

3-(4-CLOROFENILSELENIL)-1-METIL-1H-INDOL REDUZ A DOR NEUROPÁTICA INDUZIDA PELA CONSTRIÇÃO PARCIAL DO NERVO CIÁTICO EM CAMUNDONGOS

MARIA EDUARDA WALERKO TILLMANN¹; PALOMA T. BIRMANN²; FERNANDA S. S. SOUSA², MICAELO DOMINGUES², BEATRIZ M. VIEIRA³, LUCIELLI SAVEGNAGO⁴

¹Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia da Universidade Federal de Pelotas – mariaeduardawalerko@gmail.com

²Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia da Universidade Federal de Pelotas - paloma_birman@gmail.com; nandinha_sousa4@hotmail.com; micaela_domingues@hotmail.com;

³Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da Universidade Federal de Pelotas - blamvieira14@hotmail.com

⁴Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia e Laboratório de Síntese Orgânica Limpa, Universidade Federal de Pelotas - luciellisavegnago@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A dor crônica é um problema de saúde que afeta milhões de pessoas em todo o mundo com uma prevalência estimada de 20,3%, segundo VAN HECKE et al. (2014). A dor neuropática (DN) é causada por lesão e/ou inflamação do sistema nervoso, caracterizada pela ativação de neurônios e células gliais, as quais liberam citocinas pró-inflamatórias e aumentam os níveis de espécies reativas, levando ao desenvolvimento da hiperalgésia (NICKELE et al., 2012). O tratamento atualmente utilizado, o qual é o conjunto de drogas antidepressivas, como a imipramina (IMI) e anti-inflamatórios, não é completamente eficaz, (DEMUYSER et al., 2016), a resposta a eles ainda é baixa e apresentam efeitos adversos, além da descontinuidade prematura ao tratamento ser recorrente (SELTZER et al., 1990).

Diante disto, há um aumento na busca por novos compostos que possam minimizar os efeitos desta patologia. Desta maneira, os compostos orgânicos de selênio ganham uma importante atenção, uma vez que estes apresentam propriedades biológicas relevantes (BIRMANN et al., 2018)(PADILHA et al., 2017)(CASARIL et al., 2017). Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito anti-hiperlgésico e a possível contribuição da via do óxido nítrico (ON) no efeito do 3-(4-clorofenilselenil)-1-metil-1H-indol (CMI) em um modelo de DN induzido pela constrição parcial do nervo ciático (PSNL).

2. METODOLOGIA

2.1. Animais

Foram utilizados camundongos Swiss machos, pesando entre 25 e 30g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFPel (CEEA 2226-2018).

2.2. Moléculas

O CMI (Fig.1), sintetizado pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPel, conforme previamente descrito por VIEIRA et al., (2015), foi dissolvido em óleo de canola e administrado pela via intragástrica (i.g.) nos camundongos na dose de 10 mg/kg. A IMI, um controle positivo, obtida por meio comercial, foi dissolvida em solução salina (0,9%) e administrada via i.g. nos camundongos na dose de 10 mg/kg.

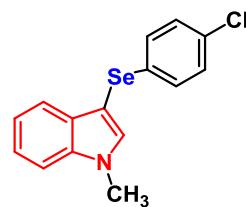


Figura 1. Estrutura química do 3-(4-clorofenilselenenil)-1-metil-1*H*-indol (CMI)

2.3. Protocolo experimental

A PSNL foi realizada de acordo com o método descrito por SELTZER et al., (1990), com algumas alterações, para induzir DN nos camundongos.

Para a realização da PSNL, os animais foram anestesiados utilizando cetamina (150 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) intraperitonealmente (i.p.). O nervo ciático direito foi exposto e isolado dos tecidos adjacentes. Uma ligadura foi feita aproximadamente 1/3 do diâmetro do nervo ciático. Finalmente, o tecido muscular e a pele foram imediatamente suturados. Um procedimento similar foi realizado sem a ligadura do nervo nos camundongos *sham-operados* (animais controle). Após 4 semanas administrou-se o CMI, IMI e veículo (óleo de canola e salina), e após 30 minutos da administração, os animais foram submetidos aos testes comportamentais e eutanasiados para separação do córtex cerebral e hipocampo para análise dos níveis do ON (Fig. 2).

