

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA IVERMECTINA NA FLUIDEZ E ORGANIZAÇÃO DA BICAMADA LIPÍDICA DE LIPOSSOMAS

Ana Carolina Cemensati (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Pedro Furquim Lanza Alves (PFS/CCB/UEM), Sophia Hellen de Assis Domingues (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Kellen Brunaldi (Orientadora).
E-mail: kbrunaldi@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Biofísica/Biofísica Celular

Palavras-chave: antiparasitário; fluorescência; membrana.

RESUMO

A ivermectina (IVM) é um antiparasitário de amplo espectro cujo mecanismo de ação vai além da modulação de canais iônicos, incluindo interações com membranas biológicas. Neste estudo, avaliamos os efeitos da IVM em lipossomas do tipo LUV (*large unilamellar vesicles*) de POPC, um modelo biomimético de membrana livre de proteínas. A análise de fluorescência da sonda lipofílica pireno, inserida na bicamada lipídica de LUVs, revelou uma redução significativa e dose-dependente da razão excímero/monômero (E/M), indicando diminuição da fluidez da bicamada lipídica. Paralelamente, medidas de espalhamento dinâmico de luz mostraram aumento do diâmetro hidrodinâmico (DH) e do índice de polidispersividade (IP), sugerindo aumento da espessura da bicamada e maior heterogeneidade da população de lipossomas. Em concentrações mais elevadas, observou-se ainda o surgimento de uma segunda população de lipossomas de grande diâmetro. Esses resultados demonstram que a IVM promove alterações estruturais relevantes na bicamada lipídica, o que amplia a compreensão de seus mecanismos de ação e potenciais efeitos celulares.

INTRODUÇÃO

A ivermectina (IVM), agente antiparasitário amplamente utilizado, apresenta um mecanismo de ação complexo que envolve tanto a modulação de canais iônicos quanto interações diretas com a bicamada lipídica. Sua elevada hidrofobicidade, associada à baixa permeabilidade, favorece o seu acúmulo no folheto externo da membrana (RANA et al., 2021), onde pode alterar propriedades biofísicas essenciais, como a fluidez de membrana — parâmetro crucial para a regulação da atividade de proteínas de membrana, da sinalização celular e do tráfego vesicular (RENNE; ERNST, 2023). Assim, neste estudo, utilizamos lipossomas, modelos biomiméticos livres de proteínas, para investigar os efeitos da IVM na fluidez e na organização estrutural da bicamada lipídica, avaliada pelo diâmetro hidrodinâmico.

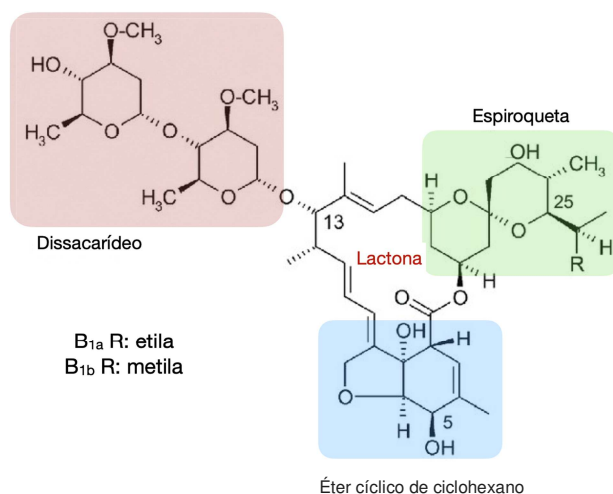


Figura 1 - Estrutura molecular da ivermectina (IVM). A IVM consiste em uma mistura de dois homólogos, 80% de 22,23-dihidroaivermectina B1a e 20% de 22,23-vidihidroaivermectina B1b.

