

Modulação da resposta inflamatória e ativação endotelial pelo A14

Alveriane Felix Carvalho; MSc Leandro Tielia de La Cruz; Profa Dra Ligia Ferreira Gomes

Faculdade de Ciências Farmacêuticas; LabM², Instituto de Física

Universidade de São Paulo

e-mail: alverianecarvalho@usp.br; lfgomes@usp.br

OBJETIVOS

Desenvolvimento de um procedimento experimental pré-clínico para o A14, um composto nanométrico contendo a substância ativa metil-dehidrojasmonato.

MATERIAIS E MÉTODOS

A14 e sua respectiva formulação controle foram sintetizados sob licença da Nanocare Technology LLC e gentilmente cedidos pela Fundação Nacional do Meio Ambiente Dr. Ernesto Pereira Lopes (FUNAMA). A angiogênese foi estudada com um bioensaio da membrana corioalantóica modificado (FCF-USP CEUA n° 182/2008; 628/2021). Os ovos foram expostos no período E4-E8. Imagens da membrana corioalantóica digitalizada em scanner (2400 dpi, escala de cinza) foram analisadas por um procedimento automatizado, com o programa CAMLigia, desenvolvido por LT Cruz. A análise morfológica quantitativa incluiu a avaliação dos parâmetros de padrões de contraste binário local.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estrutura ciclopentanona da molécula do metil-jasmonato é análoga à de alguns dos mediadores inflamatórios ultra-rápidos do grupo das prostaglandinas, que disparam reações celulares fundamentais na comunicação célula-célula e sinalização intracelular para a produção

de diversas respostas antinflamatórias (FLESCHER, 2005). (**Figura 1**)

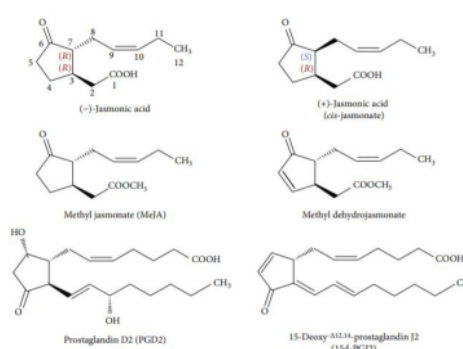


Figura 1: Estruturas químicas dos jasmonatos e das prostaglandinas antinflamatórias. As imagens foram modificadas das imagens originais (Wikimedia Commons, the free media repository; arquivos: Enantiomers Jasmonic acid.svg and Prostaglandin D2.svg) usando o programa CorelDRAW® Graphics Suite X7 (Corel Corporation). Figura reproduzida de SÁ-NAKANISHI et al., 2018).

Os resultados qualitativos ilustram os efeitos dramáticos do A14 sobre os vasos de médio e pequeno calibre, como observado na **figura 2** (dados brutos). Os efeitos vasculares não foram associados com o sofrimento embrionário e nem com atraso no desenvolvimento, como documentado pelo peso e comprimento cabeça-cauda dos embriões.

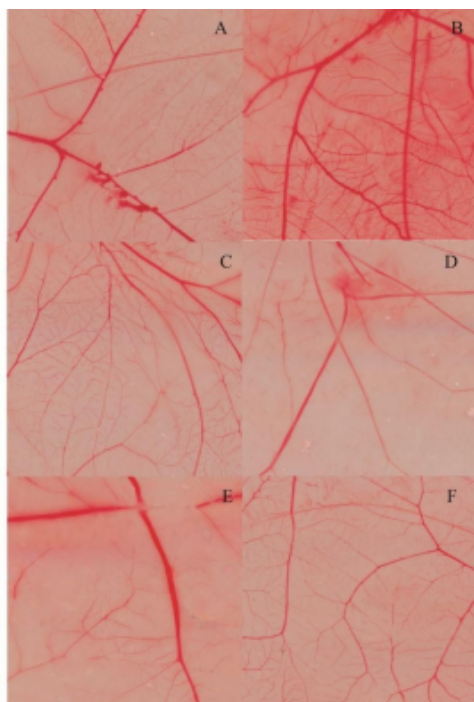


Figure 2- Efeitos do A14 sobre os vasos da CAM. **A:** A14 100 µM; **B:** A14 1 mM; **C:** controle do veículo nanocarreador 100 µM; **D:** controle do veículo nanocarreador 1 mM; **E:** controle do veículo nanocarreador mais A14 100 µM; **F:** Controle não exposto. Bioensaio da CAM, exposição E4-E8. Efeitos concentração-dependente da indução de vasos ingurgitados e hemorragias nas amostras expostas ao A14 (A and B), de toxicidade do nanocarreador vazio (C and D) e efeitos complexos da diluição do princípio ativo no veículo (D, E, and B).

Os resultados quantitativos foram normalizados por amostragem de áreas quadradas (1536 x 1536 pixel²). A frequência dos padrões binários de contraste local (OJALA et al., 2000), revelou o comportamento homogêneo do grupo controle e confirmou efeitos concentração-dependentes do A14 (NICOT et al., 2020). Resultados obtidos com veículo e controles também são mostrados na **Figura 3**.

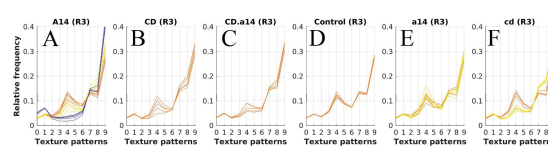


Figure 3 - Efeitos do A14 sobre os vasos da CAM. **A:** A14 1 mM; **B:** controle do veículo nanocarreador 1mM; **C:** controle do veículo nanocarreador 1 mM mais A14 100 µM; **D:** Controle não exposto; **E:** A14 100 µM; **F:** controle do veículo nanocarreador 100 µM. Bioensaio da CAM, exposição E4-E8. Efeitos concentração-dependentes do A14: formulação completa (A, E, D) e diluição do princípio ativo no veículo (A, B, C).

O procedimento desenvolvido permitiu medir a regulação do tônus de artérias de médio e pequeno calibre, envolvidas no controle do fluxo sanguíneo pelo A14, que envolve sinais de miRNA e NF-κB. Esse padrão foi previamente associado com processos de diferenciação celular ligada a sinalização por NOTCH e transição epitélio mesenquimal, relevante para a desorganização de junções endoteliais normais por mecanismos não canônicos e aumento da permeabilidade. (KOEFLER et al., 2015; MILOUDI et al., 2019). Perspectivas futuras incluem o teste de aplicações terapêuticas do A14 *in ovo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Escobedo-Nicot MM et al.; *Rev. Cubana Quím.*, 32(3): 427-42, 2020.
 Flescher E. *Anticancer Drugs*; 16(9): 911–6, 2005.
 Kofler N, et al. *Scientific reports*. 5. 16449, 2015.
 Miloudi K, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 116: 4538-47, 2019.
 Ojala, T et al. *Lect. Notes Computer Sci*, 1842: 404–20, 2000.
 Sá-Nakanishi, AB, et al. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.

AGRADECIMENTOS

CNPq 102673/2021-7, Zagas®, Fundação Nacional do Meio Ambiente Dr. Ernesto Pereira Lopes (FUNAMA)