

434 - SUPLEMENTAÇÃO DE MELATONINA COMO ADJUVANTE DA CICATRIZAÇÃO DE LESÕES CUTÂNEAS TRATADAS COM HIDROGEL DE CELULOSE BACTERIANA EM RATOS DIABÉTICOS

Tipo: POSTER

Autores: GLÍCIA MARIA DE OLIVEIRA (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO), JAIURTE GOMES MARTINS DA SILVA (UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS), ANDERSON ARNALDO DA SILVA (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO), ISMAELA MARIA FERREIRA DE MELO (UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO)

1 INTRODUÇÃO O processo de cicatrização de feridas consiste em uma cascata de eventos coordenados após uma injúria tecidual que resulta na restauração da pele. Quanto ao tempo de fechamento podem ser classificadas como aguda ou crônica. As crônicas ocasionam consequências devastadoras para os pacientes contribuindo com grandes custos para os sistemas e sociedades de saúde, onde as despesas com hospitalização podem variar entre US\$ 12.851 a US\$ 16.267 (OLSSON, 2019). Muitos fatores estão envolvidos no retardo da cicatrização entre eles a diabetes mellitus. Os indivíduos diabéticos apresentam uma deficiência no processo de cicatrização de feridas, pois há um comprometimento da perfusão sanguínea, dificultando um adequado fornecimento de oxigênio e nutrientes (Spampinato et al., 2020). A melatonina, hormônio produzido pela glândula pineal, estudos apontam que a melatonina apresenta efeitos positivos na cicatrização de feridas, seja administrada por via tópica ou sistêmica (OZLER, 2010). Entretanto, alguns estudos têm investigado a associação deste hormônio com alguns biomateriais tais como quitosana e lectina no intuito de acelerar o processo de cicatrização, procurando assim, gerar novas opções terapêuticas (Souza et al., 2022) A celulose bacteriana (CB), trata-se de um polissacarídeo obtido a partir do melaço de cana-de-açúcar por flotação na forma de uma matriz gelatinosa, apresentando características estruturais úteis em engenharia de tecidos (PATERSON-BEEDLE et al., 2000). A CB é formada de açúcares polimerizados estáveis. É uma celulose bacteriana que se enquadra como um biomaterial promissor na área da saúde, devido à sua constituição química e características físicas (PATERSON-BEEDLE et al., 2000). Apesar dos inúmeros produtos existentes para o tratamento dessas injúrias, a ineficácia ou emergência de novas abordagens terapêuticas abre portas para o desenvolvimento de novos produtos, com o objetivo de serem mais eficientes que os tradicionais métodos ou de melhorarem sua finalidade

2 OBJETIVO Avaliar a ação adjuvante da associação da administração intraperitoneal da melatonina com um curativo de hidrogel a base de celulose bacteriana na cicatrização de feridas cutâneas em ratos diabéticos.

3 METODOLOGIA Esta pesquisa seguiu os princípios estabelecidos pelas leis brasileiras de uso e criação de animais (nº 11.794/2008), que regulam a pesquisa com animais no Brasil, sendo aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA-UFRPE), sob licença nº. 052/2019. Foram utilizados 12 ratos albinos (*Rattus norvegicus albinus*) da linhagem Wistar, com 60 dias de idade e peso aproximadamente de 250 ± 30 g. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura (22 ± 1 °C) e fotoperíodo (12h claro e 12h escuro) controlados e em regime de alimentação e ingestão de água ad libitum.

3.1 Desenho experimental e procedimentos anestésicos Os animais foram avaliados diariamente, em tempo experimental de 0 e 14 dias e, divididos aleatoriamente em 4 grupos, cada um com 3 animais. GC – Ratos não diabéticos com lesões cutâneas; GDCC - Ratos diabéticos com lesões cutâneas e tratados com cicatrizante comercial amorfo com alginato; GDCB - Ratos diabéticos com lesões cutâneas e tratados com Celulose Bacteriana; GDMCB - Ratos diabéticos com lesões cutâneas e tratados com Melatonina e Celulose Bacteriana.

3.2 Indução do diabetes Realizada pela administração intraperitoneal de solução de estreptozotocina (STZ) (Sigma Chemical Co., USA) após jejum alimentar de 14 horas e confirmado no quinto dia após a aplicação. Foram incluídos no estudo apenas animais que apresentaram glicose sanguínea acima de 200 mg/dL, exceto o grupo controle. Todos os tratamentos começaram no dia que os animais foram confirmados com diabetes.

3.3 Indução da Ferida Os animais foram anestesiados com hidrocloridrato de cetamina (80mg/kg) e xilazina (6mg/kg), por via intramuscular. As feridas foram realizadas no dorso de cada animal utilizando um punch dermatológico de 20 mm, foi excisado o fragmento cutâneo, no centro da área epilada, até a exposição da fáscia muscular. O nível de anestésico foi confirmado testando o reflexo caudal, o reflexo do pé e o movimento da vibrissa.

