

EFEITO TIPO-ANSIOLÍTICO E TIPO-ANTIDEPRESSIVO DO DISSSELENETO DE BIS-(3-AMINO-2-PIRIDINA) EM UM MODELO DE DERMATITE ATÓPICA EM CAMUNDONGOS

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), um dos tipos mais comuns de alergia cutânea, crônica, é caracterizada por apresentar ressecamento da pele e feridas com pápulas eritematosas intensamente pruriginosas. As doenças inflamatórias crônicas da pele, como a DA, são caracterizadas por estigmatização devido a lesões cutâneas visíveis. Essa patologia está associada a uma má qualidade de vida e comorbidades secundárias a coceira intensa, impactando negativamente no bem-estar psicológico desses pacientes (BRUNNER et al. 2017). Apesar da sua elevada incidência e de suas características clínicas, pouca atenção tem sido dada ao risco de comorbidades não alérgicas na DA, como as condições neuropsiquiátricas. A incidência de distúrbios psiquiátricos entre pacientes dermatológicos é de aproximadamente entre 30% e 40% (GHOSH et al. 2013).

O sistema nervoso e a pele interagem através dos sistemas imunológico, neuroendócrino e esteroidogênico, sendo as ações do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) fundamentais. O eixo HPA consiste em uma das redes neuroendócrinas do corpo, responsivas ao estresse e a fatores inflamatórios, e está implicado na fisiopatologia da ansiedade e depressão. De forma semelhante, estudam demonstram que o comprometimento da atividade da Na^+ , K^+ -ATPase, afeta negativamente a liberação de neurotransmissores e pode desencadear depressão, ansiedade e transtorno bipolar (KELLER et. al. 2016). Acredita-se que a correlação entre esses transtornos mentais e a DA decorra de fatores genéticos e ambientais, e que a desregulação desse eixo contribui para a relação entre esses sintomas e a resposta imune na DA.

Atualmente a DA é uma doença sem cura e o tratamento consiste em melhorar os sintomas e controlar a doença a longo prazo. O restabelecimento da barreira cutânea, a inibição da resposta inflamatória e o decréscimo do prurido são fatores chaves para o controle da doença. Por esse motivo, nosso grupo de pesquisa tem dedicado esforços na busca de novas moléculas para o tratamento da DA (VOSS et al. 2018). Frente a isso, os compostos derivados de piridina e orgânicos de selênio tem atraído a atenção no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que estes revelaram diferentes atividades biológicas (REIS et al. 2019). Em vista disso, o objetivo do presente estudo foi investigar o potencial farmacológico do disseleneto de bis-(3-amino-2-piridina) (BAPD) frente às comorbidades (ansiedade e depressão) associadas à DA e correlacionar seus efeitos com a modulação do eixo HPA e da enzima Na^+ , K^+ -ATPase.

2. METODOLOGIA

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

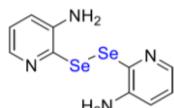


Figura 1. Estrutura química do BAPD.

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 (Dexa) (5 mg/kg) ou veículo (óleo de canola, 10 ml/kg) dos dias 14 a 29. A pontuação clínica das lesões na pele, o comportamento de coçar e teste do campo aberto foram realizados no dia 30 (dados não mostrados).

O comportamento do tipo ansioso foi avaliado por meio do teste do labirinto em cruz elevada (LCE), de acordo com a metodologia descrita por PELLOW et al. (1985). Este teste é amplamente utilizado para avaliar a ansiedade em roedores. O LCE consiste em um aparelho em formato de cruz com dois braços abertos e outros dois fechados, os quais ficam elevados a uma altura de 50 cm do chão. Durante 5 minutos, observou-se o número de entradas e o tempo de permanência dos animais nos braços abertos (PELLOW et al. 1985).

Adicionalmente, o teste da suspensão da cauda (TSC) foi avaliado conforme metodologia descrita por STERU et al. (1985). Este teste avalia o comportamento do tipo depressivo dos animais. Os camundongos foram suspensos 50 cm acima do solo por uma fita adesiva colocada a aproximadamente 1 cm da ponta da cauda do animal. Durante 6 minutos observou-se o tempo de imobilidade dos animais. Um decréscimo na duração da imobilidade é um indicativo de efeito semelhante ao antidepressivo.

