

EFEITO DA LUTEÍNA NANOENCAPSULADA SOBRE A MEMÓRIA DE CAMUNDONGOS

Eliana Jardim Fernandes ¹

Magna Sotelo Barrientos ²

Júlia Maria Tonin Geiss ³

Jéssica Thaís Do Prado Silva ⁴

Odinei Hess Gonçalves ⁵

Gustavo Petri Guerra ⁶

Resumo:

Memória é a capacidade de armazenar novas informações e recordar aprendizados anteriores, sendo uma das funções cognitivas mais complexas da natureza. Existem vários tipos de memória, entre elas, a memória declarativa que refere a fatos e eventos que podem ser recordados conscientemente e declarados de forma lógica. Atualmente, várias patologias, como doenças neurodegenerativas e o consumo excessivo de álcool, estão envolvidas nos déficits de aprendizagem e progressiva perda da memória. Assim, é importante a busca por possíveis candidatos no tratamento dos déficits de memória induzidos por diferentes fatores. Neste sentido, evidências crescentes apontam para o importante papel dos compostos bioativos, como a luteína, um carotenoide pertencente ao grupo das xantofilas que apresenta propriedades antioxidantes e tem sido associada à melhora das funções cognitivas. Algumas linhas de evidências demonstram que a luteína é um dos carotenoides envolvidos nos processos de aprendizado, memória e prevenção de doenças neurodegenerativas. Além disso, a biodisponibilidade é um fator importante que deve ser considerado em relação aos efeitos da luteína. A solubilização da luteína em óleo do gérmen de trigo melhora sua biodisponibilidade em camundongos. Nesse sentido, nanopartículas poliméricas têm sido amplamente estudadas visando aumentar a biodisponibilidade, absorção e facilitar a entrada de drogas ou compostos bioativos através de barreiras biológicas, maximizando o potencial terapêutico e ao mesmo tempo minimizando os efeitos colaterais. Assim, a nanoencapsulação da luteína pode representar um aumento na sua biodisponibilidade e absorção, sendo uma alternativa para o tratamento de doenças. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de nanopartículas de luteína sobre a memória declarativa de camundongos na tarefa de reconhecimento de objetos. Os animais foram divididos em grupos para administração da seguinte forma: solução salina (10 mL/kg); óleo de oliva (10 mL/kg); luteína na forma livre (LL; 100 mg/kg) ou luteína na forma encapsulada (LE; 1,5; 5 ou 10 mg/kg), por gavagem oral, durante 14 dias. Vinte e quatro horas após a última administração os animais foram avaliados na tarefa de reconhecimento de objetos. Os resultados encontrados mostraram que os grupos administrados com luteína livre (100 mg.Kg) e luteína encapsulada nas proporções de (10 mg.Kg e 1,5 mg.Kg), durante 14 dias melhorou a memória de camundongos na tarefa de reconhecimento de objetos. Além disso, administração de luteína, seja na forma livre ou encapsulada, não causou alterações motoras nos animais, portanto, não influenciou sua locomoção durante a tarefa de reconhecimento de objetos. Este trabalho demonstrou que a administração de luteína livre ou encapsulada durante 14 dias melhorou a memória dos camundongos na tarefa de reconhecimento de objetos. Interessantemente, efeito semelhante ao alcançado pela luteína livre pôde ser obtido utilizando luteína encapsulada em doses 66 vezes menores, demonstrando que a encapsulação da luteína foi capaz de potencializar o seu efeito sobre a memória de camundongos. Assim, a luteína pode ser considerada uma alternativa no desenvolvimento de fármacos com potencial para serem utilizados na prevenção ou tratamento dos déficits de memória induzidos por diferentes patologias.

Palavras-chave: Funções Cognitivas, Doenças neurodegenerativas, Carotenoide, Biodisponibilidade.

