

## USO DE NANOSUSPENSÕES DE CELULOSE E MANANA OBTIDAS DE NOZES DE MARFIM PARA ACELERAR A CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS DIABÉTICAS EM CAMUNDONGOS

ANA PAULA STEFANELO E SILVA<sup>1</sup>; VANESSA M. E. DA ROCHA<sup>2</sup>; JULIA DA ROSA MENDES<sup>3</sup>; ENRIQUE J. C. BARRIGA<sup>4</sup>; ANDRÉ R. FAJARDO<sup>5</sup>; ETHEL A. WILHELM<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – astefanelo@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – vnsmacedo@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – juliarosamendes5@gmail.com

<sup>4</sup>PanoMatrix – ejcarvajal@puce.edu.ec

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – drefajardo@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

A cicatrização de feridas é um processo biológico complexo, ainda mais desafiador em indivíduos com *diabetes mellitus*, condição que compromete a resposta imune, vascularização e remodelação tecidual (DING et al., 2022). Em feridas diabéticas observa-se atraso na reepitelização, diminuição da produção de colágeno e aumento do risco de infecção, o que eleva as taxas de morbidade, hospitalizações e até amputações (WALICKA et al., 2021; BARMAN; KOH, 2020).

Diversos biomateriais vêm sendo estudados como estratégias terapêuticas, com destaque para os biopolímeros naturais devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades bioativas (TIWARI et al., 2023). Dentre esses, os nanocristais de celulose (CNC) e de manana (MN) apresentam propriedades promissoras no tratamento de feridas crônicas, por atuarem na regeneração tecidual e no controle de infecções oportunistas (CARVAJAL-BARRIGA et al., 2023; YILDIZ; ONER, 2014).

Portanto, o presente estudo avaliou a eficácia de suspensões coloidais contendo CNC e MN, derivadas da noz de marfim (tagua, *Phytelephas aequatorialis*), na cicatrização de feridas diabéticas em camundongos.

### 2. METODOLOGIA

Camundongos machos Swiss adultos (n=7 por grupo) foram induzidos ao diabetes por injeções intraperitoneais diárias de estreptozotocina (STZ) (100 mg/kg) por três dias consecutivos. Após uma semana, consideraram-se diabéticos os animais com glicemia  $\geq 200$  mg/dL (YUN et al., 2023). Posteriormente, feridas dorsais de 9 mm foram criadas na região dorsal com uma coleta de biópsia.

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais: *Controle*: não diabéticos e não tratados; *STZ*: diabéticos não tratados; *STZ+TTO1*: tratados com suspensão CNC:MN 1:1 (PMM-AC1); *STZ+TTO2*: tratados com suspensão CNC:MN 6:1 (PMN-AC1); *STZ+TTO3*: tratados com CNC pura (ENC-01).

As formulações foram aplicadas diariamente por spray (60  $\mu$ L) a 15 cm de distância por 12 dias. A cicatrização foi avaliada por análise da regressão da área ferida (nos dias 3, 6, 9 e 12). Os animais foram eutanasiados e o tecido cicatricial foi retirado para contagem bacteriana por CFU/mL e análise histopatológica com coloração H.E (hematoxilina e eosina) e Tricrômio de Masson para colágeno (EMING; KRIEG; DAVIDSON, 2007).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

