

DESENVOLVIMENTO DE NANOCARREADORES DE VITAMINAS DO COMPLEXO B PARA USO NA TERAPÊUTICA TÓPICA DE ÚLCERAS VENOSAS DE MEMBROS INFERIORES

Alberto Galdino da Silva Jr¹; César Augusto Souza de Andrade²

¹Estudante do Curso de Biomedicina - CCB – UFPE. E-mail: albertogaldino16@gmail.com

²Docente/pesquisador do Depto de Bioquímica – CCB – UFPE. E-mail: csrandrade@gmail.com.

Sumário: A úlcera venosa constitui-se um problema de saúde pública no Brasil, devido ao índice de 3% da população apresentar a lesão. Ela surge, inicialmente, em detrimento da insuficiência venosa crônica, que levará a um quadro de hipertensão venosa, culminando em dano tecidual e aparecimento da úlcera, associado ao aumento da homocisteína. Neste estudo, objetivou-se a preparação de um hidrogel baseado em alginato com as vitaminas piridoxina, folato e cobalamina, cujos níveis encontram-se diminuídos em pacientes com essas úlceras para aplicação tópica, o qual foram realizadas análise morfológica por microscopia óptica, indicando a boa dispersão das vitaminas, testes de cinética de liberação e de estabilidade que demonstraram que o hidrogel em questão apresenta uma liberação das vitaminas adequada para ser usado nas úlceras, o qual a aplicação mostrou-se eficaz na cicatrização total das úlceras venosas, que são consideradas de difícil cicatrização, indicando ser uma iniciativa inovadora no seu tratamento.

Palavras-chave: alginato; úlceras venosas; vitaminas

INTRODUÇÃO

Úlceras venosas aparecem quando as válvulas venosas não funcionam adequadamente, causando o acúmulo de sangue na região da perna, com conseqüente aparecimento de varizes. O aumento de pressão devido a congestionamento de sangue em varizes provoca a filtração de fluidos e outros componentes do sangue no sistema vascular para os tecidos. Tal ação prejudicará o abastecimento dos tecidos com oxigênio e nutrientes, levando ao aparecimento de uma pequena ferida, podendo evoluir para uma úlcera (FRANÇA e TAVARES, 2004). A deficiência de vitaminas do complexo B, sobretudo folato, determina estresse oxidativo e lesão tecidual, em virtude do acúmulo de homocisteína. Ela é um aminoácido não essencial, formado como produto intermediário do metabolismo da metionina e que apresenta um grupamento sulfidríla responsável por suas propriedades oxidativas (MARTÍ-CARVAJAL, SOLÀ e LATHYRIS, 2015). Pacientes com insuficiência venosa crônica e úlcera venosa apresentam níveis mais elevados de homocisteína (HANKEY e EIKELBOOM, 1999; STOUGH *et al.*, 2011). Assim, a associação de algumas vitaminas que atuam na síntese de proteínas, no crescimento celular epitelial, aumento da microcirculação, e que tenham efeito antioxidante, irá constituir uma alternativa tópica para cicatrização de úlceras venosas de membros inferiores, e que também levará à diminuição local dos níveis de homocisteína (FENECH, 2001), o qual tais vitaminas são a piridoxina (B6), folato (B9) e cobalamina (B12). O alginato de sódio tem sido amplamente utilizado devido a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixo custo. Ele é utilizado como hidrocolóide e agente geleificante, pois forma gel com cátions multivalentes como o Ca^{2+} . Ele é utilizado em curativos de feridas em virtude de suas propriedades hemostáticas. Portanto, o uso tópico do hidrogel de alginato como carreador de vitaminas do complexo B atuaria na diminuição da inflamação local, estímulo da multiplicação celular e aumento do leito microvascular nutridor, favorecendo as condições

locais propícias para o crescimento celular, facilitando a aproximação dos bordos da úlcera e acelerando o processo de cicatrização.