Modalidade de Participação: Pesquisador

EFEITO DA LUTEÍNA NANOENCAPSULADA SOBRE A MEMÓRIA DE CAMUNDONGOS

¹ Aluno de pós-graduação. elianajf14@yahoo.com.br. Autor principal

² Aluno de graduação. magnasotelo@gmail.com. Co-autor

³ Aluno de pós-graduação. gustavoguerra@unipampa.edu.br. Co-autor

⁴ Aluno de pós-graduação. jessicathais92@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. odinei@gmail.com. Co-autor

⁶ Docente. petriguerra@gmail.com. Co-orientador



EFEITO DA LUTEÍNA NANOENCAPSULADA SOBRE A MEMÓRIA DE CAMUNDONGOS

1. INTRODUÇÃO

Memória é a capacidade de armazenar novas informações e recordar aprendizados anteriores, sendo uma das funções cognitivas mais complexas da natureza (IZQUIERDO, 2002). Existem vários tipos de memória, entre elas, a memória declarativa que refere a fatos e eventos que podem ser recordados conscientemente e declarados de forma lógica (MIENDLARZEWSKA; BAVELIER; SCHWARTZ, 2016). Atualmente, várias patologias, como doenças neurodegenerativas e o consumo excessivo de álcool, estão envolvidas nos déficits de aprendizagem e progressiva perda da memória (STORANDT, 2008; CIPPITIELI et al., 2010a; 2010b). Assim, é importante a busca por possíveis candidatos no tratamento dos déficits de memória induzidos por diferentes fatores. Neste sentido, evidências crescentes apontam para o importante papel dos compostos bioativos, como a luteína, um carotenoide pertencente ao grupo das xantofilas que apresenta propriedades antioxidantes e tem sido associada à melhora das funções cognitivas (JOHNSON, 2012).

Algumas linhas de evidências demonstram que a luteína é um dos carotenoides envolvidos nos processos de aprendizado, memória e prevenção de doenças neurodegenerativas. Primeiro, a suplementação ou o consumo de uma dieta rica em fontes de luteína estão associadas às baixas taxas de declínio cognitivo decorrentes do envelhecimento (JOHNSON et al., 2008; KESSE-GUYOT et al., 2014). Segundo, a luteína é o principal carotenoide encontrado no cérebro humano, com cerca de 30% da concentração total de carotenoides, além de apresentar capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, com captação preferencial sobre a maioria dos outros carotenoides e correlação positiva entre os níveis do soro e do cérebro (CRAFT et al., 2004; JOHNSON et al., 2013; VISHWANATHAN et al., 2014a). Terceiro, uma melhora na função cognitiva está associada com níveis aumentados de luteína no cérebro (JOHNSON et al., 2013). Quarto, indivíduos com déficit cognitivo leve (RINALDI et al., 2003; JOHNSON et al., 2013) ou Doença de Alzheimer (RINALDI et al., 2003; KIKO et al., 2012; DIAS et al., 2014) possuem níveis de luteína reduzidos no plasma e no cérebro, quando comparados a indivíduos normais.

Além disso, a biodisponibilidade é um fator importante que deve ser considerado em relação aos efeitos da luteína. A solubilização da luteína em óleo do germen de trigo melhora sua biodisponibilidade em camundongos (GORUSUPUDI e BASKARAN, 2013). Nesse sentido, nanopartículas poliméricas têm sido amplamente estudadas visando aumentar a biodisponibilidade, absorção e facilitar a entrada de drogas ou compostos bioativos através de barreiras biológicas, maximizando o potencial terapêutico e ao mesmo tempo minimizando os efeitos colaterais (REIN et al, 2013; XIE et al, 2011). Assim, a nanoencapsulação da luteína pode representar um aumento na sua biodisponibilidade e absorção, sendo uma alternativa para o tratamento de doenças.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de nanopartículas de luteína sobre a memória declarativa de camundongos na tarefa de reconhecimento de objetos.

2. METODOLOGIA

Nos experimentos foram utilizados 75 camundongos Swiss machos adultos (60 - 90 dias de idade), pesando entre 25-30 g. A luteína foi obtida a partir de fornecedores locais. As formas livre e encapsulada foram dissolvidas em óleo de oliva e solução salina (NaCl 0,9%), respectivamente, antes da administração. Todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

Os animais foram divididos em grupos para administração da seguinte forma: solução salina (10 mL/kg); óleo de oliva (10 mL/kg); luteína na forma livre (LL; 100 mg/kg) ou luteína na forma encapsulada (LE; 1,5; 5 ou 10 mg/kg), por gavagem oral, durante 14 dias. Vinte e quatro horas após a última administração os animais foram avaliados na tarefa de reconhecimento de objetos.

