TRABALHO COMPLETO
FULL PAPER
XXVII SEPE
Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão
Teaching, Research and Extension Symposium
24 A 26 DE OUTUBRO 2023
OCTOBER 24th to 26th, 2023
ISSN: 2316-9745
CIÊNCIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
SCIENCE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT
UFN Universidade Franciscana Franciscan University
https://doi.org/10.48195/sepe2023.27359

CURATIVOS FUNCIONAIS FABRICADOS POR ROTAS BIOLÓGICAS E SINTÉTICAS PARA TRATAMENTO DE LESÕES DE PELE

Carollina Fagundes Mafaldo[1]; Mateus Claudio Zinhani[2]; Aline Rossato[3]; Daniel Moro Druzian[4]; Lourdes Maria Muraro Favarin[5]; Michele Rosato Sagrillo[6]; Dirce Stein Backes[7]; Luiz Fernando Rodrigues Junior[8]

RESUMO

Ao sofrer uma queimadura, nossa epiderme passa por um complexo processo fisiológico de reparação tecidual. Os curativos inteligentes são feitos com membranas poliméricas nanométricas, enriquecidas com substâncias eficazes no tratamento das lesões. O estudo tem como objetivo desenvolver um curativo que possua ação antimicrobiana e auxilie na cicatrização celular. Foram utilizadas duas formas de funcionalização. Primeiro, foi a adição de óleo de girassol ozonizado à mistura polimérica que compõe o curativo. Já na segunda rota, as amostras passaram pelo processo de dip-coating em solução de nanopartículas de óxido de cério, obtidas por biossíntese, visando que sejam agregadas à sua superfície do filme. Posteriormente, as amostras foram submetidas aos testes celulares e de caracterização morfológica, apresentando resultados positivos de citotoxicidade, imunomodulação e regeneração das células epiteliais. Esses dados indicam a eficácia dos tratamentos escolhidos na cicatrização de lesões cutâneas por queimaduras.
Palavras-chave: Antimicrobiano; Cicatrização; Electrospinning; Queimadura.

ABSTRACT

When suffering a burn, our epidermis goes through a complex physiological process of tissue repair. Smart dressings are made with nanometric polymeric membranes, enriched with substances effective in treating injuries. The study aims to develop a dressing that has antimicrobial action and helps in cellular healing. Two forms of functionalization were used. First, was the addition of ozonized sunflower oil to the polymeric mixture that makes up the dressing. In the second route, the samples underwent the dip-coating process in a solution of cerium oxide nanoparticles, obtained by biosynthesis, with the aim of having them added to the film surface. Subsequently, the samples were subjected to cellular tests and morphological characterization, showing positive results of cytotoxicity, immunomodulation and regeneration of epithelial cells. These data indicate the effectiveness of the chosen treatments in healing skin injuries caused by burns.
Keywords: Antimicrobial; Cicatrization; Electrospinning; Burning.

Eixo Temático: Indicar 1 (um) Eixo Temático conforme consta na página do evento.

[1]Apresentador - Engenharia Biomédica, Universidade Franciscana. carollina.mafaldo@ufn.edu.br
[2] Coautor – Mestrado profissional em saúde materno-infantil, Universidade Franciscana mateus.zinhani@ufn.edu.br
[3] Coautor - Biomedicina, Universidade Franciscana. aline.rossato@ufn.edu.br
[4] Coautor – Programa de pós-graduação em Nanotecnologia. Universidade Franciscana daniel.druzian@ufn.edu.br
[5] Coautor – Engenharia Biomédica, Universidade Franciscana. lourdes.favarin@ufn.edu.br
[6] Coorientador - Biomedicina, Universidade Franciscana. sagrillomr@ufn.edu.br
[7] Coorientador – Mestrado profissional em saúde materno-infantil, Universidade Franciscana. backesdirce@ufn.edu.br
[8] Orientador - Engenharia Biomédica, Universidade Franciscana. luiz.fernando@ufn.edu.br

1 INTRODUÇÃO

As lesões cutâneas resultantes de queimaduras variam em gravidade desde as superficiais até queimaduras profundas, são frequentemente desafiadoras para os profissionais de saúde, exigindo uma compreensão abrangente das características e respostas fisiológicas desencadeadas pelo trauma térmico. A epiderme, como o maior órgão do corpo humano, desempenha um papel vital no ajuste térmico, proteção contra microrganismos patogênicos e manutenção da homeostase, sendo composta por camadas de tecidos que ao sofrer uma lesão desencadeia um processo inflamatório para conter contaminações microbianas e promover a regeneração celular (BEYLIN *et al.*, 2023; RANI RAJU *et al*., 2022; RODRIGUES *et al*., 2019).