MATERIAIS E MÉTODOS

O projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa da UFPE e registrado com o número de protocolo 15974213.6.0000.5208. O hidrogel de alginato com as vitaminas foi homogeneizado em agitador mecânico. A análise morfológica foi realizada através de microscopia óptica. Os testes de estabilidade acelerada do hidrogel foram realizados através de estresse mecânico de 150 oscilações por minuto a 37° C durante 48 horas, centrifugação a 1.300 g por 1 hora e congelamento a $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ por 16 horas seguido de descongelamento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 8 horas. A cinética de liberação foi realizada durante 15 dias em intervalos de 48h e mensurada através de espectrofotometria UV-VIS. O estudo contará com amostra não probabilística de 8 pacientes oriundos do ambulatório de cirurgia vascular do Hospital das Clínicas da UFPE. Homens e mulheres entre 30 e 80 anos de idade, portadores de úlcera de membro inferior de etiologia venosa, capacidade de entendimento necessário para realização de curativos e que concordem com o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foram incluídos no estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a análise morfológica das amostras, realizada por fotografia convencional (Figura 1a) e microscopia de luz (Figura 1 b em aumento de 400x), os quais demonstraram a obtenção de um sistema homogêneo com boa dispersão das vitaminas. O gel apresenta uma superfície lisa e brilhosa, de cor âmbar e apresentou um pH = 7.

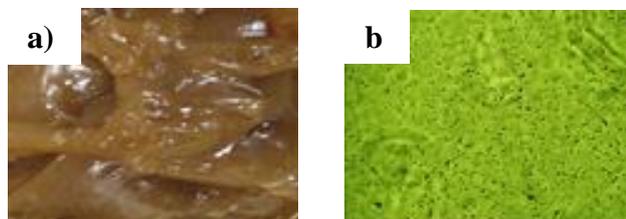


Figura 1. Fotografia convencional do hidrogel de alginato com vitaminas (Fig. 1 a) e microfotografia de luz em 400x (Fig. 1 b).

Em relação aos testes de estabilidade acelerada, o hidrogel com vitaminas foi exposto a estresse mecânico de 150 oscilações por minuto a 37° C durante 48 horas, centrifugação a 1.300 x grama por 1 hora e congelamento a $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ por 16 horas seguido de descongelamento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por 8 horas. Obteve-se, ao final dos testes nenhuma alteração visível e da consistência do hidrogel de alginato, em cor bege e consistência pastosa inalterados, comprovando a estabilidade desse composto.

No que se refere aos espectros de absorção para a cinética de liberação das vitaminas, seus valores foram adquiridos por meio da técnica da espectrofotometria, na faixa UV-VIS o qual as amostras foram diluídas em água deionizada com pH = 6,7. Os picos de absorbância próximos aos comprimentos de onda descritos na literatura de 253 nm para piridoxina (GHASEMI e VOSOUGH, 2007), 280 nm para o folato (OFF *et al.*, 2005), 361 nm para cobalamina (KRUSZYNA *et al.*, 1998) foram utilizados para o cálculo da cinética de liberação das três vitaminas contidas no hidrogel. As análises das cinéticas de liberação (Gráfico 1) demonstraram uma cinética lenta e gradual com pico de liberação máximo em torno de 7 dias para as três vitaminas. Os valores do R-quadrado

ajustado foram de $0,9043 \pm 0,0810$, $0,8552 \pm 0,0975$ e $0,9360 \pm 0,0252$ respectivamente para as vitaminas B6, B9 e B12.

