

ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA DE LIPOSSOMAS CONTENDO UMA FRAÇÃO SEMI-PURIFICADA DA PLANTA *TRICHILIA CATIGUA* (CATUABA) EM CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE ISQUEMIA CEEBRAL – PARTE I: AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE TÉCNICA E BIOLÓGICA

Joshua Yamakami (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Luana Yukari Chinen, Humberto Milani (Orientador). E-mail: hmilani@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea de conhecimento: Farmacologia, Neuropsicofarmacologia.

Palavras-chave: Isquemia cerebral; *Trichilia catigua*; Lipossomas.

RESUMO

Isquemia cerebral é uma condição clínica severa que decorre, mais frequentemente, da oclusão de um ou mais vasos sanguíneos cerebrais (típico AVC), ou de uma parada cardíaca reversível (não-fatal), deixando sequelas incapacitantes. Estudos anteriores do nosso laboratório, demonstraram que o tratamento com a fração acetato de etila (FAE, 400 mg/kg) preparada a partir da planta *Trichilia catigua* (catuaba) reduziu tanto o déficit de memória, quanto o estresse oxidativo desencadeados pela isquemia cerebral em ratos. Nesse projeto de IC objetivamos avaliar 1º) a viabilidade biológica da administração intravenosa (I.V) de uma solução de lipossomas contendo a FAE de *T. catigua*, e 2º) se tal tratamento protege contra o estresse oxidativo desencadeado pela isquemia. Resultados: A administração I.V. de lipossomas contendo a FAE se mostrou plenamente viável, pois não houve nenhuma alteração comportamental que indicasse a inviabilidade de tal administração. Detectamos, contudo, um leve e temporário aumento da temperatura retal, refletindo, provavelmente um estado febril passageiro. A avaliação sobre o efeito antioxidante dos lipossomas administrados por via I.V. não foi conclusiva, pois, inesperadamente, a isquemia não provocou a resposta de estresse oxidativo (grupo controle isquêmico), resultado este que diverge de experimentos anteriores deste laboratório.

INTRODUÇÃO

A doença cerebral isquêmica, aguda ou crônica, é uma condição clínica grave, decorrente de múltiplas causas. Após um evento cerebral isquêmico, entretanto, a lesão cerebral, em maior ou menor grau, é uma consequência imediata, deixando sequelas parcial ou totalmente irreversíveis. Em continuidade a estudos anteriores deste laboratório, o objetivo desse projeto de IC consistiu em averiguar a viabilidade biológica da administração intravenosa de uma formulação lipossômica da FAE

(FAE-Lip). Caracteristicamente, substâncias polifenólicas contidas em extratos vegetais têm baixa biodisponibilidade oral, o que demanda o uso de altas doses. O emprego de lipossomas como sistema de liberação de fármacos pode melhorar a solubilidade e biodisponibilidade dos princípios ativos de uma planta ou seu extrato (Saraf, 2021; Bozzuto & Molinari, 2015). Assim, esse estudo é preliminar, com vistas a avaliar a eficácia pré-clínica de lipossoma contendo a FAE de *T. catigua* num modelo animal de isquemia cerebral global e transitória (ICGT).

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Ratos Wistar (180-230 g) foram alojados com ciclo de luz controlado, temperatura ambiente $22 \pm 1^\circ\text{C}$, e acesso livre à água e ração. Todos os procedimentos seguiram aprovação ética do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA nº 1399190422).

Viabilidade biológica da administração intravenosa da solução de lipossoma da FAE

Ratos intactos foram levemente anestesiados em uma cuba saturada com isoflurano, possibilitando a correta administração dos lipossomas da FAE (0,14 mg/kg, i.v., 1 ml/kg) através da veia peniana. Após recuperação da anestesia, os animais foram observados quanto ao seu bem-estar geral, atentando-se para manifestações de comportamentos considerados atípicos, como piloereção, tosse/espirros, postura corporal diferente do habitual, movimentação em campo aberto, presença de tremores, convulsão ou mesmo morte.

Isquemia cerebral

Os animais foram anestesiados usando a mistura de isoflurano/oxigênio liberada através de uma máscara fixada no focinho do animal. A ICGT foi induzida conforme o modelo de oclusão do 4-vasos, ou seja, oclusão permanente das artérias vertebrais, seguida da oclusão transitória (15 minutos) das artérias carótidas comuns, conforme rotina deste laboratório. Uma hora após a cirurgia, os animais receberam a injeção I.V. de lipossomas da FAE, ou veículo (salina).

Estresse oxidativo

O estresse oxidativo resultante da isquemia foi avaliado através da atividade das enzimas superóxido dismutase (SDO) e catalase (CAT), nível de carbonilação proteica (CBP), e lipoperoxidação (TABARS, *tiobarbituric acid reactive substances*). Essas medições seguiram a metodologia de estudos anteriores (Godinho et al., 2018, Oliveira et al., 2023) em colaboração com o Laboratório de Oxidações Biológicas do Departamento de Bioquímica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Viabilidade biológica da administração intravenosa da solução de lipossoma da FAE

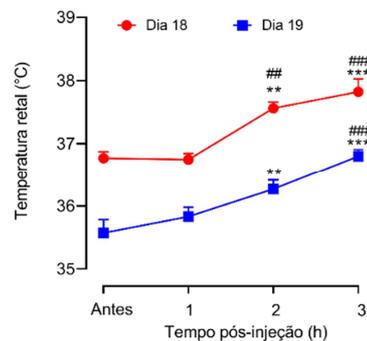


Figura 1 – Temperatura retal medida antes e 1, 2 e 3 horas após a injeção I.V. de lipossoma da FAE, em dois dias subsequentes (18 e 19). Os valores são a média +/- EPM. Sample, n=10. **p < 0.01; ***p < 0.0001 comparado ao basal (Antes); #p < 0.01; ###p < 0.0001 comparado à 1ª. hora.