Os polímeros têm sido amplamente empregados na área da saúde, devido a sua biodegradabilidade e biocompatibilidade com o organismo, quando associados a bioativos de liberação controlada e apresentam importantes benefícios, pois protegem os tecidos danificados, permitem trocas gasosas e mantêm o meio úmido ideal. a produção de membranas poliméricas obtidas pela técnica de eletrofiação se mostra bastante promissora, por proporcionar fibras extremamente porosas, em escala nanométrica, com topografia superficial capaz direcionar e induzir o crescimento das células epiteliais. (ELSADEK *et al*., 2022; LI *et al*., 2022).

2 METODOLOGIA

O processo de desenvolvimento do projeto foi executado em diferentes etapas, iniciando pela fabricação dos curativos inteligentes, seguido da síntese das nanopartículas de óxido de cério, funcionalização dos curativos com óleo de girassol ozonizado e realização do processo de dip-coating, finalizando com as amostras de curativos sendo submetidas aos testes de caracterização morfológica, celulares e microbiológicos.

2.1 PRODUÇÃO DOS CURATIVOS POR ELECTROSPINNING

A obtenção dos curativos inteligentes ocorreu utilizando a técnica de eletrofiação por electrospinning para produção de micro e nano fios a partir de uma

solução polimérica que compõem as fibras que formam o curativo. A matriz polimérica para fabricação do curativo consiste em uma mistura de PCL (policaprolactona) e Acetato de Celulose (AC, massa molar ~ 50.000 g/mol). A solução de PCL (9% em peso) solubilizada em acetona e a solução AC (15% em peso) foi preparada em um sistema solvente de e N- Dimetilformamida (DMF) e acetona (1:2 em peso), ambas as soluções passando por agitação magnética constante à 5 RPM em uma temperatura de 50°C durante 30 minutos e 40 minutos respetivamente. Sendo posteriormente misturadas em uma proporção (20 PCL: 80 AC) e homogeneizadas em agitação magnética em temperatura ambiente durante 30 minutos.

Em seguida está solução polimérica foi colocada em uma seringa de 10 mL e acoplada ao uma bomba de infusão, sendo apicada uma taxa de alimentação constante de 10 mL/h, impulsionando a solução por uma agulha de calibre 18G, o processo de formação dos nanofios ocorre devido a uma diferença de carga elétrica de 13kV presente no sistema, tendo uma fonte positiva conectada a agulha e uma carga negativa na base giratória, posicionada a 13 cm de distância, onde as fibras nanométricas se depositam em camadas de forma aleatória, construindo um filme polimérico de espessura muito fina.

2.2 SÍNTESE DAS NANOPATÍCULAS DE ÓXIDO DE CÉRIO

O processo de síntese verde de nanopartículas, ocorreu inicialmente com o preparo de um extrato de camomila (*Matricaria chamomilla*) para extrair os compostos fenólicos da planta, utilizados para mediar a síntese de óxido de cério a partir de sulfato de cério, durante todo o processo a mistura permaneceu em agitação magnética à temperatura ambiente, seguido de decantação por 48 horas, lavagem para remoção do hidróxido de amônio utilizado para ajuste do pH da solução e calcinação à 800 °C.

2.3 ADIÇÃO DE ÓLEO DE GIRASSOL OZONIZADO

Para funcionalização dos curativos inteligentes foram utilizados tratamentos com o objetivo de agregar propriedades importantes que otimizem sua capacidade de cicatrização. Uma destas formas foi através da adição do óleo de girassol ozonizado

diretamente durante o processo de produção dos curativos por electrospinning, no momento de mistura das soluções poliméricas de PCL e acetato de celulose, foi adicionado o óleo passando por mais 30 minutos em agitação a temperatura ambiente para atingir total homogeneização dos polímeros e solventes com o óleo de girassol ozonizado. Seguindo assim com o processo de confecção dos curativos por eletrificação, obtendo amostras em que o óleo foi incorporado dentro das nanofibras poliméricas que compõem os curativos inteligentes.