A tarefa de reconhecimento de objetos foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Bevins e Besheer (2006). A tarefa, realizada em uma caixa de madeira (60 x 40 x 30 cm), consistiu de três fases distintas: habituação, treino e teste. Na sessão de habituação, com duração de 10 minutos, os animais ficaram livres para explorar a caixa. Nesta sessão foram contados o número de cruzamentos (*crossing*) e as respostas de levantar (*rearing*), para avaliação da atividade locomotora e exploratória dos animais. Nessa avaliação a caixa de madeira teve o assoalho marcado, dividindo a mesma em 12 áreas iguais. Na sessão de treino, realizada 24 horas após a habituação, o animal foi apresentado, durante 10 minutos, a dois objetos idênticos. Na sessão de teste, realizada 24 horas após o treino, um dos objetos foi substituído por um novo. Durante ambas as sessões (treino e teste), foi determinado o tempo de exploração do animal com os objetos, sendo considerado exploração quando o animal fica com o focinho até 0,5 cm do objeto. O índice de discriminação foi então calculado pela diferença do tempo gasto para explorar o objeto novo (B) e o familiar (A) multiplicado por 100 e dividido pela soma do tempo gasto para explorar o objeto novo e o familiar.

O programa GraphPad Prism 5 foi utilizado para a análise estatística e para a plotagem dos gráficos. As análises estatísticas foram realizadas por Análise de Variância (ANOVA) de uma, seguida do teste post hoc de Bonferroni. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Todos os dados são apresentados como média e erro padrão (SEM).

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta o efeito da administração oral de luteína na forma livre (100 mg/kg) e luteína encapsulada (10, 5 e 1,5 mg/kg) durante 14 dias sobre o índice de discriminação dos objetos durante a sessão de teste na tarefa de reconhecimento de objetos.

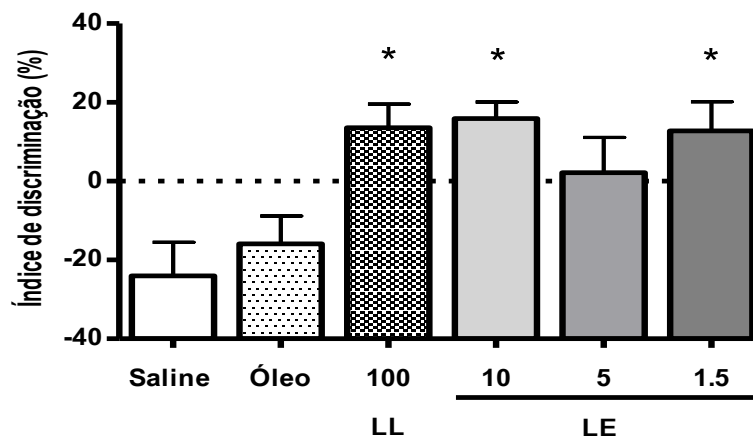


Figura 1. Índice de discriminação de objetos após a administração de luteína na forma livre (LL) e encapsulada (LE).

* Diferença significativa ($p < 0,05$) comparado com o grupo controle (salina).

A análise estatística (ANOVA de uma via) revelou que a luteína livre (100 mg/kg) e luteína encapsulada (10 mg/kg e 1,5 mg/kg) aumentaram significativamente o índice de discriminação, comparado ao grupo controle (salina) [$F_{(5,55)} = 5,70$; $p < 0,05$], demonstrando que a administração de luteína livre ou encapsulada melhoram a memória na tarefa de reconhecimento de objetos. Não houve diferença significativa entre os grupos para o tempo de exploração de ambos os objetos na sessão de treino, indicando que não há exploração tendenciosa dos objetos (dados não mostrados).

Nota-se que efeito semelhante alcançado pela luteína livre pôde ser atingido utilizando luteína encapsulada em doses menores. Isso se deve ao aumento da solubilidade da luteína provocada pela sua encapsulação. Luteína e as nanopartículas formam um complexo solúvel, que aumentou em 20 vezes sua solubilidade. O aumento da solubilidade da luteína culmina no aumento de sua biodisponibilidade, proporcionando maior absorção pelo organismo e, conseqüentemente, potencializando os seus efeitos biológicos.

