



EFEITO DO Se-[(2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLAN-4-IL) METIL] 4-CLOROBENZOSSELENOLATO NOS DÉFICITS NEUROCOMPORTAMENTAIS EM UM MODELO ANIMAL DE ARTRITE REUMATOIDE

CAREN ALINE RAMSON DA FONSECA¹, PAOLA DOS SANTOS SOARES², DANIELA RODRIGUES ARAUJO³, ANGELITA MANKE BARCELLOS⁴, CRISTIANE LUCHESE⁵, ETHEL ANTUNES WILHELM^{6*}

¹*Universidade Federal de Pelotas – carenramson@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – p-soaress@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – danielaroodriguues@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – angelita.barcellos@gmail.com*

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

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

1. INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR), uma doença sistêmica, crônica e progressiva, afeta a membrana sinovial, principalmente articulações periféricas (COUTANT et al. 2020). A principal característica da AR é o acometimento simétrico de pequenas e/ou grandes articulações, podendo gerar deformidades irreversíveis e importante limitação funcional. A etiologia da AR é bastante complexa, e ainda desconhecida. Considera-se que a AR tem influência de fatores genéticos, hormonais, ambientais e imunológicos e a associação desses fatores é essencial para o desenvolvimento da doença (ALETAHA et al. 2018). Essa patologia é considerada o terceiro tipo de artrite mais comum, depois da osteoartrite e da gota. Aproximadamente 1% da população mundial é afetada pela AR e cerca de 50 novos casos por 100.000 adultos são diagnosticados por ano (CHANCAY et al. 2019).

Nesse sentido, essa doença crônica também pode afetar o bem-estar psicológico, o estado físico e social dos pacientes, podendo causar problemas cardiovasculares e emocionais, como a ansiedade e a depressão (CHANCAY et al. 2019). Os transtornos psicológicos estão entre as comorbidades mais comuns em pacientes não apenas com AR, mas também com outras formas de doenças reumáticas inflamatórias (PETERSON et al. 2019). Atualmente, não há cura para a AR e seu tratamento visa reduzir o processo inflamatório e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (OMOROGBE et al. 2018).

Em vista disso, estão disponíveis uma série de tratamentos locais e sistêmicos para a AR, em especial para o tratamento das alterações imunes relacionadas à doença. Entretanto, apesar da eficácia comprovada desses fármacos, os pacientes com AR podem interromper o tratamento por diversas razões, incluindo os efeitos adversos, perda da resposta e até mesmo ineficácia do tratamento (BLUM et al. 2011). Consequentemente, na ausência de um tratamento seguro e definitivo, faz-se necessária a busca de novas moléculas para o tratamento da AR. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar o potencial terapêutico do Se-[(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metil] 4-clorobenzosselenolato (Se-DMC) frente às comorbidades (ansiedade e depressão) associadas à AR e correlacionar seus efeitos com a modulação da enzima Na^+ , K^+ -ATPase e creatina quinase em um modelo de monoartrite induzido por adjuvante completo de Freund (ACF) em camundongos.

2. METODOLOGIA

Para o estudo foram utilizados camundongos machos da raça Swiss provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). O composto Se-DMC (Figura 1) foi sintetizado de acordo com metodologia descrita por

PERIN et al. (2017). Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas da Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA 1289-2016).

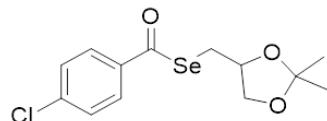


Figura 1. Estrutura química do Se-DMC.

A indução de artrite pelo ACF foi realizada conforme o método previamente descrito por PEARSON; WOOD (1959) e OMOROGBE et al. (2018), com algumas modificações. Primeiramente, os camundongos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais: I) Controle, II) ACF, III) Se-DMC + ACF e IV) Meloxicam + ACF. No dia 0 do protocolo experimental, os animais dos grupos II, III e IV receberam uma injeção intraplantar (i.pl.) de 0,1 mL de ACF na pata traseira esquerda, enquanto os camundongos do grupo I receberam solução salina 0,9% (0,1 mL, i.pl.). No dia seguinte, estabelecido como dia 1 do protocolo experimental, os animais receberam a administração do composto Se-DMC (5 mg/kg, via intragástrica (i.g.)) ou seu veículo óleo de canola (10 mL/kg, i.g.) ou a droga de referência Meloxicam (5 mg/kg, i.g.). Os tratamentos foram realizados diariamente do dia 1 ao dia 14 do protocolo experimental.

Com intuito de avaliar o desenvolvimento de um fenótipo do tipo ansiogênico e tipo depressivo desencadeado pela AR, foram realizados os testes comportamentais do labirinto em cruz elevada (LCE) e da suspensão da cauda (TSC) de acordo com a metodologia descrita por PELLOW et al. (1985) e STERU et al. (1985), respectivamente. 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. Por sua vez, no TSC 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. Adicionalmente, o teste do campo aberto foi realizado a fim de descartar resultados falso-positivos nos testes anteriormente citados (WALSH; CUMMINS, 1976). Após os testes comportamentais, os animais foram submetidos a eutanásia por inalação do anestésico isoflurano, e o sangue e as estruturas cerebrais (córtex cerebral e hipocampo) foram coletadas para a determinação da atividade da enzima Na^+ , K^+ -ATPase (FISKE e SUBBAROW, 1925) e da creatina quinase (Kit comercial).

