

AValiação DO POTENCIAL TERAPêUTICO DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE E MANANA ISOLADOS DE NOZES DE MARFIM EM UM MODELO PRé-CLíNICO DE DERMATITE ATóPICA

LETICIA F. MOURA¹; ANA PAULA B. WILLE²; VINICIUS C. PRADO³; ENRIQUE J. C. BARRIGA⁴; ANDRÉ R. FAJARDO⁵; ETHEL A. WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – leticia.fmoura@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – anapaulabonatowille@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – vini132007@gmail.com

⁴PanoMatrix – ejcarvajal@puce.edu.ec

⁵Universidade Federal de Pelotas – drefajardo@gmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano, correspondendo a aproximadamente 10 a 15% do peso corporal, atuando como a primeira barreira de proteção contra agentes externos, incluindo substâncias químicas e patógenos (PARK et al., 2021). A integridade e homeostasia cutânea pode ser comprometida por diversos fatores, incluindo doenças inflamatórias como a dermatite atópica (DA).

A DA é uma dermatose inflamatória recorrente, crônica e não infecciosa, caracterizada por coceira intensa, inflamação, vermelhidão cutânea e difícil manejo clínico (PARK et al., 2021; SCHULER et al., 2023). Aproximadamente 223 milhões de pessoas no mundo possuem diagnóstico de DA, frequentemente associado a comorbidades, como distúrbios psicossociais, incluindo humor deprimido, vergonha, repulsa e ansiedade. Tais efeitos são intensificados pela coceira crônica, pelos distúrbios do sono e pelo impacto negativo na auto-imagem (COURTNEY; SU, 2024).

No tratamento da DA, busca-se principalmente controlar a inflamação, reduzir sintomas como prurido e eritema e restaurar a integridade e homeostasia da pele (CLEBAK et al., 2023). Apesar do amplo conhecimento clínico sobre seus efeitos adversos, os corticosteroides permanecem há mais de seis décadas como terapia de referência, devido à combinação de propriedades anti-inflamatórias, antiproliferativas e imunossupressoras. Entretanto, o uso prolongado dessa classe pode provocar reações cutâneas indesejáveis, como rosácea, erupções semelhantes à acne, atrofia da pele e telangiectasias (KOWALSKA; ORLOWASKA; BEDNARCZYK, 2024).

Apesar das vantagens da administração tópica no tratamento de doenças de pele, muitas formulações ainda enfrentam limitações. Nesse contexto, biomateriais como os nanocristais de celulose (NCC) e de manana (MN), derivados da noz de marfim (tagua), que reúnem biocompatibilidade, biodegradabilidade e liberação controlada têm ganhado destaque por favorecerem a retenção do fármaco na epiderme, além de contribuírem com propriedades antimicrobianas e cicatrizantes (CARVAJAL-BARRIGA et al., 2023; LIU et al., 2023; PIRES et al., 2024). Essas propriedades qualificam esses compostos como potenciais agentes terapêuticos para o tratamento da DA.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial terapêutico de suspensões coloidais de NCC contendo MN na dermatite atópica induzida por 2,4-dinitroclorobenzeno (DNCB) em camundongos.

2. METODOLOGIA

Para a realização deste protocolo foram utilizados camundongos BALB/c, fêmeas (6 a 8 semanas) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Todos os experimentos realizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPel (CEUA nº 041709/2022-37). O modelo pré-clínico de DA foi realizado de acordo com a metodologia previamente descrita por CHAN et al., 2013, utilizando 2,4-Dinitroclorobenzeno (DNCB) para induzir lesões cutâneas semelhantes à DA (CHAN et al., 2013). Inicialmente, os animais foram divididos aleatoriamente em seis grupos experimentais ($n = 7$ animais por grupo), sendo eles: **I)** Controle, **II)** DNCB, **III)** DNCB+TTO1, **IV)** DNCB+TTO2, **V)** DNCB+TTO3 e **VI)** DNCB + Hidrocortisona (HC – medicamento de referência). Na fase de sensibilização, a região dorsal de cada animal foi depilada, e 200 μ L de DNCB 0,5% (solubilizado em acetona/óleo de oliva (proporção 3:1, v/v) foi aplicado nos dias experimentais 1, 2 e 3. Decorrido um intervalo de tempo, os animais foram novamente sensibilizados com 200 μ L de DNCB 1% na região dorsal e 20 μ L na orelha direita nos dias experimentais 14, 17, 20, 23, 26 e 29. Em relação aos tratamentos (TTO), foram administradas 3 diferentes suspensões coloidais contendo diferentes proporções de CNC e MN em propilenoglicol, respectivamente (TTO1: proporção 1:1; TTO2: 6:1 e TTO3: somente CNC).

