

EFEITO SUPRESSOR DO DISSELENETO DE BIS-(3-AMINO-2-PIRIDINA) NAS LESÕES CUTÂNEAS TIPO-DERMATITE ATÓPICA ATRAVÉS DA MODULAÇÃO DA ENZIMA MIELOPEROXIDASE

CAREN ALINE RAMSON DA FONSECA¹; THIAGO JACOBSEN PEGLOW²;
RICARDO FREDERICO SCHUMACHER³; GELSON PERIN⁴; CRISTIANE
LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – carenramson@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – thiago_lasol@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – ricardo.schumacher@ufsm.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – gelson_perin@ufpel.edu.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br (coorientadora)

⁶Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora).

1. INTRODUÇÃO

A dermatite atópica (DA) é o tipo mais comum de alergia cutânea, caracterizada por espessamento e ressecamento da pele, além de inflamação eczematosa (LEUNG, 1999). A morbidade, especialmente nos países desenvolvidos, atinge até 30% das crianças e 10% dos adultos, ocasionando um impacto significativo na qualidade de vida dos portadores (HEINL et al. 2016). Essa patologia multifatorial e complexa manifesta uma resposta imune hiperativa a diversos fatores, como fatores genéticos, distúrbios ambientais, farmacológicos e defeitos da barreira cutânea (MISERY, 2011).

As circunstâncias da DA são contínuas e geralmente mostram um padrão de exacerbação e remissão com tratamentos intermitentes e surtos periódicos (GARMHAUSEN et al. 2013). Não existe um tratamento padrão para todos os casos de DA e as opções terapêuticas comuns são as mesmas para crianças ou adultos, especialmente para formas leves a moderadas de DA. O tratamento atual visa controlar os pontos fundamentais da doença e consiste no uso de glicocorticóides, como ciclosporina e dexametasona (MEGNA et al. 2017). No entanto, o uso prolongado destes medicamentos pode levar a vários efeitos adversos (OTANI et al. 2015).

Nesse contexto, os compostos de piridina e organoselênio têm atraído atenção no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que, apresentam diferentes atividades biológicas, como a anti-inflamatória (MÁRQUEZ-FLORES et al. 2011; PINZ et al. 2016) e a antioxidante (WORACHARTCHEEWAN et al. 2012; VOGT et al. 2018). Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades farmacológicas do composto disseleneto de bis-(3-amino-2-piridina) (BAPD) em um modelo de DA, destacando a sua possível ação anti-inflamatória em camundongos.

2. METODOLOGIA

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) (CEEA 4294-2015). Foram utilizados camundongos fêmeas da raça BALB/c provenientes do Biotério Central da UFPEL. O BAPD (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPEL (PEGLOW et al. 2017).

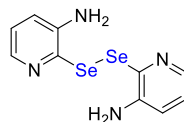


Figura 1. Estrutura química do BAPD.

A pele dorsal dos camundongos foi sensibilizada nos dias 1-3 através da aplicação tópica de 2,4-dinitroclorobenzeno (DNCB). Posteriormente, os camundongos foram desafiados com 20 µl de DNCB na orelha e 200 µl na pele dorsal nos dias 14, 17, 20, 23, 26 e 29. O tratamento dos animais foi realizado pela via oral (v.o.) com o BAPD (1 e 5 mg/kg), dexametasona (5 mg/kg) ou veículo (óleo de canola, 10 ml/kg) dos dias 14 a 29.

A pontuação clínica das lesões na pele foi mensurada no dia 30, através do escore total de gravidade das lesões, conforme metodologia descrita PARK et al. (2014). Os cinco sinais de lesões cutâneas foram: (1) prurido/coceira, (2) eritema/hemorragia, (3) edema, (4) escoriação/erosão e (5) descamação/secura. Os sintomas acima mencionados foram classificados da seguinte forma: 0 (sem sintomas), 1 (leve), 2 (moderado) e 3 (grave).

Para avaliar as mudanças comportamentais do tipo DA, o teste comportamental de coçar foi realizado no dia 30. Durante 20 minutos, foi medido e registrado o tempo que os camundongos passavam coçando o nariz, orelhas e a pele dorsal com as patas traseiras (KIM et al. 2014). Os resultados obtidos foram expressos em segundos (s).

