

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE DO DISSELENETO DE *m*-TRIFLUOROMETIL-FENILA POR MEIO DO TESTE DE TBARS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE RESERPINA

MARCOS PIZZATTO DE AZEREDO¹; CLEISSON SCHLOSSER GARCIA¹;
CARLOS NATÃ DA SILVA ESPÍNDOLA¹; CRISTIANI FOLHARINI
BORTOLATTO¹; CRISTINA WAYNE NOGUEIRA²; CÉSAR AUGUSTO
BRÜNING¹

¹*Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM), Universidade Federal de Pelotas – marcos.pizzatto@gmail.com; cabruning@yahoo.com.br*

²*Laboratório de Síntese, Reatividade e Avaliação Farmacológica e Toxicológica de Organocalcogênios, Universidade Federal de Santa Maria*

1. INTRODUÇÃO

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas instáveis e desempenham funções fisiológicas na defesa contra patógenos e na sinalização celular. Entretanto, o desequilíbrio entre EROs e agentes antioxidantes pode resultar em danos celulares (BLACK et al., 2015). Todas as estruturas das células são suscetíveis às EROs, porém a mais atingida é a membrana plasmática, devido a uma grande presença de ácidos graxos poli-insaturados, que resulta na perda da seletividade na troca iônica, liberação do conteúdo das organelas e formação de cito-toxinas (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). O cérebro é um órgão altamente vulnerável às EROs devido ao seu grande consumo de oxigênio, limitada taxa antioxidante e elevada quantidade de lipídios peroxidáveis (BLACK et al., 2015).

A teoria monoaminérgica propõe que a deficiência de neurotransmissores, como serotonina, dopamina e noradrenalina, está intimamente ligada à depressão (COPPEN, 1967). Nesse sentido, a reserpina, um composto natural que possui alta afinidade com o transportador de monoamina vesicular tipo 2 (VMAT-2), atua como inibidor irreversível ao sítio e reduz profundamente a liberação de neurotransmissores monoaminérgicos à fenda sináptica (EIDEN; WEIHE, 2014). O acúmulo de neurotransmissores na matriz citoplasmática acelera o catabolismo feito pela enzima monoamina-oxidase (MAO) e, por consequência, resulta na formação de EROs (BILSKA et al., 2007). Devido aos seus efeitos, a reserpina tem sido usada em testes laboratoriais para induzir efeito do tipo depressivo em modelos animais (EIDEN; WEIHE, 2014).

Compostos orgânicos de selênio têm apresentado grande quantidade de efeitos farmacológicos, como atividade antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora; inibição de dano hepático e na mucosa gástrica; entre outros efeitos (NOGUEIRA et al, 2004). Nesse contexto, o disseleneto de *m*-trifluorometil-fenila [(*m*-CF₃PhSe)₂] apresenta-se como uma interessante alternativa terapêutica para o tratamento da depressão, sobretudo quando em comorbidade com a dor, por apresentar propriedades antidepressiva e antinociceptiva, e efeito anti-inflamatório (BRÜNING, 2015). Além disso, o (*m*-CF₃PhSe)₂ apresentou efeito do tipo antidepressivo em um modelo de depressão induzido por reserpina. Nesse sentido, as análises neuroquímicas se fazem essenciais para compreender o mecanismo de ação do composto. Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antioxidante do (*m*-CF₃PhSe)₂ no hipocampo de camundongos, uma importante região cerebral envolvida na depressão (FASICK et al., 2015), após a administração da reserpina.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados camundongos Swiss, machos, adultos (25-35 g) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Os animais foram manejados de acordo com as normas do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal (CEEA: 4664250915).

O (*m*-CF₃PhSe)₂ (Figura 1) foi sintetizado pelo Laboratório de Síntese, Reatividade e Avaliação Farmacológica e Toxicológica de Organocalcogênios da UFSM e foi dissolvido em óleo de canola. A reserpina foi adquirida da *Sigma-Aldrich Corporation* e foi dissolvida em solução salina (NaCl 0,9%). A técnica utilizada foi o teste das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

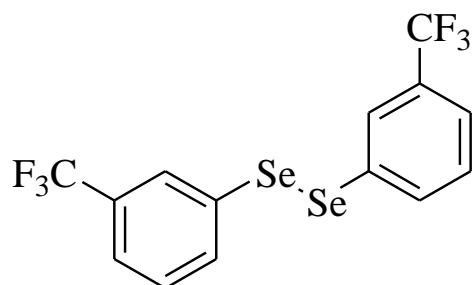


Figura 1. Estrutura química do (*m*-CF₃PhSe)₂.

Os animais foram tratados com a reserpina (0,5 mg/kg) durante 3 dias (uma vez ao dia), via intraperitoneal (i.p.), e, nos 2 dias seguintes, os animais foram tratados com o (*m*-CF₃PhSe)₂ (10 mg/kg) (uma vez ao dia), via intragástrica. 30 minutos após o último tratamento com o (*m*-CF₃PhSe)₂, houve a eutanásia dos animais com isoflurano e posterior decapitação. Após, foram coletadas as amostras de hipocampo e as mesmas foram armazenadas a -80 °C para posterior procedimento da técnica de TBARS.