Tendo como base revisões bibliográficas sobre tratamentos em feridas tópicas utilizando óleo de girassol ozonizado, foram definidas as diferentes concentrações de 50 µL, 150 µLe 250 µL de óleo ozonizado, visando análise e comparação de várias amostras para a definição do tratamento com a concentração ideal de óleo ozonizado.

2.4 INCORPORAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CÉRIO

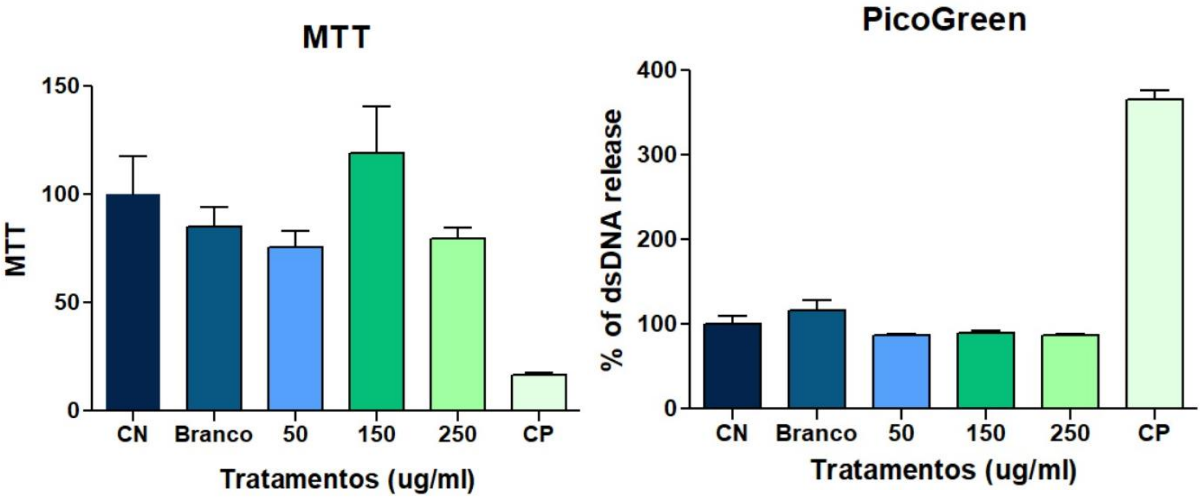
A outra forma de tratamento utilizado para agregar elementos funcionalizastes ocorreu após os curativos poliméricos já tendo sido fabricados por electrospinning, fazendo uso da metodologia de incorporação via dip-coating, que consiste na imersão das amostras de curativos em placas de petri com uma solução de diluição contendo mg de nanopartículas de óxido de cério por mL de H2O destilada, seguido de secagem durante 48h em dessecador, conferindo à superfície dos curativos inteligentes os diversos benefícios antimicrobianos e imunomoduladoras das nanopartículas de óxido de cério.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 TESTES CELULARES

Os ensaios laboratoriais de iteração entre as amostras de curativos e o meio orgânico que simulam as características fisiológicas e químicas da epiderme humana, visando analisar as atividades metabólicas celulares, apresentaram resultados positivos quanto à viabilidade e integridade celular.

Figura 1 - Testes de viabilidade celular (MTT) e de citotoxicidade (PicoGreen)



Conforme pode ser observado na Figura 1, que descreve o teste colorimétrico MTT, as porcentagens de células viáveis se mantiveram superiores à 70% em todos os tratamentos utilizados com concentrações de 50µL, 150µL e 250µL de óleo de girassol ozonizado, bem como nas amostras de filmes brancos. Podendo ser destacado maior eficácia em estimular a proliferação celular no tratamento com 150µL de óleo ozonizado, indicando potencial para otimizar o processo de regeneração das células.

Quanto aos índices de toxicidade celular demonstrados pela análise PicoGreen que quantifica a morte das células de acordo com os níveis de DNA extravasados no meio, nenhum dos tratamentos incluindo os brancos apresentou qualquer grau de citotoxicidade, sugerindo que o curativo inteligente é biocompatível e seguro, sem causar efeitos adversos ao organismo.

