,8,4-Trihydroxyisoflavone attenuates DNCB-Induced atopic dermatitis-Like symptoms in NC/Nga mice. **PLoS One**, v.9, p.1–6, 2014.

SUZUKI, K.; OTA, H.; SASAGAWA, S.; SAKATANI, T.; FUJIKURA, T. Assay-method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. **Analytical Biochemistry**, v.132, p.345–352, 1993.

YANXI, L.; LONG, C.; YE HONG, D.; DAOCHAO, H.; HUILI, H.; ZHIFANG, D. Fluoxetine ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions in BALB/c mice through reducing psychological stress and inflammatory response. **Frontiers in Pharmacology**, v.7, p.1–9, 2016.

NUTTEN, S. Atopic dermatitis: global epidemiology and risk factors. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.66, p.8-16, 2015.

BIEBER, T.; CORK, M.; REITAMO, S. Atopic dermatitis: a candidate for disease-modifying strategy. **Allergy**, v.67, p.969-975, 2012.

Sociedade Brasileira de Dermatologia – Dermatite atópica. 2017. Acessado em 11 de setembro de 2019. Disponível em: <https://www.sbd.org.br/dermatologia/pele/doencas-e-problemas/dermatite-atopica/59/>

HASHIMOTO, Y.; TAKAOKA, A.; SUGIMOTO, M.; HONMA, Y.; SAKURAI, T.; FUTAKI, N.; ARAI, I. Itch-associated scratching contributes to the development of dermatitis and hyperimmunoglobulinemia E in NC/Nga mice. **Experimental Dermatology**, v.20, p.820-825, 2011.

STEINHOFF, M.; BUDDENKOTTE, J.; AUBERT, J.; SULK, M.; NOVAK, P.; SCHWAB, V.D.; MESS, C.; CEVIKBAS, F.; RIVIER, M.; CARLAVAN, I.; DÉRET, S.; ROSIGNOLI, C.; METZE, D.; LUGER, T.A.; VOEGEL, J.J. Clinical, cellular, and molecular aspects in the pathophysiology of rosacea. **Journal of Investigative Dermatology Symposium**, v.15, p.5-11, 2011.

RING, J.; ALOMAR, A.; BIEBER, T.; DELEURAN, M.; FINK-WAGNER, A.; GELMETTI, C.; GIELER, U.; LIPOZENCIC, J.; LUGER, T.; ORANJE, A.P.; SCHÄFER, T.; SCHWENNESEN, T.; SEIDENARI, S.; SIMON, D.; STÄNDER, S.; STINGL, G.; SZALAI, S.; SZEPIETOWSKI, J.C.; TAÏEB, A.; WERFEL, T.; WOLLENBERG, A.; DARSOW, U. Guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) part I. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.26, p.1176-1193, 2012.

RIZZI, S.C.; UPTON, Z.; BOTT, K.; DARGAVILLE, T.R. Recent advances in dermal wound healing: biomedical device approaches. **Expert Review of Medical Devices**, v.7, p.143-154, 2010.

BERKE, R.; SINGH, A.; GURALNICK, M. Atopic dermatitis: an overview. **American Family Physician**, v.86, p.35-42, 2012.

FACCHI, D.P.; DA CRUZ, J.A.; BONAFE, E.G.; PEREIRA, A.G.B.; FAJARDO, A.R.; VENTER, S.A.S.; MONTEIRO, J.P.; MUNIZ, E.C.; MARTINS, A.F. Polysaccharide-based materials associated with or coordinated to gold nanoparticles: synthesis and medical application. **Current Medicinal Chemistry**, v.24, p.2701–2735, 2017.

BIRCH, N.P.; BARNEY, L.E.; PANDRES, E.; PEYTON, S.R.; SCHIFFMAN, J.D. Thermal-responsive behavior of a cell compatible chitosan/pectin hydrogel. **Biomacromolecules**, v.16, p.1837–1843, 2015.