Quanto ao comportamento geral do animal, não detectamos nenhuma alteração que pudesse indicar algum efeito deletério da administração I.V. de lipossomas. Deduzimos, portanto, que a administração I.V. da solução de lipossoma da FAE é um procedimento biologicamente viável. Entretanto, observamos uma leve e transitória alteração da temperatura retal. A figura 1 mostra a variação de temperatura retal medida antes (basal) da administração I.V. de lipossoma, e até 3 horas após, em dois dias subsequentes de administração (Dias 18 e 19). No Dia 18, a temperatura se elevou de $36.7 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ (basal) para $37.8 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ após a 3ª. hora pós-administração ($p < 0.001$). Padrão semelhante foi observado no Dia 19 ($35.6 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (basal) para $36.8 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ após a 3ª. hora; $p < 0.001$), indicando, talvez, um leve estado febril. A temperatura retal também foi diferente entre os dias 18 e 19 ($p < 0.001$). Não temos uma explicação para as diferenças significativas de temperatura de um dia para o outro, no mesmo animal, antes e após as injeções.

Extresse oxidativo

A figura 2 mostra que a isquemia cerebral não resultou em exacerbação do estresse oxidativo (grupo Isch/Veh vs. grupo Sham, $p > 0.05$), ou seja, não houve indução do estresse oxidativo. Comparado com estudos anteriores, esse resultado foi algo inesperado, não permitindo qualquer conclusão acerca do suposto efeito antioxidante do lipossoma da FAE (grupo Isch/Lip).

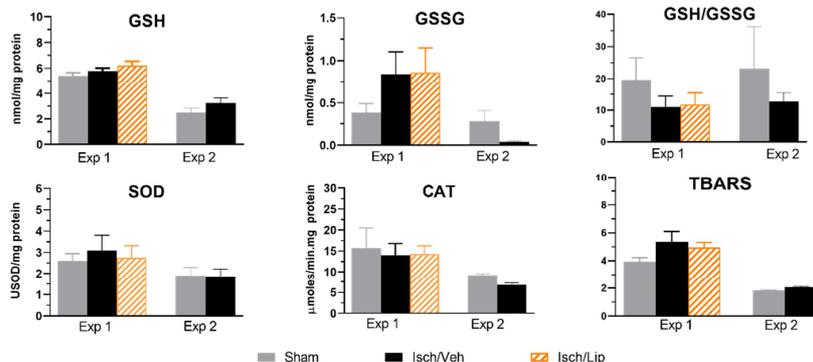


Figura 2 – Efeito do tratamento com FAE-Lip (0.14 mg/kg/ml, I.V.) sobre o estresse oxidativo induzido por isquemia cerebral. GSH (glutathiona reduzida), GSSG (glutathiona oxidada), SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase), TBARS (substância reativa ao ácido tiobarbitúrico). O experimento 2 (Exp. 2) foi conduzido somente com os grupos 'sham' e isquêmico/veículo (Isch/Veh) para certificarmos a falta de efeitos da isquemia durante o experimento com o lipossoma (Exp 1). Sham = controle, Isch/Veh = ischemia + veículo, Isch/Lip = isquemia + lipossoma.

CONCLUSÃO

A administração intravenosa da solução de lipossoma provou ser um procedimento viável, apesar do efeito possivelmente pirogênico, porém, transitório. A conclusão quanto ao efeito antioxidante do lipossoma elaborado a partir de um extrato (FAE) da planta *Trichilia catigua* (catuaba) não pôde ser alcançada, pois a isquemia, por si, não provocou o estresse oxidativo. Esse resultado foi inesperado, pois não reproduziu dados anteriores deste laboratório. Não temos, ainda, uma explicação para a tal resultado. Experimentos futuros deverão investigar possíveis falhas metodológicas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária, CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro. E, também um agradecimento especial ao Prof. Dr. Humberto Milani e Me. Luana Yukari Chinen pela orientação na vigência deste projeto.

REFERÊNCIAS

GODINHO, J. et al. Ethyl-acetate fraction of *Trichilia catigua* restores long-term retrograde memory and reduces oxidative stress and inflammation after global cerebral ischemia in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 337, p. 173–182, 30 jan. 2018.

OLIVEIRA D. V. et al. Delayed administration of a *Trichilia catigua* lyophilized extract prevents oxidative stress, stimulates dendritic/synaptic plasticity, and restores memory function after global cerebral ischemia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 24; p. 306:116176, 15 jan. 2023

SARAF, S. Applications of novel drug delivery system for herbal formulations. **Fitoterapia**, v. 81, n. 7, p. 680–689, out. 2010.

BOZZUTO, G.; MOLINARI, A. Liposomes as nanomedical devices. **International Journal of Nanomedicine**, v. 10, p. 975, fev. 2015.