

EFETO DO TIPO-ANTIDEPRESSIVO DE CURCUMINA LIVRE E NANOENCAPSULADA EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)

ISADORA CIELO DE SOUZA¹; KARLINE DA COSTA RODRIGUES²; MELIZA DA CONCEIÇÃO OLIVEIRA³; CAMILA DE OLIVEIRA PACHECO⁴; SANDRA ELISA HAAS⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – isadoracielo@icloud.com;* ²*Universidade Federal de Pelotas – line.karline@hotmail.com;* ³*Universidade Federal de Pelotas – melizacoliveira@hotmail.com;* ⁴*Universidade Federal do Pampa – coliveirapacheco@gmail.com;* ⁵*Universidade Federal do Pampa – sandrahaas@unipampa.edu.br;* ⁶*Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br (orientadora)*

1. INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo é uma desordem neurológica de alta prevalência, afetando cerca de 300 milhões de pessoas em todo o mundo, com uma incidência 50% mais comum em mulheres do que em homens (OMS, 2023). De natureza crônica e recorrente, a depressão é atualmente considerada o “mal do século”, destacando-se como a principal causa de incapacidade devido aos seus efeitos abrangentes (OLIVEIRA et al., 2019; NOORI et al., 2022). Os tratamentos tradicionais, como antidepressivos e psicoterapia, apresentam limitações significativas (WANG et al., 2019; IQWiG, 2006), além de que a abordagem farmacológica atual, muitas vezes, não considera a complexa heterogeneidade biológica da depressão (TOZZI et al., 2024). A compreensão dessas dificuldades tem impulsionado a busca por abordagens terapêuticas naturais, onde evidências apontam que produtos naturais podem aliviar sintomas da depressão, como por exemplo, ao reduzir o estresse oxidativo e mediadores inflamatórios (NOORI et al., 2022).

Neste contexto, a curcumina (Cur), um composto ativo da círcuma (*Curcuma longa*), é um exemplo promissor. Amplamente estudada na medicina oriental, a Cur é conhecida por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (XU et al., 2005), sendo uma candidata para o tratamento de diversas doenças neurológicas, tal como depressão (AGGARWAL et al., 2008). No entanto, sua baixa biodisponibilidade e solubilidade limitam sua aplicação clínica (SANTOS et al., 2021). Para superar tais obstáculos, a nanoencapsulação de fármacos pode ser uma alternativa, uma vez que pode melhorar suas eficácia terapêuticas (BARBARA et al., 2017).

Nesse sentido, o modelo de depressão induzido por lipopolissacarídeo (LPS) em camundongos tem sido uma ferramenta valiosa para avaliar novas abordagens terapêuticas, visto que estudos recentes sugerem que o modelo causa neuroinflamação, que desempenha um papel crucial nesta patogênese (YIN et al., 2023). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da Cur, livre e nanoencapsulada, em um modelo de LPS em camundongos de ambos os sexos.

2. METODOLOGIA

A nanoencapsulação da Cur foi realizada na Universidade Federal do Pampa – Uruguaiana (SANTOS et al., 2021), sendo utilizada na concentração de 0,6 mg/mL de Cur. O trabalho foi conduzido em conformidade com as normas da Comissão Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas

(UFPel) (CEEA 038773/2021-50). Foram utilizados camundongos machos e fêmeas adultos da raça Swiss (25-30 g), obtidos do Biotério Central da UFPel.

Durante 7 dias consecutivos, os animais receberam a injeção de LPS (250 µg/kg/dia) ou salina (0,9%), pela via intraperitoneal (i.p.). No 7º dia, 30 minutos após a administração de LPS/salina, os animais foram tratados com Cur Livre (Cur), nanocápsulas com polímero EUD carregada com Cur (NcCur-EUD) (tratamento em dias alternados), Fluoxetina (FLU) ou seu veículo de diluição Tween 2% (tratamento diário), todos na dose de 10 mg/kg, pela via intragástrica (i.g.).

A partir do dia 8, 1 hora após os tratamentos, os animais foram submetidos aos testes comportamentais: labirinto em cruz elevado (LCE) e teste de borrifagem de sacarose (TBS). O LCE foi realizado para avaliar o comportamento do tipo-ansioso dos animais, avaliando a frequência de entradas nos braços abertos e fechados e a permanência nos braços abertos, por um período de 5 minutos (WALF et al, 2007). Quando os animais permanecem e entram menos vezes nos braços abertos, subentende-se um comportamento do tipo-ansioso. Já o TBS, foi realizado para avaliar o comportamento motivacional, uma vez que após borifar uma solução de sacarose a 10% no dorso do animal, cronometrou-se o tempo em que o animal permaneceu no comportamento de auto-limpeza, durante o período de 5 minutos (ISINGRINI et al., 2010). Neste teste, quando os animais apresentam menor tempo de auto-limpeza são correlacionados ao comportamento do tipo-depressivo.

