

## EFEITO DE NANOCÁPSULAS COM CURCUMINA NAS COMORBIDADES ANSIEDADE E DEPRESSÃO EM MODELO DE DOENÇA DE ALZHEIMER EM CAMUNDONGOS

**KARLINE DA COSTA RODRIGUES<sup>1</sup>; MANOEL RODRIGUES DA SILVA NETO<sup>2</sup>;**  
**SANDRA ELISA HASS<sup>3</sup>; ETHEL ANTUNES WILHELM<sup>4</sup>; CRISTIANE LUCHESE<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – line.karline@hotmail.com;*

<sup>2</sup>*Universidade Federal do Pampa – manoelrodrigues.aluno@unipampa.edu.br;*

<sup>3</sup>*Universidade Federal do Pampa – sandra.haas@gmail.com;*

<sup>4</sup> *Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br;*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas – cristiane\_luchese@yahoo.com.br*

### 1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é um transtorno neurodegenerativo progressivo de ocorrência comum na senescência, sendo a demência uma das principais complicações que acarretam a perda de memória (HOU et al., 2019). Contudo, é possível estabelecer a associação entre o declínio cognitivo com outras comorbidades, tais como depressão e ansiedade, por meio dos sintomas neuropsiquiátricos envolvidos entre estas (ASMER et al., 2018). É importante salientar que a depressão e ansiedade em pacientes com transtornos neurodegenerativos pode ser subdiagnosticada, o que enfatiza a necessidade de terapias voltadas para as especificidades de pacientes com estas comorbidades (ORTIZ et al., 2021).

Ademais, algumas combinações de terapias para DA e transtornos neuropsiquicos tem sido desconsiderada em alguns casos, como por exemplo de anti-depressivos anticolinérgicos que podem antagonizar os inibidores da acetilcolinesterase (AChE) (WHO, 2020; ORTIZ et al., 2021). Neste sentido, a busca por novos tratamentos eficazes, com direcionamento específico e efetividade são de grande valia para os casos de pacientes com declínio cognitivo e comorbidades neuropsiquicas.

Neste sentido, a nanotecnologia vem apresentando destaque no desenvolvimento de novas moléculas, principalmente por suas propriedades físico-químicas como de prolongar o tempo de ação do tratamento e apresentar efeito em sítio específico (BABAZADEH et al., 2020; TEIXEIRA et al., 2020). Com isso, a Curcumina (Cur) apresenta propriedades relevantes, como antioxidante, retardando progressão da DA, entre outras atividades (YAVARPOUR et al., 2019), porém com algumas limitações sobre estabilidade.

Assim, com a intenção de melhorar as limitações de liberação e estabilidade apresentadas pela Cur livre, utilizamos duas formulações de nanopartículas carregadas de Cur, uma catiônica (Eudragit-EUD) e uma aniónica (Polissorbato 80 - P80), com intuito de comparar o efeito da Cur incorporada em nanoformulações e na forma livre. Neste sentido, o objetivo do estudo foi investigar as formulações de nanopartículas carregadas de Cur em um modelo de amnésia induzida por escopolamina (ESC) em camundongos, bem como o envolvimento dos níveis espécies reativas (ER) como parâmetro oxidativo.

### 2. METODOLOGIA

A Cur (pureza de 65%), bem como o processo de nanoencapsulação com EUD (catiônica) e P80 (aniónica) foi realizado na Universidade Federal do Pampa

– Uruguaiana, baseado em método previamente descrito (SANTOS et al., 2021), sendo utilizadas na concentração de 0,6 mg/ml. O experimento foi conduzido de acordo com normas preconizadas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal na Universidade Federal de Pelotas (CEEA 038773/2021-50).

Foram utilizados camundongos machos adultos da raça Swiss (25-30g). Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos experimentais (8 animais/grupo): Grupo I (controle); Grupo II (Nc Cur P80 + ESC); Grupo III (Nc Cur EUD + ESC); Grupo IV (Curc + ESC) e Grupo V (ESC); Grupo VI (Donepezila, Done). Inicialmente, os grupos I e V receberam uma solução de tween 2% (10 ml/kg, veículo de diluição da Cur); o grupo II foram tratados com Nc Cur P80 (10 mg/kg), III foram tratados com Nc Cur EUD (10 mg/kg) e IV foram tratados com Cur livre (10 mg/kg), enquanto grupo VI recebeu o controle positivo Done (10 mg/kg). Os tratamentos foram realizados em dias alternados, todas por via intragástrica (i.g.) via gavage. Trinta minutos após os tratamentos, os grupos II, III, IV, V e VI receberam ESC (0,4 mg/kg, intraperitonealmente (i.p.)), e o grupo I recebeu solução salina a 0,9% (5 ml/kg, i.p., veículo de ESC).

