# AVALIAÇÃO DE NANOCÁPSULAS DE NÚCLEO LIPÍDICO CONTENDO CURCUMINA EM MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER

**Flávia Elizabete Guerra Teixeira** [1]

**Renata Giacomeli** [2]

**Cristiano Ricardo Jesse** [3]

**Sandra Elisa Haas** [4]

**Resumo:**

INTRODUÇÃO: A doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio neurodegenerativo e a forma mais comum de demência. A neuroinflamação é um fator importante na patogênese da DA, que inclui a ativação de células da glia e a expressão de mediadores inflamatórios como o NF-kB. A curcumina foi investigada como um composto potencial para a prevenção e tratamento da DA. No entanto, o uso de curcumina in vivo ainda é limitado pela sua baixa biodisponibilidade devido à sua instabilidade em condições fisiológicas que podem ser contornadas com a nanotecnologia. Em seguida, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos de nanocápsulas com núcleo lipídico carregadas com curcumina em um modelo de DA induzido pelo peptídeo -amilóide. METODOLOGIA: Camundongos receberam curcumina livre (50 mg / kg) ou nanoencapsulada (1 ou 10 mg / kg) por via oral durante 14 dias após injeção intracerebroventricular de A1-42 ou veículo (CEUA nº 002/2015). Após o tratamento, os camundongos foram submetidos ao teste Morris Water Maze para avaliar a memória espacial. Após o teste comportamental, os camundongos foram eutanasiados e o hipocampo, o córtex pré-frontal e o sangue foram removidos para análises bioquímicas. Os resultados foram avaliados utilizando análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Ducan. RESULTADOS: Os resultados indicam que o tratamento foi capaz de atenuar o comprometimento da memória causado pela proteína A1-42. Além disso, a curcumina nanoencapsulada (10 mg / kg) teve um efeito significativo na redução dos danos à memória causados pelo peptídeo, alem de diminuir os níveis de NF-kB induzidos por A1-42 em comparação com a curcumina livre, sugerindo que a entrega de curcumina em nanopartículas ultrapassou sua instabilidade. Nenhum efeito tóxico foi observado com o tratamento com nanocápsulas. Concluímos que a curcumina é capaz de modular a neuroinflamação na DA, reduzindo os danos ao cérebro e sua forma nanoencapsulada potencializa seus efeitos.

**Palavras-chave:** Alzheimer; neuroinflamação; NF-kB; curcumina; nanocápsulas

**Modalidade de Participação:** Iniciação Científica

# AVALIAÇÃO DE NANOCÁPSULAS DE NÚCLEO LIPÍDICO CONTENDO CURCUMINA EM MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER

[1] Aluno de graduação. flaviaegt@gmail.com. Autor principal

[2] doutoranda. rennatinha.giacomeli@gmail.com. Co-autor

[3] docente. cristianoricardojesse@gmail.com. Co-autor

[4] Docente. sandra.haas@gmail.com. Orientador

# AVALIAÇÃO DE NANOCÁPSULAS DE NÚCLEO LIPÍDICO CONTENDO CURCUMINA EM MODELO ANIMAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio neurodegenerativo crônico e a forma mais comum de demência em pessoas idosas. A perda progressiva da memória e das funções cognitivas são os principais sintomas clínicos apresentados por pacientes afetados pela DA (Choi et al., 2014). Nos dias de hoje, a DA acomete milhões de pessoas no mundo. No Brasil, pesquisas mostram que em pessoas com mais de 65 anos que apresentavam demência a DA era responsável por 55% dos casos (Brasil, 2017).

A neuroinflamação é um fator importante na patogênese da DA, que inclui a ativação de células da glia e a expressão de mediadores inflamatórios como o fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kB). No Sistema Nervoso Central (SNC) os NF-kB são ativados por neuropatologias e apoptose, mas também participam da regulação de atividades neurais não-patológicas, como sinalizações sinápticas envolvidas no aprendizado e na memória (Franco, 2010).

A curcumina (CURC) é extraída da *Curcuma longa*, conhecida na culinária como açafrão. A CURC foi investigada como um composto potencial para a prevenção e tratamento da DA por ter propriedades anti-inflamatórias (Labann, 2014). No entanto, o uso de curcumina in vivo ainda é limitado pela sua baixa biodisponibilidade devido à sua instabilidade em condições fisiológicas que podem ser contornadas com a nanotecnologia.

Para superar as barreiras do SNC o uso de sistemas nanoparticulados vem-se mostrando promissor (Gregori et al., 2015). Diante disso, este trabalho tem como objetivo investigar os efeitos de nanocápsulas com núcleo lipídico carregadas com curcumina em um modelo de DA induzida pelo peptídeo β-amilóide (Aβ1-42).

## 2 METODOLOGIA

As nanocápsulas (NC) foram preparadas através do método de deposição interfacial de polímero, que consiste em duas fases: orgânica e aquosa, onde a orgânica será vertida sobre a aquosa. Após 10 minutos, o solvente é evaporado em evaporador rotatório sob pressão reduzida até atingir o volume de 10mL.

Os camundongos foram tratados com curcumina livre (50 mg/kg) ou nanoencapsulada (1 ou 10 mg/kg) durante 14 dias após receberem injeção intracerebroventricular (i.c.v.) de Aβ1-42 ou veículo. No dia 15 eles foram submetidos ao teste Morris Water Maze para avaliar a memória espacial. Para a realização desse teste os camundongos são colocados em uma piscina com água contendo quatro quadrantes – norte, sul, leste e oeste – e uma placa central que era o ponto de partida. Esse procedimento foi baseado no descrito por Prediger et al (2007). Após 24 horas os camundongos foram eutanasiados, tendo o córtex pré-frontal, hipocampo e sangue retirados para as análises bioquímicas. Todos os procedimentos realizados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA, protocolo 002/2015) da Universidade Federal do Pampa, Brasil.