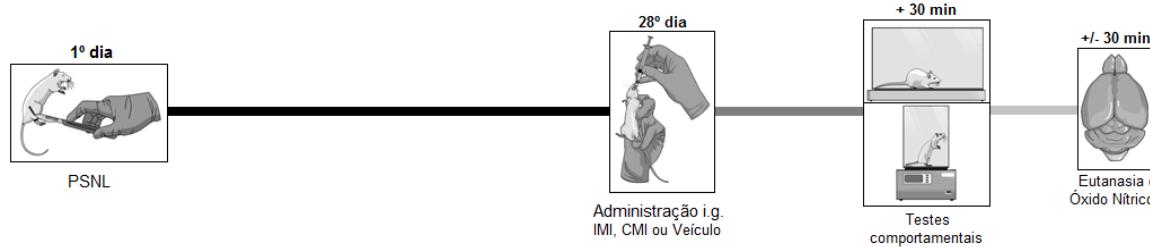


Figura 2: Protocolo experimental.

2.3.1. Testes comportamentais

2.3.1.1. Teste do campo aberto (TCA)

O teste foi realizado de acordo com WALSH et al., (1976), onde após 30 minutos da administração do composto, os animais foram colocados no centro de uma caixa dividida em nove quadrantes, e observaram-se os levantamentos (quando se apoiam somente nas patas traseiras) e os cruzamentos (quando o camundongo coloca as quatro patas em um novo quadrante) durante 5 minutos.

2.3.1.2. Teste da placa quente

Os animais foram colocados dentro de um cilindro de acrílico sobre a superfície de uma placa de metal previamente aquecida a 52±1 °C (aparelho de placa quente). O tempo de latência que o animal lambeu, mordeu ou levantou as patas sobre a placa previamente aquecida, foi contado e considerado como indicativo de efeito de alodinia (YALCIN et al., 2009). Assim o teste foi realizado após a realização do TCA. Foram desprezados aqueles animais que permaneceram acima dos 45 segundos na placa aquecida sem reagir ao estímulo térmico.

2.3.2. Teste bioquímico

2.3.2.1. Óxido nítrico (ON)

Os níveis de ON foram medidos indiretamente através da dosagem dos produtos de oxidação estáveis do metabolismo do óxido nítrico, os nitratos,

utilizando a reação colorimétrica com o reagente de Griess e lido em espectrofotômetro a 540nm (CRYAN et al., 2002).

2.4. Análises estatísticas

Os resultados foram analisados por Análise de Variância ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Newman-Keuls, através do software GraphPad Prism 5.0. Os resultados estão expressos como média ± erro padrão da média e considerados significativos quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito do CMI no TCA

Nenhum dos tratamentos e nem a PSNL alterou a atividade locomotora dos animais, demonstrando que a locomoção motora não é um interferente nos demais testes comportamentais realizados (dados não mostrados).

3.2. Efeitos do CMI na alodínia induzida pelo PSNL

Na figura 3 observa-se que após 4 semanas da PSNL houve uma diminuição no tempo de latência à resposta nociceptiva no teste da placa quente quando comparado ao grupo *sham*-veículo, e ambos os tratamentos, CMI e IMI foram efetivos em reverter a hiperalgesia térmica através do aumento no tempo de latência à estímulos térmicos quando comparado ao grupo PSNL.

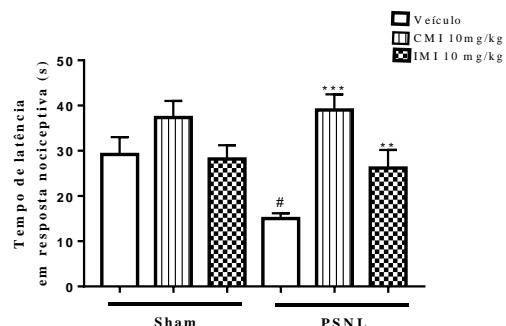


Figura 3. Efeito anti-alodínico do CMI induzido por PSNL no teste da placa quente. A análise estatística foi avaliada por ANOVA de uma via seguido do teste *post-hoc* de Newman-Keuls. # $p < 0,05$ quando comparado com o grupo *sham*-veículo. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ quando comparado com o grupo PSNL-veículo.