Após trinta minutos de indução, os animais foram submetidos os testes comportamentais. No dia 8 do protocolo foi realizado o teste do Labirinto em Cruz Elevada (LCE) para avaliar o comportamento do tipo-ansioso ao avaliar a frequência de entradas nos braços abertos e fechados e a permanência nos braços abertos por período de 5 minutos (SARTER et al., 1988). No dia 9 foi realizado o teste da suspensão da cauda (TSC) para avaliar o comportamento do tipo-depressivo através do comportamento de imobilidade por um período de 6 minutos (STERU et al., 1985).

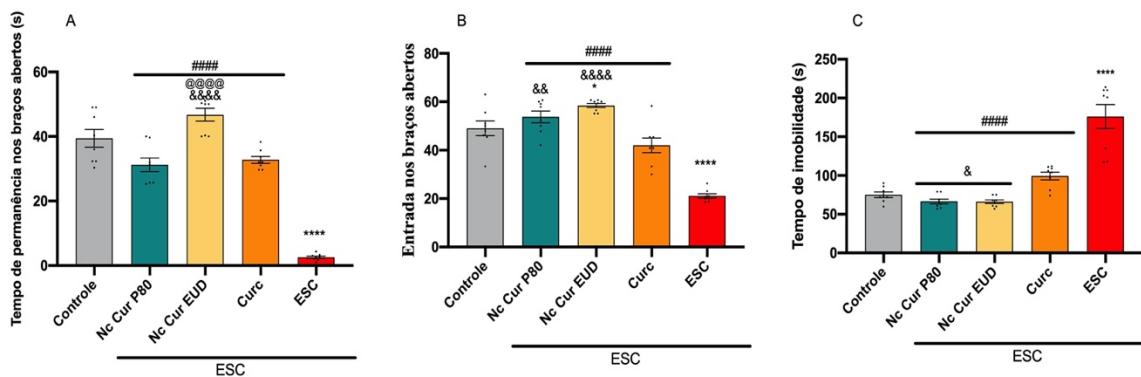
Ao final do protocolo, os animais foram anestesiados com overdose de isoflurano, sendo então retirados os córtices cerebrais e hipocampo para avaliação dos níveis de ES (LOETCHUTINAT et al., 2005). Os níveis de ER foram expressos por diclorofluoresceína (DFC). Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.), de 8 animais por grupo. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via, seguidos pelo teste de Tukey. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1A e 1B demonstra o efeito dos tratamentos no comportamento do tipo-depressivo através do teste no LCE. A ESC causou uma diminuição no número de entrada nos braços abertos (Figura 1A), bem como no tempo de permanência nos braços abertos (Figura 1B). As formulações de Nc com tratamento em dias alternados permaneceram exercendo seu efeito, diferentemente da Cur Livre. O tratamento com Nc Cur EUD (catiônica) destacou-se frente aos outros tratamentos realizados. Evidencia-se que a Nc Cur EUD apresentou uma melhora importante, o que é esperado com os nanosistemas, uma vez que prolongou o efeito mesmo com tratamentos em dias alternados. A formulação com polímeros de carga catiônica, como EUD, tem características de aumentar o tempo de ação de moléculas por proteger frente degradação no suco gástrico, que corrobora com os achados presentes neste trabalho.

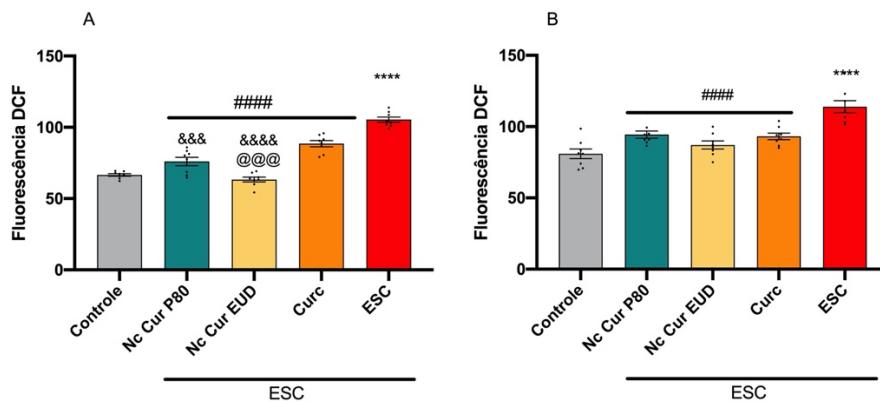
A Figura 1C representa o resultado no TSC. A indução com ESC aumentou o tempo de imobilidade dos animais, indicando um comportamento do tipo-depressivo. Enquanto que os diferentes tratamentos foram capazes de manter este efeito quando comparado com o grupo Cur Livre. Com este resultado, demonstra-se que

o processo de nanoencapsulação da Cur e o tratamento em dias alternados apresenta efeito do tipo-ansiolítico, diferente do tratamento com a Cur livre.



