

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS NEUROPROTETORES DE FORMULAÇÃO DE SISTEMA NANOESTRUTURADO PARA ADMINISTRAÇÃO INTRANASAL DE MELOXICAM NA ISQUEMIA CEREBRAL EXPERIMENTAL

Murilo Beraldo (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Luís Fernando Fernandes Miranda, Yves Henrique Mansano, José Guilherme Pinhatti Carrasco, Felipe Michelatto, Nathalia Akemi Neves Kohara, Rúbia Maria Monteiro Weffort (Orientador). E-mail: rmmwoliveira@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Farmacologia

Palavras-chave: anti-inflamatório; isquemia cerebral; administração intranasal.

RESUMO

Fármacos destinados a tratar lesões cerebrais possuem diversos obstáculos, como processos de mudanças em sua conformação ao passar pelo corpo através do sangue e a alta seletividade da barreira hematoencefálica. Por isso, faz-se essencial a busca por novas formas de fazer com que esses medicamentos cheguem ao encéfalo. Este estudo visou os efeitos do anti-inflamatório meloxicam (MEL) administrado diretamente no nariz de camundongos via intranasal (IN) ou *nose-to-brain* submetidos a isquemia cerebral. A via *nose-to-brain* oferece um alcance direto ao cérebro e é mais simples de ser administrada, aumentando a adesão de uso por pacientes, além de aumentar a biodisponibilidade do fármaco. Para isso, uma formulação nanoestruturada, mucoadesiva e termorresponsiva do anti-inflamatório MEL (MEL-nano) foi introduzida diretamente no nariz de camundongos isquêmicos e os resultados comparados com a administração por via oral. A isquemia cerebral foi induzida por oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC). Os animais receberam o tratamento com MEL-nano uma hora após o procedimento e durante 3 dias consecutivos duas vezes ao dia. Após o tratamento, os cérebros desses animais isquêmicos foram retirados e histologicamente processados, para examinar a neurodegeneração no hipocampo e possíveis efeitos neuroprotetores da formulação MEL-nano. Foi evidenciado neurodegeneração na região CA1 do hipocampo em animais isquêmicos que receberam a formulação IN comparados ao Sham ($p < 0,05$). Houve também neurodegeneração na região CA3 dos animais isquêmicos tratados por via IN ou oral quando comparados ao grupo Sham ($p < 0,05$). Observou efeito neuroprotetor na região CA3 apenas quando se administrou MEL-nano por via oral em animais isquêmicos.

INTRODUÇÃO

A isquemia cerebral (IC) é acometida pela redução do fluxo sanguíneo cerebral (FSC), podendo ser focal, pela oclusão de artéria cerebral (AVC), ou global, por parada cardíaca, hipotensão severa ou choque e dependem de múltiplos fatores, como local, extensão e duração da hipoperfusão (Meyer et al., 2021; Wang et al., 2018). A falta de suprimento de oxigênio e glicose para os tecidos é incapaz de manter o metabolismo celular, causando despolarização, liberação excessiva de glutamato, influxo de cálcio e consequentemente, liberação de espécies reativas de oxigênio e radicais, indutores de apoptose, autofagia, neuroinflamação e neurodegeneração. As células piramidais das subáreas do hipocampo CA1 - CA3 são as mais sensíveis a tal condição, sendo afetadas pelos mecanismos de inflamação, necrose e apoptose (Sadeghzadeh *et al.*, 2023).

Evidências experimentais indicam que o anti-inflamatório meloxicam (MEL) administrado por via intra-peritoneal (i.p.) ou oral reduz a lesão isquêmica e melhora desfechos comportamentais pós-isquêmicos, com efeitos neuroprotetores até 7 dias da isquemia. O MEL regula a inflamação, favorecendo o crescimento axonal próximo à área infartada, além de influenciar cicatriz glial e reatividade astrocitária (Antiorio et al., 2022). No entanto, a administração oral ou i.p. de fármacos apresentam problemas, como a baixa biodisponibilidade e dificuldade de atravessar a barreira hemato encefálica. Neste sentido, a administração intranasal (IN), é uma via não invasiva que permite ação local, sistêmica e no cérebro com absorção rápida, alta biodisponibilidade e sem metabolismo de primeira passagem, além de contornar a barreira hematoencefálica via rotas olfatória e trigeminal (Erdő et al., 2018).

Sob esta óptica, este projeto investigou se a fórmula nanoestruturada com MEL (MEL-nano), aplicada por via IN ou via *nose-to-brain*, pode reduzir a degeneração neuronal causada pela IC. Também comparou os efeitos dessa formulação com a administração oral da mesma em um estudo paralelo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos jovens submetidos a isquemia cerebral global transitória através da técnica de oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC). Após a eutanásia, os cérebros foram extraídos, processados e marcados pela técnica imunohistoquímica para NeuN com o propósito de detectar neurônios maduros. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (4320080223.). A neurodegeneração hipocampal foi medida através da obtenção da densidade óptica integrada (DOI) dos neurônios NeuN-imunoreativos nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo.

Para a avaliação da eficácia da cirurgia e posterior avaliação da neuroproteção pela administração de MEL-nano via IN foram utilizados 5 grupos experimentais: Sham (n= 5 - 6), ISQVGVO (n= 5 - 6), ISQMELVO (n= 4 - 5), ISQVGIN (n= 6 - 7) e ISQMELIN (n= 4 - 6), sendo estes subdivididos e analisados separadamente de acordo com as respectivas subáreas CA1 e CA3 do hipocampo. Sham = sem isquemia; ISQVGVO = isquemia + veículo + via-oral; ISQMELVO =

isquemia + MEL-nano + via oral; ISQVGIN = isquemia + veículo + via intranasal; ISQMELIN = isquemia + MEL-nano + via intranasal.