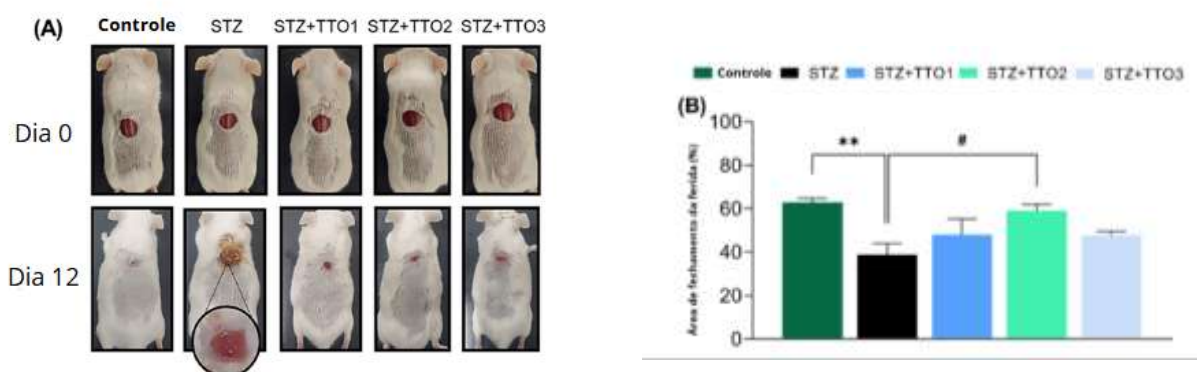
A administração de STZ elevou significativamente a glicemia dos animais nos dias 0 e 12 em comparação ao grupo controle ( $p < 0,0001$ ), sem efeito hipoglicemiante pelas formulações.

Na análise de fechamento da ferida, apenas o grupo tratado com TTO2 apresentou regressão significativa da área lesionada em comparação ao grupo STZ ( $p < 0,05$ ), indicando maior eficácia cicatrizante (Figura 1). Esse efeito pode estar associado à presença de CNC em maior proporção, conhecido por estimular a reepitelização e a deposição de matriz extracelular (SHAN et al., 2019).

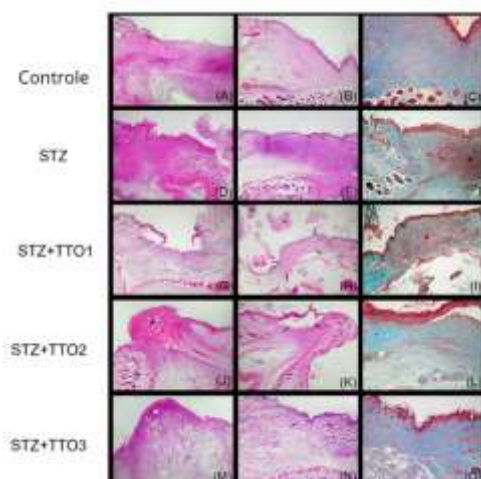
Quanto ao número de colônias bacterianas, somente o grupo que recebeu o TTO2 apresentou redução significativa no número de unidades formadoras de colônia (CFU), sugerindo atividade antimicrobiana da formulação (GRANT; SMITH; MURPHY, 2022). A manana, mesmo em uma concentração, pode atuar como prebiótico modulando bactérias resistentes (CUONG et al., 2024).

A análise histológica revelou padrões distintos entre os tratamentos. TTO3 (apenas CNC) demonstrou a melhor resposta tecidual, com infiltrado inflamatório leve, elevada produção de colágeno e boa neovascularização (Figura 2). O TTO1 apresentou inflamação persistente e baixa produção de colágeno, enquanto o TTO2 mostrou resposta intermediária, com inflamação moderada e níveis de colágeno discretamente aumentados.

A diferença na eficácia entre as formulações pode ser explicada pelas propriedades físico-químicas das suspensões. A TTO1 apresentou maior viscosidade e formação de filmes contínuos, o que pode dificultar a regeneração em feridas abertas profundas (FAUSTINO et al., 2022). Por outro lado, TTO3 formou revestimentos mais finos e porosos, permitindo melhor troca gasosa e regeneração celular, conforme evidenciado pela organização tecidual observada.



**Figura 1:** Efeito das administrações cutâneas de TTO1, TTO2 e TTO3 na regressão da área da ferida. (A) Fotos representativas da extensão da cicatrização de um animal por grupo; (B) percentual (%) de fechamento da área lesionada. Os dados sobre o fechamento da área da ferida são relatados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM) de 7 a 10 animais por grupo (análise de variância de uma via seguida pelo pós-teste de Tukey). (\*\*)  $p < 0,01$  denota níveis de significância quando comparado ao grupo controle. (#)  $p < 0,05$  denota níveis de significância quando comparado ao grupo STZ.