**Figura 1.** Avaliação do efeito dos diferentes tratamentos frente o teste labirinto em cruz elevada (LCE) em relação ao tempo de permanência nos braços abertos (A), tempo de entrada nos braços abertos (B) e no teste de suspensão o tempo de imobilidade (C). (\*\*\*\*) indicam  $p < 0,0001$ , quando comparado ao grupo controle; (####) indicam  $p < 0,0001$  quando comparado com o grupo ESC; (&&&) indica  $p < 0,0001$  e (&) indica  $p < 0,05$  quando comparado com Cur; (@@@) indicam  $p < 0,001$  quando comparado com Nc Cur P80.

A Figura 2 representa os níveis de ER no córtex (Figura 2A) e hipocampo (Figura 2B) dos camundongos. É possível observar que a ESC causou um aumento nos níveis de ER em ambas estruturas avaliadas, e que os tratamentos avaliados protegeram frente este aumento. Mais especificamente, Nc Cur EUD apresentou uma redução mais significativa nos níveis de ER quando comparada aos outros tratamentos. Sabe-se que o processo de neurodegeneração causa uma disfunção mitocondrial, que pode impactar na produção excessiva de ER, corroborando com os achados deste estudo onde observou-se um aumento de ER causado pela ESC (YAVARPOUR, 2019).



**Figura 2.** Avaliação do efeito dos diferentes tratamentos frente o nível de espécies reativas (ER). (\*\*\*\*) indicam  $p < 0,0001$ , quando comparado ao grupo controle; (####) indicam  $p < 0,0001$  quando comparado com o grupo ESC; &&& indica  $p < 0,0001$  quando comparado com Cur; @@@ indicam  $p < 0,001$  quando comparado com Nc Cur P80.

#### 4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que o tratamento com a formulação de Nc Cur EUD em dias alternados apresenta efeito do tipo-ansiolítico e do tipo-antidepressivo, diferentemente do tratamento com Curc livre. Ademais, os tratamentos realizados foram capazes de proteger frente a produção excessiva de ER em estruturas cerebrais, indicando uma melhora frente este parâmetro oxidativo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÜERA-ORTIZ L, GARCÍA-RAMOS R, GRANDAS PÉREZ FJ, LÓPEZ-ÁLVAREZ J, MONTES RODRÍGUEZ JM, PORTA-ETESSAM J. Depression in Alzheimer's Disease: A Delphi Consensus on Etiology, Risk Factors, and Clinical Management. **Frontiers in Psychiatry**. v.12, p.638651, 2021
- ASMER, M.S, KIRKHAM, J., NEWTON, H., ISMAIL, Z., ELBAYOUMI, H., LEUNG, R.H., et al. Meta-analysis of the prevalence of major depressive disorder among older adults with dementia. **Journal of Clinical Psychiatry**. v.79, p.17r11772, 2018.
- BABAZADEH, H., ZEESHAN, A., JACOB, K. et al. Numerical Modelling for Nano-particle Thermal Migration with Effects of Shape of Particles and Magnetic Field Inside a Porous Enclosure. **Iranian Journal of Science and Technology**, v.45, p.801–811, 2021.
- YAVARPOUR-BALI, H., GHASEMI-KASMAN, M., PIRZADEH, M. Curcumin-loaded nanoparticles: a novel therapeutic strategy in treatment of central nervous system disorders. **International Journal of Nanomedicine**. v.14, p.4449-4460. 2019.
- HOU, Y., DAN, X., BABBAR, M., WEI, Y., HASSELBALCH, S.G., CROTEAU, D.L., BOHR, V.A. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. **Nature Reviews Neurology**. v.15, p.565–581, 2019.
- LOETCHUTINAT, C., KOTHAN, S., DECHSUPA, S., MEESUNGNOEN, J., JAYGERIN, J.P., MANKHETORN, S. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2'-7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiation Physics and Chemistry**, v.72 (2-3), p-323-331, 2005.
- SANTOS, R.B., NAKAMA, A., PACHECO, C.O., GOMES, M.G., SOUZA, J.F., PINTO, A.C., OLIVEITA, F.A., FONSECA, A.L., VAROTTI, F., FAJARDO, A.R., HAAS, S.E. Curcumin-loaded nanocapsules: Influence of surface characteristics on technological parameters and potential antimalarial activity. **Materials Science & Engineering**, v.118, p.111356, 2021
- SARTER, M., BODEWITZ, G., STEPHENS, D.N. Attenuation of scopolamine induced impairment of spontaneous alternation behavior by antagonist but not inverse agonist and b-carboline. **Psychopharmacology**, v.94, p.491–495, 1988.
- STERU L, CHERMAT R, THIERRY B, SIMON P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v.85, p. 367–370, 1985.
- TEIXEIRA MI, LOPES CM, AMARAL MH, COSTA PC. Current insights on lipid nanocarrier-assisted drug delivery in the treatment of neurodegenerative diseases. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.149, p.192-217, 2020.
- WHO. Dementia. Available online at: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (acessado junho 5, 2022).