As análises estatísticas foram realizadas pela ANOVA, seguida do teste post-hoc de Tukey, considerando uma significância estatística para um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme demonstrado na figura 1A, evidenciou-se que animais isquêmicos dos grupos ISQVGIN e ISQMELIN apresentaram uma diminuição significativa da DOI na região CA1 do hipocampo quando comparados aos seus controles Sham ($p < 0.05$). Nenhum efeito estatisticamente significativo foi detectado em animais que receberam o tratamento MEL-nano por via oral ($p > 0.05$). Quando avaliada a região CA3 na figura 1B, observou-se que animais do grupo ISQVGVO foram diferentes do grupo Sham ($p < 0.05$). A administração de MEL-nano, resultou em neuroproteção via oral uma vez que o grupo ISQMELVO não foi diferente do grupo Sham. Animais isquêmicos que receberam o tratamento por via IN apresentaram significativa neurodegeneração na sub-região CA3 do hipocampo ($p < 0.05$), o que não foi modificado pelo tratamento com MEL-nano.

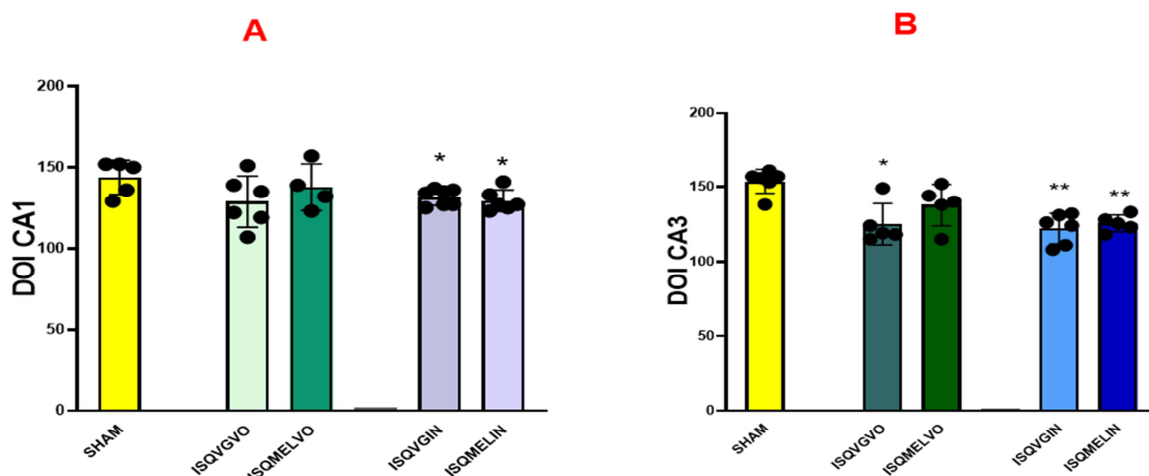


Figura 1: Densidade óptica integrada (DOI) de neurônios imunorreativos para NeuN das subregiões CA1 (A) e CA3 (B) do hipocampo. As colunas representam as médias e as barras verticais os erros padrões das médias dos grupos experimentais. * $p < 0.05$ e ** $p < 0.001$ quando comparados ao grupo Sham. Sham = sem isquemia; ISQVGVO = isquemia + veículo + via-oral; ISQMELVO = isquemia + MEL-nano + via oral; ISQVGIN = isquemia + veículo + via intranasal; ISQMELIN = isquemia + MEL-nano + via intranasal.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam efeito neuroprotetor da formulação MEL-nano administrada por via oral na sub-região CA3 do hipocampo de animais isquêmicos. Não foi observado efeito neuroprotetor na sub-região CA1 do hipocampo. Experimentos adicionais deverão ser conduzidos utilizando outros esquemas de tratamento e doses (posologia) de MEL-nano para se compreender melhor os efeitos desta formulação na isquemia cerebral experimental.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste estudo. Aos meus orientadores e à equipe do laboratório.

REFERÊNCIAS

- ANTIORIO, A. T.; ALEMÁN-LAPORTE, J.; ZANATTO, D. A.; PEREIRA, M. A. A.; GOMES, M. S.; WADT, D.; YAMAMOTO, P. K.; BERNARDI, M. M.; MORI, C. M. **Mouse behavior in the open-field test after meloxicam administration.** Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, v. 61, n. 3, p. 270-274, 2022.
- ERDŐ, F.; BORS, L. A.; FARKAS, D.; BAJZA, Á.; GIZURARSON, S. **Evaluation of intranasal delivery route of drug administration for brain targeting.** Brain Research Bulletin, v. 143, p. 155-170, out. 2018.
- MEYER, E.; DE MATTOS, B. A.; KIRCHHOFF, F.; et al. **Neuroprotective effects of cannabidiol under cerebral ischemic conditions.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 31, p. 579-591, 2021.
- SADEGHZADEH, J.; HOSSEINI, L.; MOBED, A.; ZANGBAR, H. S.; JAFARZADEH, J.; PASBAN, J.; SHAHABI, P. **The impact of cerebral ischemia on antioxidant enzymes activity and neuronal damage in the hippocampus.** Cellular and Molecular Neurobiology, v. 43, n. 8, p. 3915-3928, 2023.
- WANG, Y.; et al. **Global cerebral ischemia induced by cardiac arrest and hemorrhagic hypotension: mechanisms and therapeutic perspectives.** International Journal of Molecular Sciences, v. 19, n. 3, p. 1-20, 2018.