Para a aplicação dos tratamentos, aproximadamente 60 μ L de cada suspensão coloidal foi pulverizado uniformemente uma vez ao dia sobre o sítio lesionado, do dia experimental 14 ao dia 29. Em relação à aplicação da HC, 0,5 g do creme foi aplicado uma vez ao dia sobre a lesão. A avaliação do fenótipo depressivo foi realizada no dia 29 através do teste de suspensão da cauda, de acordo com o método de STERU, THIERRY e SIMON (1985). No dia 30, parâmetros como a coceira e a gravidade das lesões no dorso dos animais foram analisadas conforme metodologias previamente descritas por KIM et al., (2014) e PARK et al., (2014), respectivamente. Após, os animais foram eutanasiados e amostras do dorso foram coletadas para análises histológicas. As análises histológicas foram realizadas com o objetivo de investigar as alterações morfológicas no tecido e a migração de células inflamatórias para as áreas lesionadas. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) e analisados por meio de análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo pós teste de Tukey quando apropriado. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A administração cutânea de DNCB induziu lesões cutâneas visíveis, como eritema, descamação e edema, com escore clínico elevado em comparação ao grupo controle (Figura 1A e Figura 1B). O tratamento com a formulação TTO1 reduziu significativamente os sinais clínicos da DA, enquanto TTO2, TTO3 e HC mostraram efeitos menos significativos. Na Figura 1C-D, o grupo DNCB apresentou maior tempo de coceira e menor latência para o primeiro episódio de coceira, confirmando a presença de prurido intenso. O tratamento com TTO1 reduziu expressivamente esse sintoma, com eficácia superior à HC.

No teste de suspensão pela cauda (Figura E), o grupo DNCB apresentou maior tempo de imobilidade, indicando um fenótipo depressivo atribuído ao impacto emocional da inflamação cutânea crônica. Todos os tratamentos reduziram significativamente esse tempo, indicando efeito benéfico sobre os aspectos emocionais associados à DA.

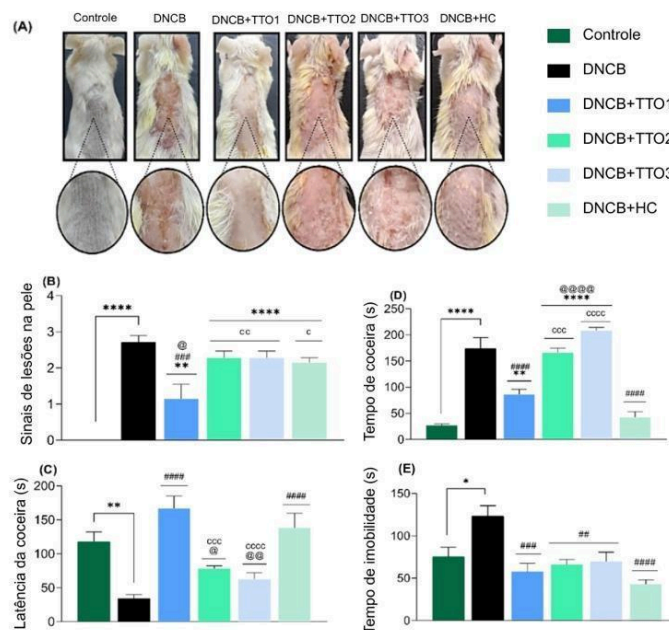


Figura 1. Efeitos da aplicação cutânea de TTO1, TTO2, TTO3 e HC nos sintomas semelhantes à DA em camundongos induzidos por DNCB. Imagens da pele dorsal (A), escores de lesão cutânea (B), latência para o primeiro episódio de coceira (C), tempo de coceira (D) e tempo de imobilidade no teste de suspensão pela cauda (E). Os dados são apresentados como média \pm E.P.M. de 7 animais por grupo e foram avaliados através de ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey quando apropriado. (*) $p < 0,05$ (**) $p < 0,01$ e (****) $p < 0,0001$ em comparação ao grupo controle; (###) $p < 0,001$ e (####) $p < 0,0001$ em comparação ao grupo DNCB; (@) $p < 0,05$, (@@) $p < 0,01$ e (@@@@) $p < 0,0001$ em comparação ao grupo hidrocortisona (HC); (c) $p < 0,05$ e (cc) $p < 0,01$ em comparação ao grupo TTO1.