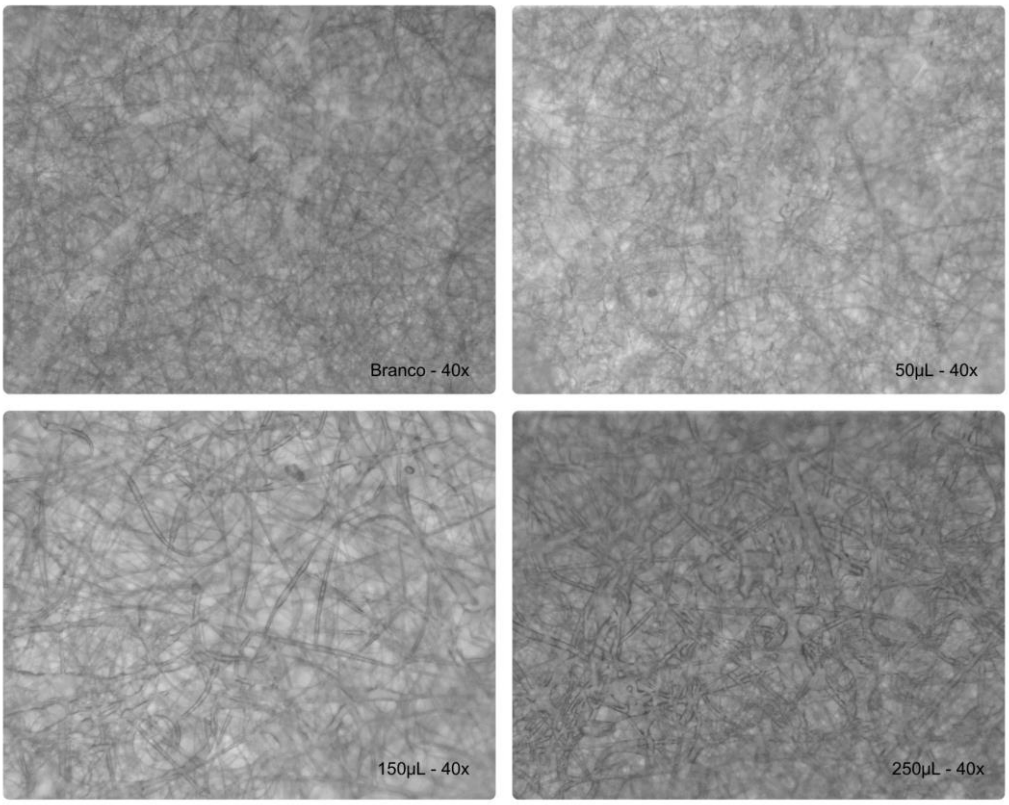
3.2 MICROSCOPIA ÓTICA

As amostras foram analisadas em microscópio ótico utilizando o aumento de 40x, podendo se observar na Figura 2, a trama de fibras nanométricas sobrepostas de forma aleatória que compõem os curativos. Sendo possível observar que no tratamento com 250µL de óleo de girassol ozonizado, que foi a maior concentração utilizada, ocorreram deformações e descaracterizações morfológica significativa dos

ISSN: 2316-9745
CIÊNCIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
SCIENCE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT
UFN Universidade Franciscana Franciscan University

nano fios, devido a uma extravasarão do óleo, constatando-se ser uma quantidade excessiva de óleo para os fins desejados de absorção controlada pelo organismo conforme metabolização com o passar do tempo estando com o curativo na ferida, baseado nesse dado, este tratamento foi descartado dos experimentos posteriores.

Figura 2 - Microscoscopia ótica das amostras no aumentro de 40x: Filme Branco, 50µL, 150µL e 250µL de óleo de girassol ozonizado respectivamente.



O tratamento de 150µL foi o que melhor apresentou uma quantidade considerável de óleo de girassol ozonizado, sem causar deformações morfológicas e mantendo a integridade das nano fibras, sendo assim a concentração a equilibrar de forma ideal as duas características necessárias.