MATERIAIS E MÉTODOS

Lipossomas do tipo LUV (*large unilamellar vesicle*) de palmitoiloleoilfosfatidilcolina (POPC) foram preparados pelo método de filme fino, seguido de extrusão (filtro de policarbonato de 100 nm) em tampão trizma base 25 mM e KCl 150 mM (pH 7,4). As LUVs (300 μ M de POPC) foram incubadas com a sonda fluorescente pireno (9 mol% em relação ao POPC) por 1 hora. As medidas de fluorescência no estado estacionário foram realizadas com um fluorímetro Cary Eclipse Varian. O pireno foi excitado em 340 nm e a razão E/M (I_{375}/I_{473}), que reporta a fluidez de membrana, foi calculada. O diâmetro hidrodinâmico (DH) e o índice de polispersividade (PI) foram determinados por meio de um Analisador de Nanopartículas (NanoPlus®).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta os espectros de emissão do pireno em uma preparação de LUVs de POPC e os valores médios da razão E/M. A IVM promoveu, de forma dose-dependente, aumento da intensidade dos monômeros (375–400 nm) e redução dos excímeros (470–490 nm), resultando em diminuição significativa da razão E/M. Esses resultados indicam ligação da IVM à membrana com redução da fluidez da bicamada lipídica na região das cadeias apolares dos fosfolipídios.

A Figura 3 apresenta a distribuição do diâmetro hidrodinâmico (DH) em função da intensidade de espalhamento de luz de uma população de LUVs. Observa-se um aumento progressivo do DH com a concentração de IVM, acompanhado pelo surgimento de uma segunda população de vesículas, com diâmetros entre 4000 e 7000 nm, nas maiores concentrações. A intensidade de espalhamento da luz é proporcional à sexta potência do diâmetro das partículas, de modo que picos maiores correspondem a partículas maiores, mas não necessariamente mais

numerosas. De fato, a distribuição do DH em função do número de partículas (dados não apresentados) indica que, mesmo nas maiores concentrações de IVM, a população predominante de LUVs possuía DH em torno de 100–110 nm.

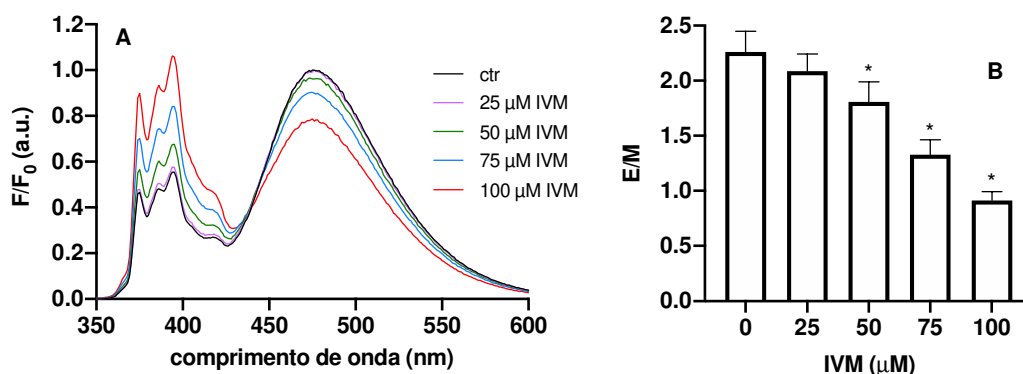


Figura 2 - Efeito da IVM na fluidez de membrana de LUVs de POPC. A. Espectros de emissão de fluorescência do pireno (média de três registros). B. Razão E/M do pireno (média e o desvio padrão de 3 experimentos independentes). Concentração de POPC: 300 μM . Concentrações de IVM: 25, 50, 75 e 100 μM . Excitação: 340 nm. Fendas de emissão e excitação de 2,5 e 5 nm, respectivamente.

*Diferente do grupo controle (0 μM IVM).