3.3. Efeito do CMI nos níveis de óxido nítrico

Os níveis de ON aumentaram significativamente no córtex cerebral (fig. 4A) e no hipocampo (fig. 4B) dos camundongos submetidos ao PSNL, quando comparados aos do grupo *sham*-veículo. Ambos os tratamentos com CMI e IMI se mostraram eficazes em reverter esse aumento de ON nas duas estruturas cerebrais analisadas.

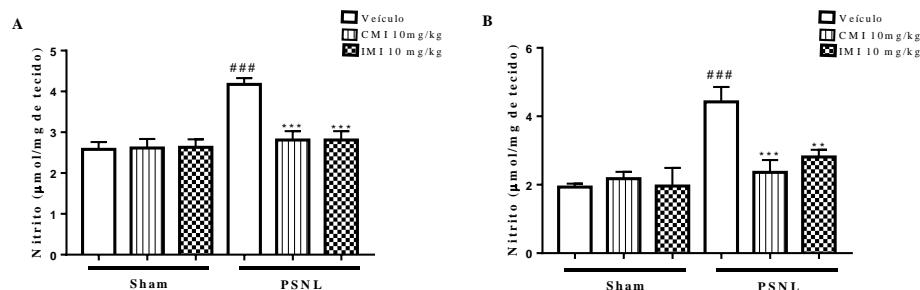


Figura 4. Efeito do CMI e da IMI nos níveis de óxido nítrico em córtex cerebral (A) e hipocampo (B) dos animais submetidos ao PSLN. A análise estatística foi avaliada por ANOVA de uma via seguido do teste *post-hoc* de Newman-Keuls. *** p< 0,001 quando comparado com o grupo *sham*-veículo. ** p<0,01 e *** p<0,001 quando comparado com o grupo PSLN-veículo.

4. CONCLUSÕES

Com esse estudo pode-se concluir que o CMI é uma molécula que apresenta efeito anti-hiperalgésico com uma contribuição da via do óxido nítrico frente à indução de DN causada pela PSLN. Com isso, mais estudos com essa molécula fazem se necessários para que se possa chegar a um fármaco com aplicação, visto que os resultados apresentados levam a crer que essa é uma molécula com alto potencial para se tornar um medicamento para DN.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIRMAN, Paloma T. et al. 3-(4-Chlorophenylselanyl)-1-methyl-1H-indole, a new selenium compound elicits an antinociceptive and anti-inflammatory effect in mice. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 827, p. 71–79, 2018.
- CASARIL, Angela M. et al. Antidepressant-like effect of a new selenium-containing compound is accompanied by a reduction of neuroinflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide-challenged mice. **Journal of Psychopharmacology**, [s. l.], v. 31, n. 9, p. 1263–1273, 2017.
- CRYAN, J. F.; MARKOU, A; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in pharmacological sciences**, [s. l.], v. 23, n. 5, p. 238–245, 2002.
- DEMUYSER, Thomas et al. Disruption of the HPA-axis through corticosterone-release pellets induces robust depressive-like behavior and reduced BDNF levels in mice. **Neuroscience Letters**, [s. l.], v. 626, p. 119–125, 2016.
- NICKEL, Florian T. et al. Mechanisms of neuropathic pain. **European Neuropsychopharmacology**, [s. l.], v. 22, n. 2, p. 81–91, 2012.
- PADILHA, Gustavo et al. Convenient Michael addition/β-elimination approach to the synthesis of 4-benzyl- and 4-aryl-selenyl coumarins using diselenides as selenium sources. **Tetrahedron Letters**, [s. l.], v. 58, n. 10, p. 985–990, 2017.
- SELTZER, Ze'ev; DUBNER, Ronald; SHIR, Yoram. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. **Pain**, [s. l.], v. 43, n. 2, p. 205–218, 1990.
- VIEIRA, Beatriz M. et al. Sonochemistry: An efficient alternative to the synthesis of 3-selanylindoles using Cul as catalyst. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 27, p. 192–199, 2015.
- WALSH, Roger N.; CUMMINS, Robert A. The open-field test: A critical review. **Psychological Bulletin**, [s. l.], v. 83, n. 3, p. 482–504, 1976.
- YALCIN, Ipek et al. Differentiating Thermal Allodynia and Hyperalgesia Using Dynamic Hot and Cold Plate in Rodents. **Journal of Pain**, [s. l.], v. 10, n. 7, p. 767–773, 2009.