Para determinar os níveis de TBARS no hipocampo, foi utilizado o índice de lipoperoxidação descrito por OHKAWA et al. (1979). A estrutura foi homogeneizada e submetida à centrifugação. O sobrenadante do hipocampo foi misturado a ácido acético, 8,1% de dodecilsulfato de sódio (SDS) e 0,8% de ácido tiobarbitúrico (TBA), seguido pela incubação a 95 °C por 1 hora. A absorbância foi mensurada por espectrofotômetro a 532 nm e os resultados foram expressos por nmol TBARS/mg de proteína. A quantidade de proteína foi definida através do método descrito por BRADFORD (1976).

A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida pelo teste *post hoc* de Newman-Keuls. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Os valores foram considerados significativos quando *p* < 0,05.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com reserpina resultou em um aumento significativo dos níveis de TBARS, e a administração do (*m*-CF₃PhSe)₂ foi capaz de reverter consideravelmente esse parâmetro quando comparado ao grupo veículo (Figura 2).

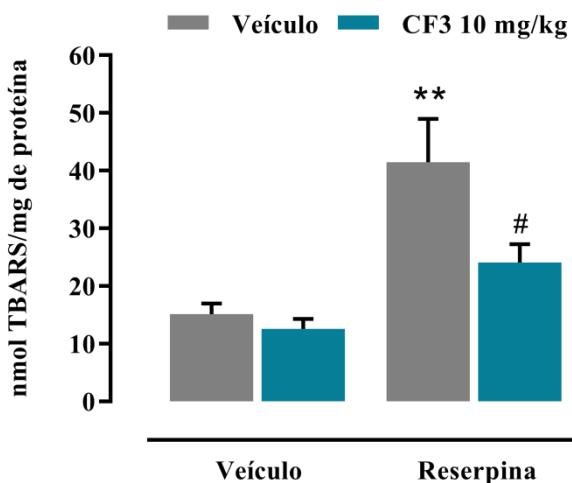


Figura 2. Efeito do $(m\text{-CF}_3\text{PhSe})_2$ (10 mg/kg) nos níveis de lipoperoxidação induzida pela reserpina no hipocampo. $n = 5\text{-}7$ animais por grupo. ** $p < 0,01$ em comparação com o grupo veículo-veículo. # $p < 0,05$ em comparação com o grupo reserpina-veículo. CF3 = $(m\text{-CF}_3\text{PhSe})_2$.

4. CONCLUSÕES

Em suma, o $(m\text{-CF}_3\text{PhSe})_2$ foi capaz de reverter o aumento dos níveis de TBARS resultantes da administração de reserpina, sugerindo um efeito antioxidante que, combinado com seus efeitos já conhecidos, reforça a sua potencialidade no tratamento da depressão. Além disso, mediante estudos mais aprofundados, esse composto poderia atuar também frente à patogênese de diversas outras doenças nas quais o estresse oxidativo está envolvido.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BILSKA, A.; DUBIEL, M.; SOKOŁOWSKA-JEŻEWICZ, M.; LORENC-KOCI, E.; WŁODEK, L. Alpha-lipoic acid differently affects the reserpine-induced oxidative stress in the striatum and prefrontal cortex of rat brain. **Neuroscience**, v. 146, n. 4, p. 1758-1771, 2007.

BLACK, Catherine N.; BOT, Mariska; SCHEFFER, Peter G.; CUIJPERS, Pim; PENNINX, Brenda W. J. H. Is depression associated with increased oxidative stress? A systematic review and meta-analysis. **Psychoneuroendocrinology**, v. 51, p. 164-175, jan. 2015.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 7 maio 1976.

BRÜNING, César Augusto. **Efeito farmacológico do disseleneto de *m*-trifluorometil-fenila na comorbidade entre dor e depressão em camundongos**. 2015. Tese (Doutorado em Bioquímica Toxicológica) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria.

COPPEN, Alec. The biochemistry of affective disorders. **The British Journal of Psychiatry**, v. 113, p. 1237-1264, 1967.

EIDEN, Lee E.; WEIHE, Eberhard. VMAT2: a dynamic regulator of brain mono aminergic neural function interacting with drugs of abuse. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1216, n. 1, p. 86-98, jan. 2011.

FASICK, Victoria; SPENGLER, Robert N.; SAMANKAN, Shabnam; NADER, Nader D.; IGNATOWSKI, Tracey A. The hippocampus and TNF: common links between chronic pain and depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 53, p. 139-159, jun. 2015.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, jan./mar. 1997.

NOGUEIRA, Cristina W.; ZENI, Gilson; ROCHA, João B. T. Organoselenium and organotellurium compounds: toxicology and pharmacology. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 12, p. 6255-6286, 2004.

OHKAWA, Hiroshi; OHISHI, Nobuko; YAGI, Kunio. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, jun. 1979.