3.4 Tratamento com melatonina A melatonina, N-acetil-5-metoxitriptamina (Sigma Chemical

Co., St. Louis, USA) foi administrada em injeções diárias, via intraperitoneal e sempre no período das 18:00 às 19:00h, de 10 mg/Kg. 3.5 Tratamento com CB e Cicatrizante comercial (CC) A CB e o CC, foram aplicados diretamente na ferida, uma vez por dia, sendo aplicada 0,4 ml. O CC utilizado foi um hidrogel amorfo com alginato, escolhido por apresentar características físico-química semelhantes com o hidrogel de CB. O hidrogel de CB foi fornecido pela empresa POLISA®, biopolímeros para saúde.

3.6 Cálculo da taxa de cicatrização Logo após o procedimento anestésico, as feridas foram fotografadas, em seguida, as imagens foram transferidas para o computador para serem 50 analisadas pelo software Image J. A taxa de cicatrização foi calculada comparando-se a área da ferida final (Árean) com a área da ferida inicial (Areai), aplicando-se a seguinte fórmula: Taxa de cicatrização (%) = $(1 - \frac{[Areai - Arean]}{Areai}) \times 100$ (Poonawala et al., 2005). 3.7 Avaliação histopatológica As feridas foram analisadas no final do tempo experimental de 14 dias. Em seguida, os fragmentos da pele foram coletados e as amostras fixadas. Os fragmentos foram corados com hematoxilina e eosina para histopatologia e com o tricrômico de Masson para avaliação histoquímica. As lâminas foram avaliadas às cegas sendo analisada a presença ou ausência de infiltrado inflamatório, tecido de granulação e vasos sanguíneos. 3.8 Avaliação histoquímica A análise histoquímica foi realizada através da coloração do Tricrômico de Masson, onde o resultado da quantificação de colágeno foi expresso através de quantificação de pixels. As imagens foram capturadas por meio de câmera de Vídeo Sony®, acoplada ao microscópio Olympus® Bx50, as quais foram submetidas ao programa Gimp 2.0, para a quantificação por meio de Histograma RGB (Red-GreenBlue) (Lee et al., 2001; Oberholzer et al., 1996). 3.9 Avaliação morfométrica Para a avaliação morfométrica utilizou-se um microscópio óptico marca Olympus® modelo Bx 50, adaptado com uma ocular histométrica de 10x (Karl Zeiss Jena® modelo GF – P) dotada de um retículo de 100 pontos. A objetiva empregada foi de 100x. Em cada lâmina foram observados cinco campos, dois campos próximos à região de transição ferida/pele normal, em lados opostos, um campo central de fragmentos e mais dois campos da região de transição ferida/pele normal, em lados opostos do outro fragmento. Contou-se o número de fibroblastos (apresentam núcleo grande, elíptico, 51 cromatina pouco condensada e vários núcleos), macrófagos e vasos sanguíneos (Carlos Nitz et al., 2006). 3.10 Análise estatística Os dados foram submetidos à Análise de Variância, quando significativa esta foi complementada pelo teste de Comparações Múltiplas de Tukey e Kramer. Sendo adotado o nível de significância de 0,05 (P < 0,05). 4 RESULTADOS 4.1 Taxa de cicatrização da ferida A evolução da cicatrização demonstrou que aos 14 dias, as lesões nos animais dos grupos GC e GDCC mostraram diâmetros semelhantes com taxa de cicatrização de 65% para o GC e 75% o GDCC, entretanto foi evidenciada melhor desempenho cicatricial nos grupos GDCC 85% e GDCCB 98% sendo alcançada total epitelização, diferindo significativamente entre os grupo. 4.2 Análise histopatológica A análise histológica realizada aos 14 dias evidenciou a reepitelização e presença de tecido de granulação nas lesões dos animais dos grupos GC e GDCC. Já nas lesões dos animais dos grupos GDCCB e GDCCB foi verificado processo de queratinização epitelial e ausência de tecido de granulação, demonstrando total epitelização e andamento da fase de remodelamento tecidual. 4.3 Análise histoquímica A histoquímica pelo tricrômico de Masson para o colágeno total nas lesões aos 14 dias, mostrou marcação positiva em todas as lesões. Contudo, na quantificação em pixels verificou-se menor teor de colágeno nas lesões dos animais dos grupos GC 700 pixels e GDCC 900 pixels em relação aos demais grupos experimentais que apresentaram GDCCB 1.300 pixels e GDCCB 1.250 pixels. 4.4 Análise morfométrica A morfometria revelou que nas lesões tratadas com celulose bacteriana associada ou não a melatonina, mostrou um aumento significativo de fibroblastos e redução de macrófagos e vasos sanguíneos, quando comparadas às lesões dos animais dos demais grupos experimentais, que apresentaram menos fibroblastos e grande quantidade de macrófagos e vasos sanguíneos. 5. CONCLUSÃO Conclui-se que o curativo à base de celulose bacteriana, associado a suplementação de melatonina favoreceu o aumento da produção de fibroblastos, síntese e deposição de fibras colágenas como também atenuou os efeitos inflamatórios. Tendo ação adjuvante no processo cicatricial caracterizado pela reepitelização das lesões. Este é um trabalho pioneiro que impulsiona novas pesquisas para possível aplicação clínica.