Ao final do protocolo, os animais foram submetidos a eutanásia por inalação de isoflurano, e foram removidas as estruturas de córtex cerebral pré-frontal, para determinação da atividade da monoamina oxidase (MAO) das mitocôndrias cerebrais. A atividade da MAO foi determinada de acordo com Krajl (1965), com algumas modificações, e expressa como nmol 4-OH quinolina/mg de proteína/min.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 1A e 1B demonstram o resultado do LCE. Foi possível observar que a indução com LPS causou uma diminuição no tempo de permanência nos braços abertos (Figura 1A), bem como no número de entradas nestes braços (Figura 1B), enquanto que os tratamentos revertem esta alteração causada pelo LPS. Ao comparar machos e fêmeas, pode-se observar que houveram diferenças significativas, evidenciando a importância de se realizar estes estudos em ambos os sexos. Sabe-se que comportamentos relacionados à ansiedade são mais pronunciados em camundongos fêmeas, principalmente devido às flutuações hormonais durante o ciclo estral (DAMIRA et al., 2000).

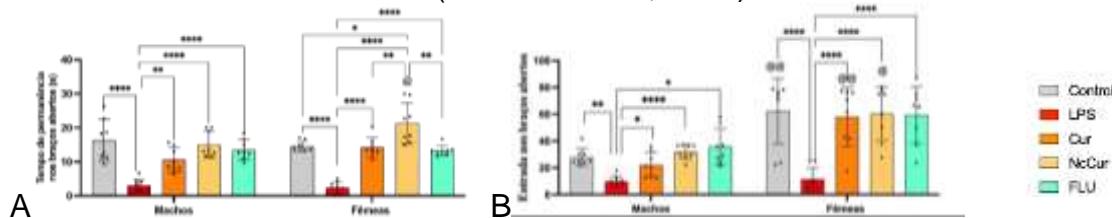


Figura 1. Avaliação do efeito dos diferentes tratamentos no modelo de indução por LPS no Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) em relação ao tempo de permanência em braços abertos (A) e número de entradas em braços abertos (B). Os dados são relatados como media ± erro padrão da média (S.E.M) de 8 animais por grupo. (****) denota $p < 0,0001$; (***) denota $p < 0,001$; (**) denota $p < 0,01$ e (*) denota $p < 0,05$. (@) denota $p < 0,05$ em comparação aos grupos do mesmo sexo; (@@) denota $p < 0,01$ diferença entre machos e fêmeas (análise de variância unidirecional/teste de Tukey).

A Figura 2 demonstra os efeitos dos tratamentos no comportamento tipo-depressivo através do TBS. Foi possível observar que a indução com LPS causou uma diminuição no tempo de auto-limpeza dos animais, enquanto que os tratamentos causaram uma melhora frente este comportamento, corroborando com o efeito do tipo-antidepressivo da Cur, tanto livre como NcCur. Não houveram diferenças significativas entre tratamentos, porém em machos as nanocápsulas apresentaram um efeito mais significativo que o livre, enquanto que o inverso foi observado em fêmeas, demonstrando a heterogeneidade nestes parâmetros avaliados, e novamente acentuando a necessidade de avaliação em ambos os sexos.

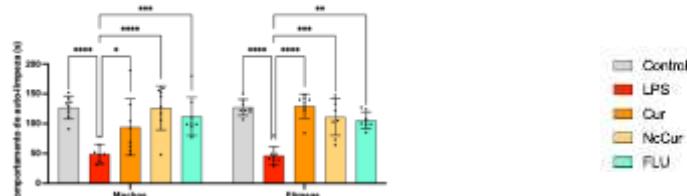


Figura 2. Avaliação do efeito dos diferentes tratamentos no modelo de indução por LPS no Teste de Borrifagem de Sacarose (TBS) em relação ao tempo no comportamento de autolimpeza. Os dados são relatados como média ± erro padrão da média (S.E.M) de 8 animais por grupo. (****) denota $p<0,0001$; (**) denota $p<0,001$; (**) denota $p<0,01$ e (*) denota $p<0,05$ em comparação aos grupos de mesmo sexo (análise de variância unidirecional/teste de Tukey).

Nas Figuras 3A e 3B, observam-se as atividades da MAO-A e MAO-B, respectivamente, em córtex cerebral pré-frontal. O LPS aumentou a atividade da MAO-A e da MAO-B em ambos os sexos avaliados, sendo este um resultado esperado, uma vez que a administração de LPS regula positivamente esta enzima (RATIU et al., 2018). Os tratamentos demonstraram ser eficazes em restaurar esse aumento, exceto no caso das fêmeas em relação à atividade da MAO-B. Evidencia-se o efeito da Cur, tanto livre quanto nanoencapsulada, frente a atividade desta enzima, sendo este um resultado muito importante para fármacos anti-depressivos.