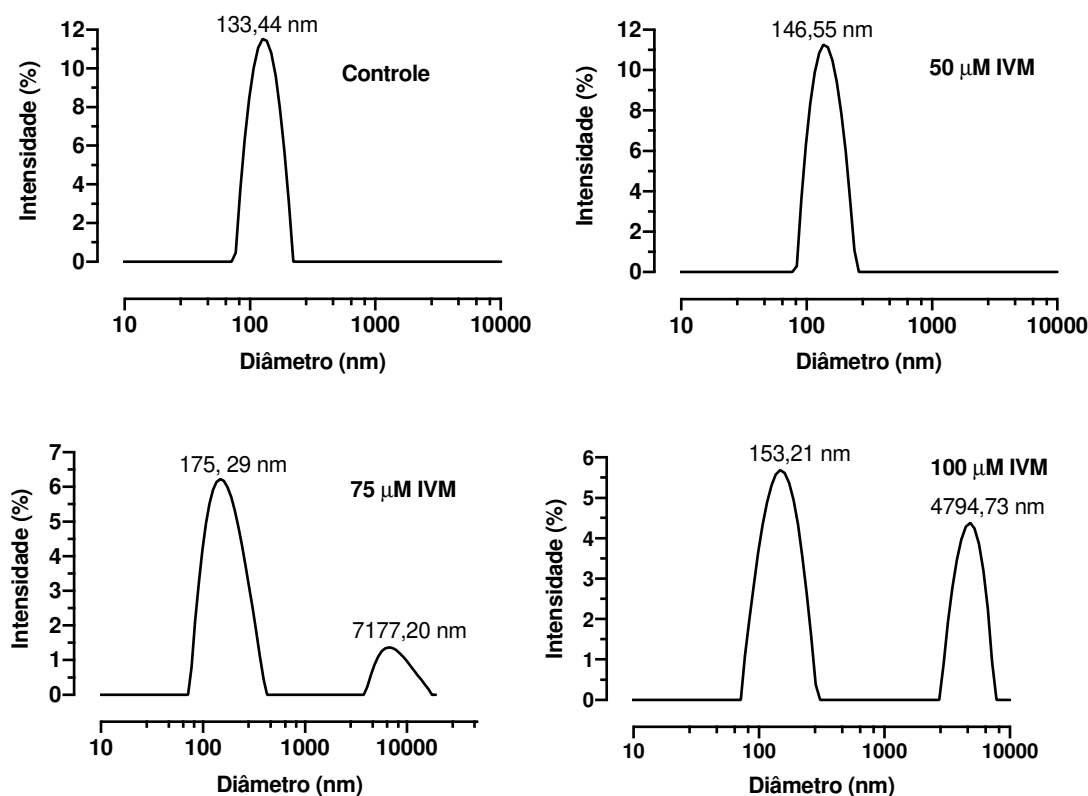


Figura 3. Distribuição do diâmetro hidrodinâmico (DH) de LUVs de POPC em função da intensidade de espalhamento de luz de um experimento representativo. Concentrações de IVM: 25, 50, 75 e 100 μM . São apresentados os DH correspondentes aos picos. Concentração de POPC: 300 μM

A Tabela 2 apresenta os valores médios do DH e do índice de polidispersividade (IP) da mesma preparação de LUVs da Figura 3. Como demonstrado anteriormente, a IVM aumentou o DH, sugerindo maior espessura da bicamada lipídica, consistente com a redução da fluidez de membrana. Além disso, o aumento do IP indica maior heterogeneidade da população de LUVs.

Tabela 2 - Diâmetro hidrodinâmico (DH) e índice de polidispersividade (IP) de LUVs de POPC

IVM (μM)	DH (nm)	IP (%)
0	141,30	14,60
25	151,05	13,08
50	145,35	17,65
75	209,73	23,88
100	3.329,45	22,32

Dados de uma preparação. LUVs: 300 μM em POPC.

CONCLUSÕES

A IVM reduz a fluidez da bicamada lipídica de forma dose-dependente e aumenta o diâmetro hidrodinâmico de lipossomas, evidenciando sua interação direta com os fosfolipídios da bicamada lipídica. Esses achados contribuem para compreender seus efeitos farmacológicos e apontam potenciais aplicações terapêuticas, destacando a relevância do uso de modelos simplificados de membrana para isolar interações droga-lipídio.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à Fundação Araucária pelo incentivo à pesquisa e concessão da bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

RANA, M. et al. A computational study of ivermectin and doxycycline combination drug against SARS-CoV-2 infection. **Research Square**, 2021.

RENNE, Mike F.; ERNST, Robert. Membrane homeostasis beyond fluidity: control of membrane compressibility. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 48, n. 11, p. 963-977, 2023.