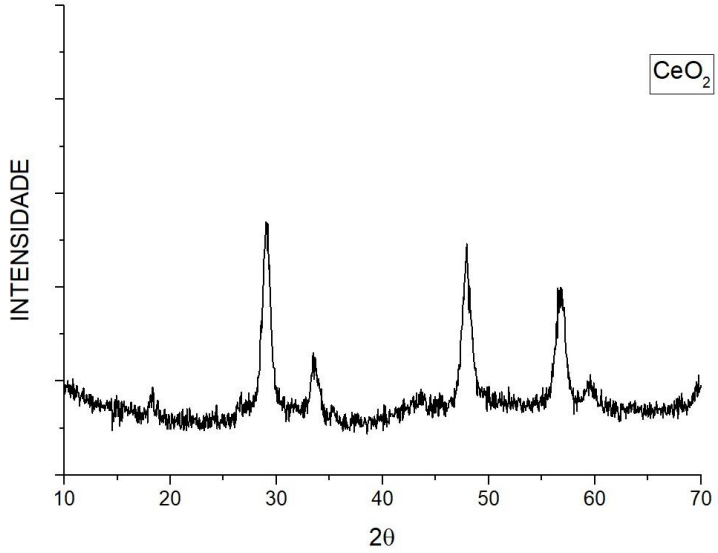
Após a constatação de resultados positivos bastante significativos nas análises por microscopia ótica e testes de viabilidade celular, o tratamento com 150µL de óleo de girassol ozonizado foi o que melhor atendeu as demandas dereminadas estabvelescendo uma relação proprociona entre a otimização da regeneração celular, boa concetração e indegridade das nanofibras, promovendo a liberação gradual do

óleo no organismo, portando foi determinado que os experimentos realizados posteriormente tivessem ênfase nas amostras contendo esse tratamento.

3.3 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Posteriormente ao processo de síntese verde das nanopartículas de Óxido de Cério (CeO_2) foi realizada análise utilizando o método da difração de raios-X (DRX), técnica que consiste na incidência um feixe de raios-X em uma amostra e na detecção dos fótons difratados, podendo assim se estudar de forma precisa a morfologia superficial e configuração cristalográfica da amostra. Com isso pode ser confirmada, como obervado na Figura 3, a presença o CeO_2, devido a presença dos picos de difração característicos da estrutura atômica como demonstrado por (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011; AHMAD *et al.*, 2021).

Figura 3 - Difratograma de raios-X da nanopartícula de CeO_2.