Após os testes comportamentais, os animais foram submetidos a eutanásia, e o plasma e estruturas cerebrais (córtex e hipocampo) foram coletadas para dosagem dos níveis de corticosterona (ZENKER e BERNSTEIN, 1958) e a atividade da enzima Na^+ , K^+ -ATPase (FISKE e SUBBAROW, 1925) respectivamente.

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 Tukey quando apropriado. Os dados foram expressos como média \pm E.P.M. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A indução com DNCB em camundongos BALB/c fêmeas alterou os parâmetros comportamentais no LCE e TSC. No LCE, o DNCB causou um comportamento ansiogênico nos animais, que pode ser confirmado pela menor porcentagem do tempo gasto e de entradas nos braços abertos (Figura 2A e 2B). O tratamento com BAPD (1 e 5 mg/kg) e Dexa (5 mg/kg) aumentaram o número de entradas e o tempo gasto nos braços abertos, indicando um potencial efeito

tipo-ansiolítico (Figuras 2A e 2B). Por sua vez, os resultados do TSC revelaram que os animais induzidos com DNCB apresentaram maior tempo de imobilidade (indicando o estado tipo-depressivo), o qual foi diminuído pela administração do BAPD (1 e 5 mg/kg) e da Dexa (5 mg/kg) (Figura 2C).

Além disso, foram determinados os níveis plasmáticos de corticosterona e a atividade da enzima Na^+, K^+ -ATPase para identificar os mecanismos que poderiam contribuir para os transtornos psiquiátricos observados nos animais com as lesões cutâneas semelhantes à DA, induzidas por DNCB. Neste estudo, o desenvolvimento das lesões cutâneas semelhantes a DA ocasionou um aumento dos níveis de corticosterona plasmática (Figura 3A) e inibição da atividade da Na^+, K^+ -ATPase no hipocampo e córtex cerebral dos animais (Figura 3B e 3C). O tratamento com BAPD, na dose de 5 mg/kg, reverteu o aumento dos níveis de corticosterona, no entanto, nenhuma alteração foi observada nos animais expostos ao DNCB e tratados BAPD (1 mg/kg) ou Dexa (5 mg/kg) (Figura 3A). No hipocampo, nenhum dos tratamentos foi capaz de prevenir a inibição da atividade da Na^+, K^+ -ATPase induzida pelo DNCB (Figura 3B). Por outro lado, o tratamento com BAPD (1 e 5 mg/kg) foi capaz de restaurar a atividade da Na^+, K^+ -ATPase no córtex cerebral dos animais (Figura 3C). Com base nesses achados, sugere-se que a modulação da hiperatividade do eixo HPA e da atividade enzimática da Na^+, K^+ -ATPase pelo BAPD pode contribuir para suas propriedades antidepressivas e ansiolíticas.

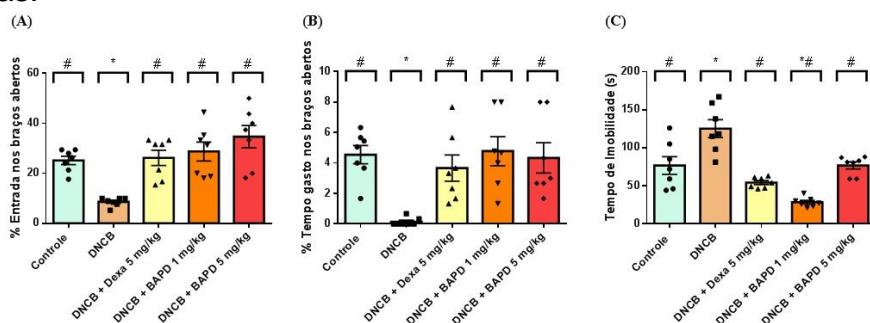


Figura 2. Efeito do tratamento oral com BAPD no teste do labirinto em cruz elevada e no teste da suspensão da cauda nos camundongos expostos ao DNCB.

(A) representa % de entrada nos braços abertos, (B) % de tempo gasto nos braços abertos, (C) tempo de imobilidade. Cada coluna representa a média \pm E.P.M de 7 camundongos em cada grupo. (*) $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle, (#) $p < 0,05$ em comparação com o grupo DNCB, (&) $p < 0,05$ em comparação com o grupo Dexa (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey).