Os níveis de NF-kB foram determinados utilizando o kit de ensaio InstantOne ELISA NF-kB p65, conforme as instruções do fabricante. Sucintamente, o hipocampo, o córtex pré-frontal e o soro foram homogeneizados com tampão de lise do kit específico, os lisados foram centrifugados e o sobrenadante foi removido para análise. Amostra, controle negativo e controle positivo foram incubados com cocktail de anticorpos seguido pelo Reagente de Detecção. A solução de paragem foi adicionada e a absorbância foi medida num leitor de

microplacas (450 nm). Os níveis de NF-kB foram expressos como densidade óptica relativa / mg de proteína.
As análises estatísticas realizadas para os resultados foram a Análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Ducan.

## 3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A partir do teste de Morris pode-se avaliar o tempo de latência para escape e o tempo que os animais permaneceram no quadrante correto. Os resultados encontrados elucidam que o tratamento com a CURC, tanto livre quanto nanoencapsulada, foi capaz de melhorar a memória dos animais quando comparados aos que receberam somente veículo. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Hoppe et al. (2013), que desenvolveram nanocápsulas de núcleo lipídico carregadas com CURC e demonstraram que a administração de CURC foi eficaz na prevenção de deficiências comportamentais.Os animais tratados com a CURC permaneceram mais tempo no quadrante correto. Em relação ao tempo de latência (procura pelo quadrante), os animais que não receberam nenhum tipo de tratamento tiveram sua memória prejudicada pelo Aβ1-42, pois necessitaram de mais tempo para encontrá-lo.

As citocinas inflamatórias tem um papel crítico na neurodegeneração da DA. Sabe-se que o Aβ1-42 é capaz de ativar o NF-κB e todas as citocinas pró-inflamatórias (He et al., 2011). Neste estudo observou-se que o Aβ1-42 aumentou os níveis de NF-κB no hipocampo, córtex pré-frontal e no sangue dos animais não tratados, confirmando a neuroinflamação. Há estudos que comprovam que a CURC tem um efeito inibitório na ativação do NF-κB (Manikandan et al., 2011; Huang et al., 2017; Akaishi e Abe, 2018) que foi comprovado com a diminuição nos níveis de NF-κB dos animais tratados com CURC.

Os resultados encontrados evidenciam a atividade da CURC frente ao Aβ1-42, pois ela foi capaz de atenuar a perda de memória dos animais, sendo que a CURC nanoencapsulada (10mg/kg) apresentou resultados significativos em comparação com a CURC livre, sugerindo que a entrega de curcumina em nanopartículas ultrapassou sua instabilidade. Nenhum efeito tóxico foi observado com o tratamento com nanocápsulas.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho demonstra que a CURC é capaz de modular a neuroinflamação na DA, sendo que sua forma nanoencapsulada potencializou seus efeitos contornando as barreiras fisiológicas. A partir disso pode-se sugerir que formulações de nanopartículas podem permitir o uso de doses menores e fornecer uma nova abordagem terapêutica para o tratamento da DA.

## REFERÊNCIAS

AKAISHI, T.; ABE, K. CNB-001, a synthetic pyrazole derivative of curcumin, suppresses lipopolysaccharide-induced nitric oxide production through the inhibition of NF-κB and p38 MAPK pathways in microglia. European Journal of Pharmacology. v. 819, p. 190–197, 2018.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença de Alzheimer. Portaria Conjunta nº 13, de 28 de novembro de 2017. Brasília (DF), 2017.

CHOI, Y.H. et al. Vaccinium uliginosum L. Improves Amyloid β Protein-Induced Learning and Memory Impairment in Alzheimer's Disease in Mice. Prev. Nutr. Food Sci., v. 19, p. 343-347, 2014.

FRANCO, D.G. Fator de transcrição nuclear Kappa B no sistema nervoso central: do fisiológico ao patológico. Revista da Biologia. v. 4, p. 35-39, 2010.
GREGORI, M.; MASSERINI, M.; MANCINI, S. Nanomedicine for the treatment of Alzheimer's disease. *Nanomedicine.* v. 10, p. 1203–1218, 2015.

HE, F.Q. et al. Tetrandrine attenuates spatial memory impairment and hippocampal neuroinflammation via inhibiting NF-κB activation in a rat model of Alzheimer's disease induced by amyloid-β (1–42). Brain research. v 1384, p. 89 – 96, 2011.

HOPPE, J.B. et al. Free and nanoencapsulated curcumin suppress β-amyloid-induced cognitive impairments in rats: involvement of BDNF and Akt/GSK-3β signaling pathway. *Neurobiol. Learn. Mem*. v. 106, p. 134-144, 2013.

HUANG, F. et al. Curcumin inhibits gastric cancer-derived mesenchymal stem cells mediated angiogenesis by regulating NF-κB/VEGF signaling. Am J Transl Res 12 p. 5538 – 5547, 2017.

LABBAN, L. Medicinal and pharmacological properties of Turmeric (*Curcuma longa*): A review. Int J Pharm Biomed Sci., v. 5, n. 1, p. 17-23, 2014.

MANIKANDAN, R. et al. Ameliorative effects of curcumin against renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B during gentamicin-induced toxicity in Wistar rats. European Journal of Pharmacology. v. 670, p. 578–585, 2011.

PREDIGER, R.D. et al. Differential susceptibility following beta-amyloid peptide-(1-40) administration in C57BL/6 andSwiss albino mice: Evidence for a dissociation between cognitive deficits and the glutathionesystem response. *Behav. Brain Res.* v. 177, p. 205-213, 2007.