**Figura 2.** Imagens representativas dos cortes histológicos da pele dorsal de camundongos diabéticos com feridas e tratados topicamente com TTO1, TTO2, TTO3, corados com hematoxilina e eosina (HE) e tricrômico de Masson (MT). O grupo controle apresentou pele íntegra com epiderme, derme, tecido subcutâneo, camada muscular e anexos cutâneos preservados, além de cicatrização caracterizada por inflamação homogênea (A), acantose, espessamento dérmico e infiltrado inflamatório leve (B) e área cicatricial com fibroblastos abundantes, colágeno (+++) e bom suprimento vascular (C). No grupo STZ, observaram-se ulceração com inflamação estendendo-se ao subcutâneo (D), cicatrização com acantose e inflamação acentuada (+++) (E) e presença de fibroblastos abundantes, porém com baixa deposição de colágeno (F). O tratamento com TTO1 resultou em inflamação leve (G), crostas sobre a área cicatricial (H) e muitos fibroblastos com pouca produção de colágeno (I). No grupo TTO2, verificou-se inflamação estendendo-se ao subcutâneo com presença de sangue (J), cicatrização com inflamação moderada e artefato de processamento (K) e distribuição homogênea de fibroblastos e colágeno (L). O TTO3 promoveu inflamação controlada com vasos linfáticos dilatados (M), cicatrização com inflamação leve e vasos linfáticos dilatados (N) e área cicatricial com fibroblastos abundantes, colágeno (+++) e bom suprimento vascular (O). As colorações utilizadas foram HE (A, B, D, E, G, H, J, K, M, N) e MT (C, F, I, L, O), com aumentos de 100X para HE e 200X para MT.

#### 4. CONCLUSÕES

As suspensões coloidais baseadas em nanocristais de celulose e manana demonstraram efeitos positivos na cicatrização de feridas em modelo diabético em camundongos. Em especial, a formulação com apenas CNC (TTO3) promoveu melhor reorganização tecidual e deposição de colágeno, enquanto a formulação TTO2 (CNC:MN 6:1) destacou-se na redução da carga bacteriana e no fechamento da ferida.

Esses achados reforçam a importância da proporção entre os componentes CNC e MN para diferentes objetivos terapêuticos e demonstram o potencial dessas suspensões como biomateriais sustentáveis, de fácil aplicação e com baixa toxicidade para o tratamento de feridas crônicas em pacientes diabéticos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARMAN, P. K.; KOH, T. J. Macrophage dysregulation and impaired wound healing in diabetes. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, p. 528, 2020.

CARVAJAL-BARRIGA, E. J. et al. Nanocrystals of cellulose and mannan from ivory nuts: preparation and biomedical potential. **Gels**, v. 9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/gels9010032>.

CUONG, N. C. et al. Anti-inflammatory and antimicrobial properties of mannan derivatives. **Scientific Reports**, v. 14, p. 22363, 2024.

DING, X. et al. Challenges in diabetic wound healing. **Burns & Trauma**, v. 10, p. tkac014, 2022.

EMING, S. A.; KRIEG, T.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, p. 514–525, 2007.

FAUSTINO, M. et al. Films and coatings for wound care: role of CNC and glycerol interactions. **Foods**, v. 11, p. 3753, 2022.

GRANT, S.; SMITH, H.; MURPHY, R. The effect of prebiotics on antibiotic-resistant bacteria in skin wounds. **Frontiers in Animal Science**, v. 3, p. 1069280, 2022.

SHAN, Y. et al. Cellulose nanocrystal-based biomaterials for tissue regeneration. **RSC Advances**, v. 9, p. 22966–22975, 2019.

TIWARI, N. et al. Natural biopolymers for wound healing. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 82, p. 104319, 2023.

WALICKA, M. et al. Impact of diabetes on wound healing and amputation risks. **Journal of Diabetes Research**, v. 2021, p. 8866126, 2021.

YILDIZ, S. Y.; ONER, E. T. Applications of mannan-based nanomaterials in drug delivery. In: **Applied Nanotechnology in Drug Delivery**. 2014. DOI: <https://doi.org/10.5772/58413>.

YUN, J. et al. Streptozotocin-induced diabetes in animal models: protocol and outcomes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, p. 1932, 2023.