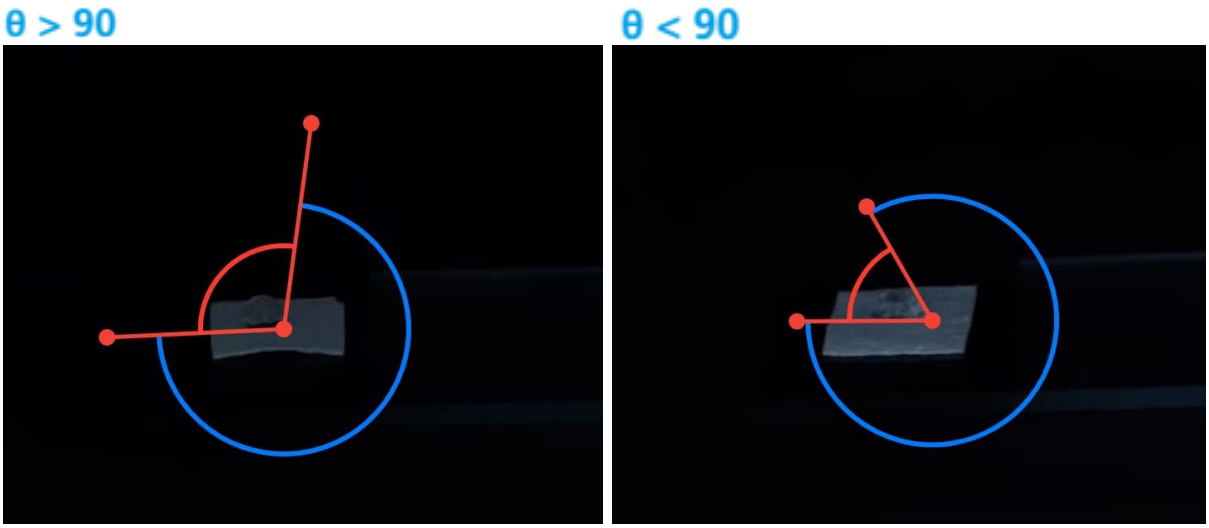


Tendo sido também averiguada a presença de algumas regiões menos cristalinas, provavelmente devido a presença residual de compostos fenólicos presentes no extrato de camomila usado na síntese, sendo necessário a utilização de um ácido durante o processo para eliminação, o que seria agressivo as nano fibras e deixaria resquícios no curativo possivelmente nocivos ao organismo, como tais compostos são orgânicos e não afetam a atuação do óxido de cério no tratamento a metodologia deu prioridade a processos e solventes orgânicos.

3.4 ÂNGULO DE CONTATO

O teste do ângulo de contato consciente em analisar o comportamento de uma única gota de água destilada com uma superfície, sendo uma medida quantitativa da molhabilidade do material através da diferença angular de absorção da gota ocorrida durante o período de 1 minuto. De acordo com a Figura 4, os índices de absorção de líquidos se mostraram satisfatórios, nos filmes brancos, nos com concentração de 150µL de óleo de girassol ozonizado e nos com tratamento com nanopartículas CeO_2. Podendo ser atestado a afinidade hidrofílica dos polímeros utilizados, bem como dos tratamentos funcionalizantes, resultado que confere ambiente ideal em questão de oxigenação e umidade para melhorar o metabolismo e acelerar o processo de cicatrização da ferida.

Figura 4 - Difratograma de raios-X da nanopartícula de CeO_2.



4 CONCLUSÃO

Diante dos diversos dados coletados ao longo do desenvolvimento estudo, pode-se concluir que os resultados obtidos foram asseguram a eficácia do óleo de girassol ozonizado e da nanopartícula de óxido de cério no tratamento de feridas tópicas causadas por queimaduras, as demandas determinadas no começo do projeto foram devidamente satisfeitas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Franciscana (UFN), ao Programa de mestrado profissional em Saúde Materno-infantil e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

REFERÊNCIAS

AHMAD, N.; ALI ALGHAMDI, A.; AL-ABDULKARIM, H.A.; MUSTAFA, G.M.; BAGHDADI, N.; ALHRTHI, F.A. Structural, Morphological, and Electrochemical Performance of CeO2/NiO Nanocomposite for Supercapacitor Applications. **Applied. Sciences.** 2021, 11, 411. Disponível em: https://doi.org/10.3390/app11010411.

BEYLIN, D.; HAIK, J.; BIROS, E.; KORNHABER, R.; CLEARY, M.; HARATS, M.; COHN, D.; SAPIR, Y.; WEISBERG, O. Smart Polymeric Wound Dressing for Treating Partial – Thickness Burns: A Preliminary Preclinical Study on the Porcine Model. **Eur. Burn J.** April 20, 2023-34. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ebj4010004.

DE OLIVEIRA, M. J. C. et al. 6. Síntese de óxido de cério (CeO2) com alta área superficial por meio do método Hidrotérmico assistido por microondas. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 3, 2011. Disponível em: http://www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/viewFile/249/223.

ELSADEK, N. E., NAGAH, A., IBRAHIM, T. M., CHOPRA, H., GHONAIM, G. A., EMAM, S. E., CAVALU, S., ATTIA, M. S. Electrospun Nanofibers Revisited: An Update on the Emerging Applications in Nanomedicine. **Materials**, 15(5). 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ma15051934.

LI, T.; SUN, M.; WU, S. State-of-the-Art Review of Electrospun Gelatin-Based Nanofiber Dressings for Wound Healing Applications. **Nanomaterials** 2022, 12, 784. Disponível em: https://doi.org/10.3390/nano12050784.

RANI RAJU, N.; SILINA, E.; STUPIN, V.; MANTUROVA, N.; CHIDAMBARAM, S.B.;

ACHAR, R.R.; Multifunctional and Smart Wound Dressings – A Review on Recent Research Advancements in Skin Regenerative Medicine. **Pharmaceutics**, June 19, 2022, 14, 1574. Disponível em: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081574

RODRIGUES, M., et al. Wound healing: A cellular perspective. **Physiological Reviews**, 99(1), 665–706. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017.