Após o teste comportamental, os animais foram submetidos a eutanásia. O edema de orelha e a atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) foram realizados a fim de avaliar o processo inflamatório. Para a determinação do edema, as orelhas foram cortadas na base e foi mensurada a diferença de peso entre as mesmas (orelha controle (esquerda), orelha induzida com DNCB (direita)). A diferença foi estabelecida em uma balança analítica e os resultados foram representados em peso (mg).

Posteriormente, a atividade enzimática da MPO foi determinada de acordo com o método descrito por SUZUKI et al. (1983), com algumas modificações. O ensaio foi mensurado na orelha direita e no dorso dos camundongos. Os resultados foram expressos como densidade óptica (DO)/mg de proteína/min.

A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de D'Agostino e Pearson. Os resultados foram analisados por ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os dados foram expressos como média ± S.E.M. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o DNCB aumentou significativamente os escores de gravidade de lesões na pele (Figura 2A e B), bem como o tempo de coceira, quando comparado ao grupo controle (Figura 3A). O tratamento com o BAPD (1 e 5 mg/kg) foi capaz de reduzir a gravidade das lesões cutâneas, assim como diminuir o tempo de coceira causado pela indução. Além disso, o tratamento com a dexametasona (5 mg/kg) também foi eficaz em reduzir o tempo de coceira, porém não foi efetivo em diminuir a gravidade das lesões.

As figuras 3B, 4A e 4B ilustram o efeito da administração oral de BAPD no edema de orelha e na atividade enzimática da MPO na orelha e no dorso dos camundongos, respectivamente. Os resultados revelaram que o DNCB aumentou significativamente o edema de orelha e a atividade da MPO na orelha e no dorso

dos animais, quando comparado ao grupo controle. O tratamento com o BAPD (1 e 5 mg/kg) ou a dexametasona (5 mg/kg) foi capaz de reduzir o processo inflamatório, uma vez que, diminuiu o edema de orelha e restaurou a atividade da MPO na orelha dos camundongos. O BAPD, na dose de 1 mg/kg, reduziu a atividade da MPO no dorso, quando comparado ao grupo induzido. No entanto, o tratamento com o BAPD (5 mg/kg) ou a dexametasona (5 mg/kg) não protegeu contra o aumento da atividade da enzima MPO no dorso dos animais (Figura 4B).

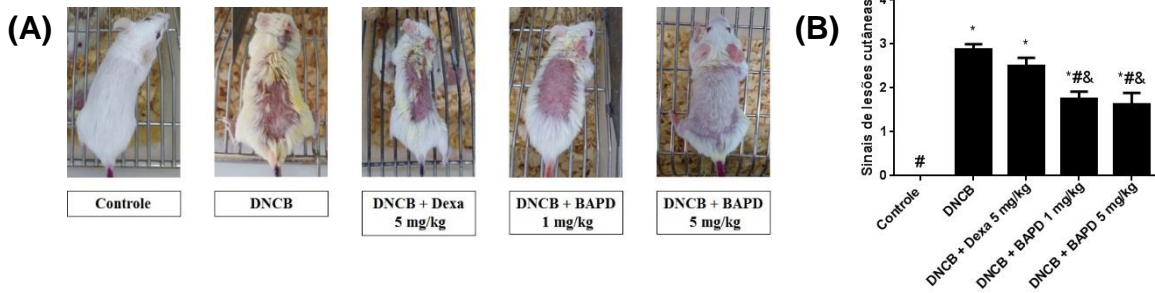


Figura 2. Efeito do tratamento oral com o BAPD nos sintomas semelhantes aos de DA induzidos por DNCB em camundongos. (A) Imagens das lesões cutâneas no dorso e na orelha dos camundongos registradas no último dia do experimento (dia 30). (B) Escores de dermatite avaliados no dia 30. Os dados representam a média \pm S.E.M. (ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Newman-Keuls). (*) $p < 0,05$ quando comparado com o grupo controle, (#) $p < 0,05$ quando comparado com o grupo DNCB, (&) $p < 0,05$ quando comparado com o grupo dexametasona.



Figura 3. Efeito do tratamento oral com o BAPD na incidência de coçar (A) e no edema de orelha (B) induzido por DNCB. Os dados representam a média \pm S.E.M. (ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Newman-Keuls). (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle, (#) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo DNCB, (&) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo dexametasona.



Figura 4. Efeito do tratamento oral com o BAPD na atividade da MPO na orelha (A) e no dorso (B) dos camundongos. Os dados representam a média \pm S.E.M. (ANOVA unidirecional seguida pelo teste de Newman-Keuls). (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle, (#) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo DNCB, (&) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo dexametasona.