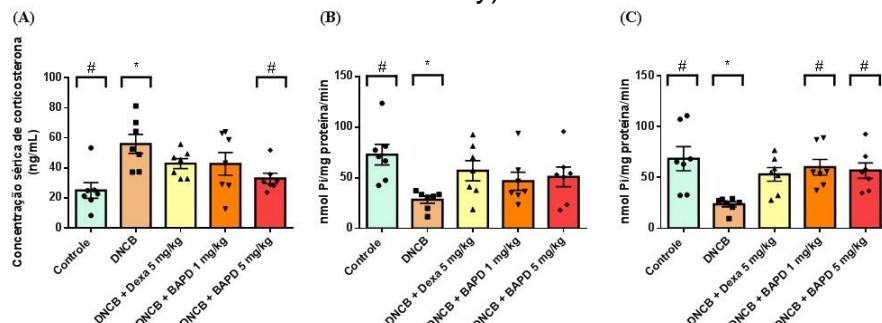


Figura 3. Efeito do tratamento oral com BAPD nos níveis de corticosterona e na atividade da Na^+, K^+ -ATPase nos camundongos expostos ao DNCB. (A) níveis de corticosterona, (B) atividade da Na^+, K^+ -ATPase no hipocampo, (C) atividade da Na^+, K^+ -ATPase no córtex cerebral. Cada coluna representa a média \pm E.P.M. de 7 camundongos por grupo. (*) $p < 0,05$ em comparação com o grupo controle, (#)

$p < 0,05$ em comparação com o grupo DNCB, (&) $p < 0,05$ em comparação com o grupo Dexa (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey).

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o composto BAPD apresentou efeitos tipo-ansiolítico e tipo-antidepressivo em camundongos e estas ações podem estar relacionadas a modulação da atividade da Na^+ , K^+ -ATPase e dos níveis de corticosterona. Com base nesses achados, pode-se sugerir que o BAPD pode ser uma promissora estratégia terapêutica para o tratamento da DA. Entretanto, mais estudos são necessários para avaliar os mecanismos envolvidos nesta ação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRUNNER P.M., SILVERBERG J.I., GUTTMAN-YASSKY E., PALLER A.S., KABASHIMA, K.; AMAGAI, M.; LUGER, T.A.; DELEURAN, M. Increasing Comorbidities Suggest that Atopic Dermatitis Is a Systemic Disorder. **Journal of Investigative Dermatology**. v.137, n.1, p.18-25, 2017.
- GHOSH, S.; BEHERE, R.V.; SHARMA, P.; SREEJAYAN, K. Psychiatric evaluation in dermatology: an overview. **Indian Journal of Dermatology**. v.58, n.1, p.39-43, 2013.
- KELLER, J.; GOMEZ, R.; WILLIAMS, G.; LEMBKE, A.; LAZZERONI, L.; MURPHY, G.M.; SCHATZBERG, A.F. HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. **Molecular Psychiatry**. v.22, n.4, p.527-536, 2016.
- VOSS, G.T.; OLIVEIRA, R.L.; DE SOUZA, J.F.; DUARTE, L.F.B.; FAJARDO, A.R.; ALVES, D.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. Therapeutic and technological potential of 7-chloro-4-phenylselanyl quinoline for the treatment of atopic dermatitis-like skin lesions in mice. **Materials Science and Engineering C**. v.84, p.90-98, 2018.
- REIS A.S., VOGT A.G., PINZ M.P., VOSS G.T., DA FONSECA C.A.R., PALTIAN J.J., PEGLOW T.J., VAUCHER R.A., ECHEIQUE J.V.Z., SOARES M.P., SCHUMACHER R.F., PERIN G., LUCHESE C., WILHELM E.A. Modulation of COX-2, INF- γ , glutamatergic and opioid systems contributes to antinociceptive, anti-inflammatory and anti-hyperalgesic effects of bis(3-amino-2-pyridine) diselenide. **Chemico-Biological Interactions**. v.311, n.108790, p.1-10, 2019.
- 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.
- PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**. v.14, n.3, p.149-167, 1985.
- STERU L., CHERMAT R., THIERRY B., SIMON P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**. v.85, n.3, p.367-370, 1985.
- ZENKER N., BERNSTEIN D.E. The estimation of small amounts of corticosterone in rat plasma. **Journal of Biological Chemistry**. v.231, n.2, p.695-701, 1958.
- FISKE C.H., SUBBAROW Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**. v.66, p.375-400, 1925.