A Tabela 1 apresenta o efeito da luteína livre e encapsulada sobre a atividade locomotora e exploratória dos animais durante a sessão de habituação da tarefa de reconhecimento de objetos. A análise estatística (ANOVA de uma via) revelou que a luteína não alterou o número de crossing ou rearing, sugerindo que a administração não causou prejuízo motor durante as sessões de treino e teste.

Tabela 1: Efeito da administração de luteína livre e encapsulada durante 14 dias sobre a atividade motora e exploratória dos animais (crossing e rearing).

Grupos	Crossing	Rearing	N
Salina	153,9 ± 8,8	44,5 ± 4,2	10
Óleo de oliva	140,4 ± 12,4	47,4 ± 4,3	10
Luteína Livre 100 mg/Kg	156,0 ± 7,3	56,9 ± 3,8	11
Luteína Encapsulada 10 mg/Kg	167,1 ± 7,3	53,1 ± 3,6	11
Luteína Encapsulada 5 mg/Kg	141,0 ± 12,7	47,8 ± 5,7	10
Luteína Encapsulada 1,5 mg/Kg	148,6 ± 8,6	46,6 ± 2,2	9
Análise Estatística	$F_{(5,55)} = 1,131$ $p > 0,05$	$F_{(5,55)} = 1,306$ $p > 0,05$	

Resultados expressos em média ± erro padrão da média; N: número de animais em cada grupo.

Esses resultados indicam que a administração de luteína, seja na forma livre ou encapsulada, não causou alterações motoras nos animais, portanto, não influenciou sua locomoção durante a tarefa de reconhecimento de objetos.

Os dados encontrados apoiam algumas evidências que demonstram que a suplementação ou consumo de uma dieta com alimentos ricos em luteína estão as-

sociadas às baixas taxas de declínio cognitivo (KANG; ASCHERIO; GRODSTEIN, 2005; JOHNSON et al., 2008; KESSE-GUYOT et al., 2014). Como descrito, que a suplementação de luteína (12 mg/dia) durante 4 meses, melhora a fluência verbal em mulheres com idade entre 60 a 80 anos (JOHNSON et al., 2008).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho demonstrou que a administração de luteína livre ou encapsulada durante 14 dias melhorou a memória dos camundongos na tarefa de reconhecimento de objetos. Interessantemente, efeito semelhante ao alcançado pela luteína livre pôde ser obtido utilizando luteína encapsulada em doses 66 vezes menores, demonstrando que a encapsulação da luteína foi capaz de potencializar o seu efeito sobre a memória de camundongos. Assim, a luteína pode ser considerada uma alternativa no desenvolvimento de fármacos com potencial para serem utilizados na prevenção ou tratamento dos déficits de memória induzidos por diferentes patologias.

5. REFERÊNCIAS:

BEVINS, R. A.; BESHEER, J. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study recognition memory. *Nature Protocols*, v.1, n.3, p.1306–1311, 2006.

CIPPITELLI, A.; DAMADZIC, R.; FRANKOLA, K.; GOLDSTEIN, A.; THORSELL, A.; SINGLEY, E.; ESKAY, R. L.; HEILIG, M. Alcohol-Induced Neurodegeneration, Suppression of Transforming Growth Factor-B, and Cognitive Impairment in Rats: Prevention by Group II Metabotropic Glutamate Receptor Activation. *Biological Psychiatry*, v.67, n.9, p.823–830, 2010a.

CIPPITELLI, A.; ZOOK, M.; BELL, L.; DAMADZIC, R.; ESKAY, R. L.; SCHWANDT, M.; HEILIG, M. Reversibility of object recognition but not spatial memory impairment following binge-like alcohol exposure in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, v.94, n.4, p.538–546, 2010b.

CRAFT, N. E.; HAITEMA, T. B.; GARNETT, K. M.; FITCH, K. A.; DOREY, C. K. Carotenoid, tocopherol, and retinol concentrations in elderly human brain. *The Journal of Nutrition Health and Aging*, v.8, n.3, p.156–162, 2004.