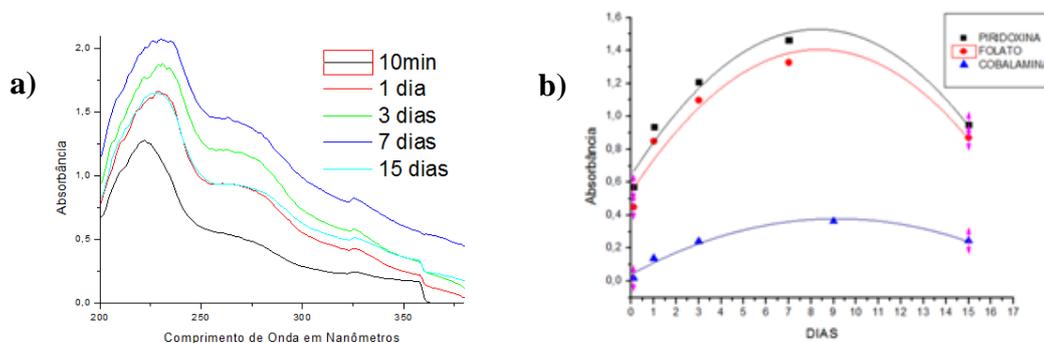


Gráfico 1. (a) Espectroscopia das vitaminas piridoxina, folato e cobalamina presentes no hidrogel de alginato. Análise espectrométrica realizada com 10 minutos e com 1, 3, 7 e 15 dias após síntese de hidrogel. (b) Cinética de liberação das vitaminas contidas em hidrogel de alginato durante um tempo de 15 dias.

A aplicação o hidrogel com vitaminas foi realizada em pacientes portadores de úlceras de membros inferiores oriundos do Hospital das Clínicas da UFPE, tratados através de curativos com soro fisiológico 0,9% para limpeza primária da área e compressão local. A compressão foi realizada através de duas camadas de bandagens até nível de joelho.

Foi observada marcante cicatrização das úlceras venosas de diferentes tamanhos e formas. Reiterando que tais úlceras de origem venosa são de difícil cicatrização, chegando a vários pacientes terem estado com sua úlcera aberta num tempo de vários meses a anos utilizando tratamentos convencionais com outros curativos e com uso dos triglicerídeos de cadeia média, os resultados obtidos acima se mostraram extremamente satisfatórios, com fechamento total da úlcera em um tempo relativamente curto.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o hidrogel de alginato desenvolvido neste trabalho possui uma liberação gradual das vitaminas do complexo B presente no meio, antes e depois dos testes de estabilidade. As análises morfológicas demonstraram a obtenção de um sistema homogêneo e com boa dispersão das vitaminas. As análises das cinéticas de liberação demonstraram uma cinética lenta e gradual com pico de liberação máximo em torno de sete dias para as três vitaminas. O tratamento das úlceras dos pacientes mostrou-se excelente e satisfatório quando em comparação com os padrões estabelecidos atualmente no tratamento de úlceras venosas, com rápida cicatrização por em média 30 dias. Os resultados obtidos demonstraram a eficiência do sistema proposto para o tratamento de úlceras venosas de membros inferiores. O sistema obtido se apresenta como uma excelente alternativa para o tratamento de úlceras.

AGRADECIMENTOS

Ao Hospital das Clínicas pelo espaço cedido para a aplicação do hidrogel nos pacientes e à CAPES e ao CNPq pela bolsa cedida.

REFERÊNCIAS

FENECH, Michael. The role of folic acid and Vitamin B12 in genomic stability of human cells. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 475, n. 1, p. 57-67, 2001.

FRANÇA, Luís Henrique Gil; TAVARES, Viviane. Insuficiência venosa crônica: uma atualização. 2003.

GHASEMI, J.; VOSOUGH, M. Simultaneous spectrophotometric determination of folic acid, thiamin, riboflavin, and pyridoxal using partial least-squares regression method. **Spectroscopy letters**, v. 35, n. 2, p. 153-169, 2002.

KRUSZYNA, Harriet et al. Spectroscopic studies of nitric oxide (NO) interactions with cobalamins: reaction of NO with superoxocobalamin (III) likely accounts for cobalamin reversal of the biological effects of NO. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 285, n. 2, p. 665-671, 1998.

MARTÍ-CARVAJAL, Arturo J. et al. Homocysteine lowering interventions for preventing cardiovascular events. **The Cochrane Library**, 2009.

HANKEY, Graeme J.; EIKELBOOM, John W. Homocysteine and vascular disease. **The Lancet**, v. 354, n. 9176, p. 407-413, 1999.

OFF, Morten Kristian et al. Ultraviolet photodegradation of folic acid. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 80, n. 1, p. 47-55, 2005.