A análise histológica da pele do dorso (Figura 2) evidenciou inflamação intensa no grupo DNCB, com crostas, infiltrado de neutrófilos e mononucleares da epiderme ao subcutâneo e vasos linfáticos dilatados. O tratamento com TTO1 reduziu essas alterações, apresentando apenas leve hiperqueratose e infiltrado de células inflamatórias discretas. TTO2 e TTO3 promoveram melhora parcial, mas mantiveram pústulas intraepidérmicas, hiperqueratose moderada e infiltrado inflamatório ainda presente, sendo mais intenso no TTO3, com predomínio de neutrófilos em todas as camadas da pele. O grupo HC apresentou inflamação abundante, grande pústula e colônia bacteriana, sugerindo possível infecção secundária.

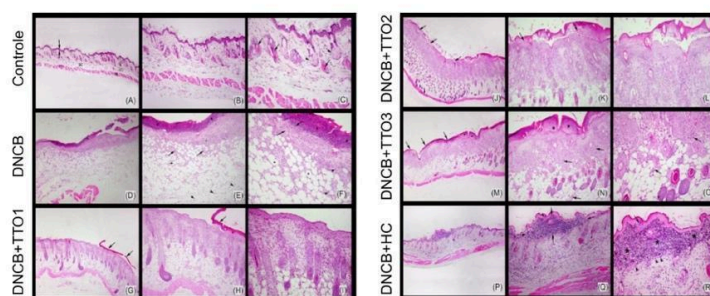


Figura 2. Imagens representativas dos cortes histológicos demonstrando as alterações morfológicas observadas na pele dorsal de camundongos

sensibilizados com DNCB e tratados topicamente com TTO1, TTO2, TTO3 ou HC corados com hematoxilina e eosina (HE). O grupo controle apresenta pele íntegra com epiderme, derme, tecido subcutâneo, camada muscular e anexos cutâneos preservados. O grupo DNCB apresenta crostas, infiltrado inflamatório abundante e vasos linfáticos dilatados. As demais imagens mostram alterações estruturais após os respectivos tratamentos. Imagens obtidas com lentes objetivas de 40×, 100× e 200×.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, a formulação TTO1 surge como uma alternativa promissora para o tratamento da dermatite atópica, especialmente por sua eficácia na redução dos sintomas cutâneos, prurido e alterações comportamentais associadas. No entanto, são necessários estudos adicionais para esclarecer os mecanismos de ação envolvidos nos seus efeitos terapêuticos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVAJAL-BARRIGA, E. J. *et al.* Opportunities for Ivory Nut Residue Valorization as a Source of Nanocellulose Colloidal Suspensions. **Gels**, v. 9, n. 1, p. 32, 2023.
- CHAN, C. C. *et al.* Effect of dehydroepiandrosterone on atopic dermatitis-like skin lesions induced by 1-chloro-2,4-dinitrobenzene in mouse. **Journal of Dermatological Science**, v. 72, n. 2, p. 149–157, 2013.
- CLEBAK, K. T. *et al.* Atopic Dermatitis. **Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 50, n. 2, p. 191–203, 2023.
- COURTNEY, A.; SU, J. C. The Psychology of Atopic Dermatitis. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 6, 2024.
- GU, Y. *et al.* Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. **Ageing Research Reviews**, v. 59, p. 101036, 2020.
- KIM, H. *et al.* 7,8,4'-Trihydroxyisoflavone attenuates DNCB-induced atopic dermatitis-like symptoms in NC/Nga mice. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, 2014.
- KOWALSKA, M. K.; ORŁOWSKA, S. M.; BEDNARCZYK, Ł. Applied Research on Atopic Dermatitis with Special Emphasis on the Role of Emollients in This Disorder: A Review. **Applied Sciences**, v. 14, n. 18, p. 8315, 2024.
- LIU, A. *et al.* Cellulose nanocrystalline from biomass wastes: An overview of extraction, functionalization and applications in drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 241, p. 124557, 2023.
- PARK, D. H. *et al.* Comparative Analysis of the Microbiome across the Gut–Skin Axis in Atopic Dermatitis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 8, p. 4228, 2021a.
- PARK, G. *et al.* Coriander Alleviates 2,4-Dinitrochlorobenzene-Induced Contact Dermatitis-Like Skin Lesions in Mice. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 8, p. 862–868, 2014.
- PIRES, P. C. *et al.* A review on natural biopolymers in external drug delivery systems for wound healing and atopic dermatitis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 263, p. 130296, 2024.
- SCHULER, C. F. *et al.* Novel insights into atopic dermatitis. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 151, n. 5, p. 1145–1154, 2023.