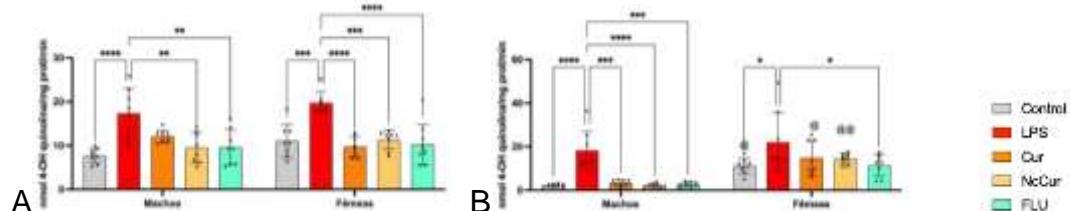


Figura 3. Efeito dos diferentes tratamentos frente inibição da enzima monoamina oxidase (MAO) em de córtex de camundongos. Os dados são relatados como média ± erro padrão da média (S.E.M) de 8 animais por grupo. (****) denota $p<0,0001$; (**) denota $p<0,001$; (**) denota $p<0,01$ e (*) denota $p<0,05$ em comparação aos grupos do mesmo sexo. (@@) denota $p<0,01$ e (@) denota $p<0,05$ diferença entre machos e fêmeas (análise de variância unidirecional/teste de Tukey).

As diferenças observadas nos resultados entre machos e fêmeas ressaltam a importância de considerar o sexo como uma variável crítica, como no modelo induzido por LPS (CAITLIN et al., 2019).

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que o tratamento com as formulações de Cur e NcCurEUD apresentam efeitos do tipo-ansiolítico e do tipo-antidepressivo em modelo de indução por LPS, sendo que o tratamento com NcCur apresentou alguns destaque quando comparada ao grupo Cur. Entretanto, mais

estudos serão necessários para elucidar mecanismos envolvidos a estes tratamentos, bem como aprofundar conhecimento entre machos e fêmeas frente estes tratamentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGARWAL B.B.; HARIKUMAR K.B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 41, n. 1, p. 40-59, 2008.
- BARBARA, R. et al. Novel Curcumin loaded nanoparticles engineered for Blood-Brain Barrier crossing and able to disrupt Abeta aggregates. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 525, n. 1-2, p. 413-124, 2017.
- CAITLIN E. et al. The Sex-specific Effects of LPS on Depressive-like Behavior and Oxidative Stress in the Hippocampus of the Mouse. **Neuroscience**, v. 399, p. 77-88, 2019.
- CUIJIPERS, P. et al. The effects of psychotherapies for major depression in adults on remission, recovery and improvement: A meta-analysis. **Journal of Affective Disorders**, v. 159, p. 118-126, 2014.
- DAMIRA, F. et al. Features of the genetically defined anxiety in mice. **Behavior Genetics**, v. 30, p. 101-109, 2000.
- Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). **Depression: Learn More – How effective are antidepressants?**. InformedHealth.org, 2006. Online. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK361016/>
- ISINGRINI, E. et al. Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. **PloS one**, v. 5,4, n. 10404, 2010.
- NOORI, T. et al. The Role of Natural Products in Treatment of Depressive Disorder. **Current neuropharmacology**, v. 20, n. 5, p. 929-949, 2022.
- OLIVEIRA, V.A. et al. Benefits of regular practice of physical activity in the treatment of depression: An narrative review of the literature. **Research, Society and Development**, v. 13, n. 5, p. e8013545827, 2024.
- PORSOLT, R.D. et al. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. **European journal of pharmacology**, v. 57, n. 2-3, p. 201-210, 1979.
- SANTOS, R.B. et al. Curcumin-loaded nanocapsules: Influence of surface characteristics on technological parameters and potential antimalarial activity. **Materials Science & Engineering**, v. 118, p. 111356, 2021.
- TOZZI L. et al. Personalized brain circuit scores identify clinically distinct biotypes in depression and anxiety. **Nature Medicine**, v. 30, p. 2076–2087, 2024.
- WALF, A.A.; FRYE, C.A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature protocols**, v. 2, n. 2, p. 322-328, 2007.
- WANG, Y. et al. Efficacy and safety of Chinese herbal medicine for depression: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of Psychiatric Research**, v. 117, p. 74-91, 2019.
- World Health Organization (2023). **Depressive disorder (depression)**. Organização Mundial da Saúde (OMS). Acessado em 18 set. 2024. Online. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
- XU, Y. et al. The effects of curcumin on depressive-like behaviors in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 518, n. 1, p. 40-46, 2005.
- YIN, R. et al. Lipopolysaccharide-induced depression-like model in mice: meta-analysis and systematic evaluation. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 2023.