DIAS, I. H.; POLIDORI, M. C.; LI, L.; WEBER, D.; STAHL, W.; NELLES, G.; GRUNE, T.; GRIFFITHS, H. R. Plasma levels of HDL and carotenoids are lower in dementia patients with vascular comorbidities. *Journal of Alzheimer's Disease*, v.40, n.2, p. 399–408, 2014.

GORUSUPUDI, A.; BASKARAN, V. Wheat germ oil: a potential facilitator to improve lutein bioavailability in mice. *Nutrition*, v.29, n.5, p.790–795, 2013.

IZQUIERDO, I. *Memória*. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

JOHNSON, E. J.; MCDONALD, K.; CALDARELLA, S. M.; CHUNG, H-Y.; TROEN, A. M.; SNODDERLY, D. M. Cognitive findings of an exploratory trial of docosahexaenoic acid and lutein supplementation in older women. *Nutritional Neuroscience*, v.11, n.2, p.75–83, 2008.

JOHNSON, E. J. A possible role for lutein and zeaxanthin in cognitive function in the elderly. *The American journal of clinical nutrition*, v.96, n.5, p.1161–1165, 2012.

JOHNSON, E. J.; VISHWANATHAN, R.; JOHNSON, M. A.; HAUSMAN, D. B.; DAVEY, A.; SCOTT, T. M.; GREEN, R. C.; MILLER, L. S.; GEARING, M.; WOODARD, J.; NELSON, P. T.; CHUNG, H-Y.; SCHALCH, W.; WITTEW, J.; POON, L. W. Relationship between Serum and Brain Carotenoids, α -Tocopherol, and Retinol Concentrations and Cognitive Performance in the Oldest Old from the Georgia Centenarian Study. *Journal of Aging Research*, v.2013, n.8, p.1-13, 2013.

KANG, J. H.; ASCHERIO, A.; GRODSTEIN, F. Fruit and vegetable consumption and cognitive decline in aging women. *Annals of Neurology*, v.57, n.5, p.713–720, 2005.

KESSE-GUYOT, E.; ANDREEVA, V. A.; DUCROS, V.; JEANDEL, C.; JULIA, C.; HERCBERG, S.; GALAN, P. Carotenoid-rich dietary patterns during midlife and subsequent cognitive function. *British Journal of Nutrition*, v.111, n.5, p.915–923, 2014.

KIKO, T.; NAKAGAWA, K.; TSUDUKI, T.; SUZUKI, T.; ARAI, H.; MIYAZAWA, T. Significance of lutein in red blood cells of Alzheimer's disease patients. *Journal of Alzheimer's Disease*, v.28, n.3, p.593-600, 2012.

MIENDLARZEWSKA, E. A.; BAVELIER, D.; SCHWARTZ, S. Influence of reward motivation on human declarative memory. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v.61, n.8, p.156–176, 2016.

REIN, M. J.; RENOUEF, M.; CRUZ-HERNANDEZ, C.; ACTIS-GORETTA, L.; THAKKAR, S.K.; PINTO, M.S. Bioavailability of bioactive food compounds: A challenging journey to bioefficacy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, v.75, n.3, p.588–602, 2013.

RINALDI, P.; POLIDORI, M.C.; METASTASIO, A.; MARIANI, E.; MATTIOLI, P.; CHERUBINI, A.; CATANI, M.; CECCHETTI, R.; SENIN, U.; MECOCCHI. Plasma antioxidants are similarly depleted in mild cognitive impairment and in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, v.24, n.7, p.915–919, 2003.

STORANDT, M. Cognitive deficits in the early stages of Alzheimer's disease. *Current Directions in Psychological Science*, v.17, n.3, p.198–202, 2008.

VISHWANATHAN, R.; KUCHAN, M. J.; SEN, S.; JOHNSON, E. J. Lutein is the Predominant Carotenoid in Infant Brain: Preterm Infants Have Decreased Concentrations of Brain Carotenoids. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, v.59, n.5, p.659-65, 2014a.

XIE, X.; TAO, Q.; ZOU, Y.; ZHANG, F.; GUO, M.; WANG, Y.; WANG, H.; ZHOU, Q.; YU, S.; PLGA nanoparticles improve the oral bioavailability of curcumin in rats: Characterizations and mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.59, n.17, p.9280–9289, 2011.