

RESUMO

O aumento dos relatos do número de casos de Dengue, Zika e Chikungunya, levou a novos estudos referentes ao desenvolvimento de repelentes alternativos contra insetos, visando maior eficácia e menor toxicidade. Mesmo com a eficiência dos produtos existentes e a fácil aplicação, atualmente a maior preocupação se dá em relação ao potencial tóxico dos produtos, tanto para os organismos como para o ambiente, principalmente devido a forma de utilização aleatória dos produtos. Conforme relatado na literatura existe cada vez mais evidências de que os repelentes de insetos podem desencadear interações indesejáveis com o sistema biológico, podendo gerar efeitos nocivos diretos aos organismos ou produção de metabólitos intermediários indesejáveis. Problemas com a biotransformação e bioacumulação dos compostos presentes nestes repelentes podem ser a causa de uma resposta tóxica do produto. Nesse contexto, o desenvolvimento de um repelente com base botânica pode ser uma alternativa viável e mais segura, aliado a isto, a utilização de nanopartículas de zeína pode atribuir a este maior tempo de atividade. O nanorepelente avaliado neste estudo é constituído por icaridina e geraniol, compostos que se destacam pela eficácia de repelência, porém apresentam citotoxicidade pronunciada, logo a encapsulação se deu com o intuito de reduzir seus efeitos tóxicos, originando um produto sustentável e seguro. O objetivo desse trabalho foi avaliar a toxicidade de nanopartículas de zeína contendo icaridina e geraniol (NP_I+G), em dois modelos de cultura *in vitro* utilizando diferentes linhagens celulares em forma de monocultura (cultura 2D) e co-cultura. Para isto, foram realizadas análises de citotoxicidade indireta através dos ensaios de redução do sal de tetrazólio com os reagentes MTT, MTS, WST-8 e direta por rompimento de membrana por exclusão com azul de Tripán. As análises de genotoxicidade foram realizadas por meio do ensaio Cometa, também foram realizadas avaliação do potencial inflamatório com a expressão gênica através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR), utilizando primers específicos para os genes CXCL8 (IL-8), CCL22 (MDC), CCL5 (RANTES), CCL17 (TARC), NLRP3, AIM2 e ASC. Os resultados mostraram que as NP_I+G, quando avaliadas em culturas 2D, apresentaram viabilidade celular indireta acima de 70 % e direta acima de 95 %. A avaliação da genotoxicidade não apresentou diferença significativa, em relação ao controle, para culturas expostas as NP_I+G. Os resultados da avaliação do potencial inflamatório apresentaram diferenças significativas apenas para duas linhagens, a THP-1 onde as alterações foram observadas em todos os genes avaliados e na linhagem HT-29, onde não foram observadas alterações apenas na expressão do gene TARC. A avaliação em modelos de co-cultura mostrou viabilidade acima de 60 e 95 % para as técnicas indireta e direta, respectivamente, não sendo observadas diferenças significativas para a genotoxicidade após 6 horas. No entanto, na avaliação da linhagem THP-1 presentes no compartimento basal das co-culturas compostas por insertos de A549, HaCaT e HT-29, apresentaram diferenças significativas, quando comparadas ao controle, em relação a expressão dos genes envolvidos com processos inflamatórios, indicando necessidade de mais estudos para que este nanorepelente possa ser utilizado com segurança.

Palavras-chave: Nanopartículas de zeína. Icaridina. Geraniol. Citotoxicidade. Genotoxicidade. Expressão gênica.

ABSTRACT

The increase in Dengue, Zika and Chikungunya reports, has led to new studies regarding the development of alternative insect repellents, which aim at greater efficacy and less toxicity. Even with the efficiency of the existing products and the easy application, currently the biggest concern is regarding the toxic potential of the products, for organisms and the environment, mainly due to the products overuse. As reported in the literature, there is increasing evidence that insect repellents can trigger undesirable interactions with biological systems, which can lead to direct harmful effects in organisms or the generation of undesirable intermediate metabolites. Problems with the biotransformation and bioaccumulation of the compounds present in these repellents can be the cause of a toxic product response. In this context, the development of a botanical-based repellent can be a viable and safer alternative, furthermore, the use of zein nanoparticles can attribute to this increased activity time. The nanorepellent evaluated in this study consists of icaridin and geraniol, compounds stand out for their repellency efficacy, but present pronounced cytotoxicity, therefore the encapsulation took place to reduce their toxic effects, developing a sustainable and safe product. This work aimed to evaluate the toxicity of zein nanoparticles containing icaridin and geraniol (NP_I+G), in two *in vitro* culture models using different cell lines in the form of monoculture (2D culture) and co-culture. For this, indirect cytotoxicity analyzes were carried out through the tetrazolium salt reduction assays with the reagents MTT, MTS, WST-8 and direct by membrane rupture by exclusion with Trypan blue. Genotoxicity analyzes were performed using Comet assay, evaluation of the inflammatory potential, by gene expression was also performed applying the Real Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) technique, using specific primers for the CXCL8 (IL-8), CCL22 (MDC), CCL5 (RANTES), CCL17 (TARC), NLRC4, NLRP3, AIM2 and ASC genes. The results showed that NP_I+G, when evaluated in 2D cultures, showed indirect cell viability above 70 % and direct viability above 95 %. The evaluation of genotoxicity showed no significant difference, in relation to control, for cultures exposed to NP_I+G. As to the evaluation of the inflammatory potential, significant differences presented only for two strains, THP-1, where changes were observed in all evaluated genes and in the HT-29 line, where only the TARC expression displayed no significant difference. The evaluation in co-culture models presented viability above 60 and 95 % for indirect and direct techniques, respectively, with no significant differences for genotoxicity after 6 hours. However, in the evaluation of the THP-1 strain situated in the basal compartment of co-cultures composed of A549, HaCaT and HT-29 inserts, they showed significant differences, when compared to control, regarding the expression of the genes involved in inflammatory processes, indicating the need for further studies so that this nanorepellents can be used safely.

Key words: Zein nanoparticle. Icaridin. Geraniol. Cytotoxicity. Genotoxicity. Gene expression.