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o composto BAPD apresentou ações anti-inflamatórias em camundongos, mostrando-se como uma promissora alternativa terapêutica para o tratamento da DA. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar os mecanismos envolvidos nesta ação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GARMHAUSEN, D.; HAGEMANN, T.; BIEBER, T.; DIMITRIOU, I.; FIMMERS, R.; DIEPGEN, T.; NOVAK, N. Characterization of different courses of atopic dermatitis in adolescent and adult patients. **Allergy**, v.68, n.4, p.498-506, 2013.
- HEINL, D.; PRINSEN, C.A.; DRUCKER, A.M.; OFENLOCH, R.; HUMPHREYS, R.; SACH, T.; FLOHR, C.; APFELBACHER, C. Measurement properties of quality of life measurement instruments for infants, children and adolescents with eczema: protocol for a systematic review. **Systematic Reviews**, v.5, n.25, p.1-10, 2016.
- KIM, H.; KIM, J.R.; KANG, H.; CHOI, J.; YANG, H.; LEE, P.; KIM, J.; LEE, K.W. 7,8,4'-Trihydroxyisoflavone attenuates DNCB-induced atopic dermatitis-like symptoms in NC/Nga mice. **PLoS One**, v.9, n.8, p.e104938, 2014.
- LEUNG, D.Y. Pathogenesis of atopic dermatitis. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.104, n.3, p. 99-108, 1999.
- MÁRQUEZ-FLORES, Y.K.; CAMPOS-ALDRETE, M.E.; SALGADO-ZAMORA, H.; CORREA-BASURTO, J.; MELÉNDEZ-CAMARGO, M.E. Docking simulations, synthesis, and anti-inflammatory activity evaluation of 2-(N-alkyl)amino-3-nitroimidazo[1,2-a]pyridines. **Medicinal Chemistry Research**, v.21, n.6, p.775-782, 2011.
- MEGNA, M.; NAPOLITANO, M.; PATRUNO, C.; VILLANI, A.; BALATO, A.; MONFRECOLA, G.; AYALA, F.; BALATO, N. Systemic Treatment of Adult Atopic Dermatitis: A Review. **Dermatology and Therapy**, v.7, n.1, p.1-23, 2017.
- MISERY, L. Therapeutic perspectives in atopic dermatitis. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v.41, n.3, p.267-271, 2011.
- OTANI, N.; AKIMOTO, T.; YAMAZAKI, T.; HONMA, S.; NAGATA, D. Atopic dermatitis, cyclosporine, and nephrotoxicity. **CEN Case Reports**, v.4, n.1, p.117-118, 2015.
- PARK, G.; OH, M.S. Inhibitory effects of Juglans mandshurica leaf on allergic dermatitis-like skin lesions-induced by 2,4-dinitrochlorobenzene in mice. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v.66, n.2-3, p.97-101, 2014.
- PEGLOW, T. J.; SCHUMACHER, R. F.; CARGNELUTTI, R.; ANGÉLICA, S.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A.; PERIN, G. Preparation of Bis(2-pyridyl) diselenide Derivatives: Synthesis of Selenazolo[5,4- b]pyridines and Unsymmetrical Diorganyl Selenides, and Evaluation of Antioxidant and Anticholinesterasic Activities. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 38, p. 3734-3738, 2017.
- PINZ, M.; REIS, A.S.; DUARTE, V.; DA ROCHA, M.J.; GOLDANI, B.S.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. 4-Phenylselenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European Journal of Pharmacology**, v.780, p.122-128, 2016.
- VOGT, A.G.; VOSS, G.T.; DE OLIVEIRA, R.L.; PALTIAN, J.J.; DUARTE, L.F.B.; ALVES, D.; JESSE, C.R.; ROMAN, S.S.; ROEHRS, J.A.; WILHELM, E.A.; LUCHESE, C. Organoselenium group is critical for antioxidant activity of 7-chloro-4-phenylselenyl-quinoline. **Chemico-Biological Interactions**, v. 282, p.7-12, 2018.
- WORACHARTCHEEWAN, A.; PRACHAYASITTIKUL, S.; PINGAEW, R.; NANTASENAMAT, C.; TANTIMONGCOLWAT, T.; RUCHIRAWAT, S. Antioxidant, cytotoxicity, and QSAR study of 1 adamantylthio derivatives of 3-picoline and phenylpyridines. **Medicinal Chemistry**, v.21, n.11, p.3514-3522, 2012.