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 \pm E.P.M. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A indução de mono-artrite com ACF em camundongos Swiss machos alterou os parâmetros comportamentais no LCE e TSC. No LCE, o ACF causou um comportamento ansiogênico nos animais, que pode ser confirmado pela menor porcentagem do tempo gasto e de entradas nos braços abertos (Figuras 2A e 2B), assim como pelo decréscimo no número de mergulhos (Figura 2C). O tratamento com

Se-DMC aumentou o número de entradas, o tempo gasto nos braços abertos e o número de mergulhos, indicando um potencial efeito tipo-ansiolítico (Figuras 2A, 2B e 2C). Por sua vez, os resultados do TSC revelaram que os animais induzidos com ACF apresentaram maior tempo de imobilidade (indicando o estado tipo-depressivo), o qual foi diminuído pela administração do Se-DMC e do Meloxicam (Figura 2D). Cabe destacar que o tratamento com o Se-DMC e/ou com o Meloxicam não alterou o comportamento exploratório e a capacidade locomotora dos animais no teste do campo aberto (dados não demonstrados).

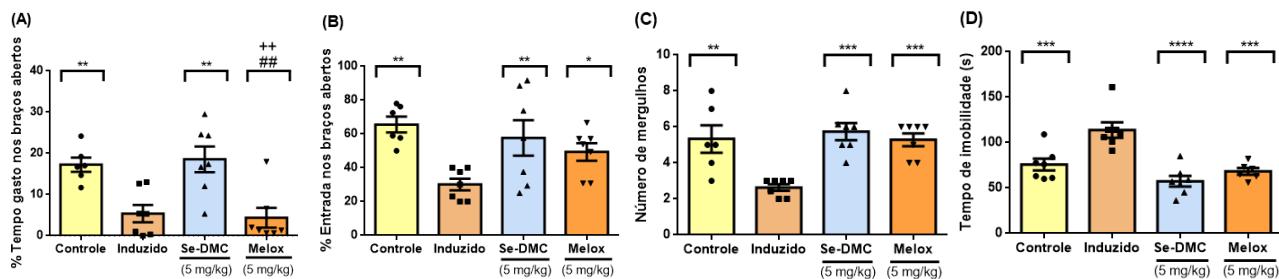


Figura 2. Efeito do tratamento oral de Se-DMC no teste do labirinto em cruz elevada e no teste da suspensão da cauda nos camundongos expostos ao ACF. **(A)** porcentagem de tempo gasto nos braços abertos, **(B)** porcentagem de entradas nos braços abertos, **(C)** número de mergulhos, **(D)** tempo de imobilidade. (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$; (****) $p < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo induzido. (##) $p < 0,01$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo controle. (++) $p < 0,01$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo Se-DMC.

Conforme demonstrado na Figura 3A, os resultados obtidos revelaram que os animais expostos ao ACF apresentaram uma inibição de 68% na atividade da enzima Na^+, K^+ -ATPase no hipocampo dos animais quando comparados ao grupo controle. A inibição induzida pelo ACF na atividade enzimática da Na^+, K^+ -ATPase foi parcialmente restaurada pelo tratamento com Se-DMC, enquanto nenhuma alteração foi observada nos animais tratados com o Meloxicam. No córtex cerebral dos camundongos, nenhuma alteração foi evidenciada na atividade da Na^+, K^+ -ATPase após os tratamentos (Figura 3B). Os resultados apresentados na Figura 3C revelaram que a administração do ACF inibiu 30% a atividade da creatina quinase, no entanto, o tratamento com Se-DMC não foi capaz de reverter esta inibição, demonstrando que o efeito do composto não parece envolver a modulação dessa enzima.

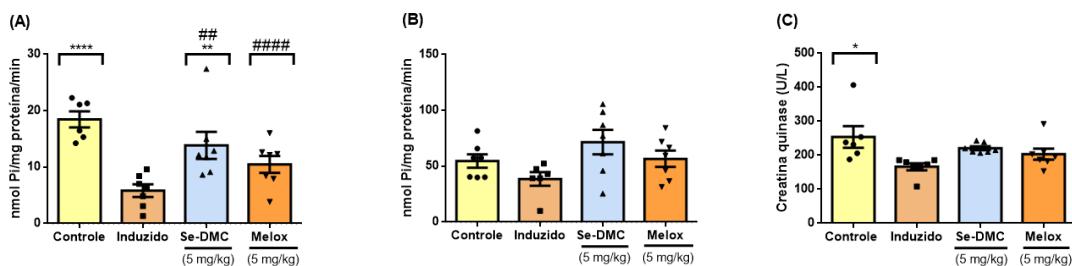


Figura 3. Efeito do tratamento oral de Se-DMC na atividade das enzimas Na^+, K^+ -ATPase e creatina quinase nos camundongos expostos ao ACF. **(A)** atividade da Na^+, K^+ -ATPase no hipocampo, **(B)** atividade da Na^+, K^+ -ATPase no córtex cerebral, **(C)** atividade da creatina quinase plasmática. (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (****) $p < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo induzido. (##) $p < 0,01$; (####) $p < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo controle.



4. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, sugere-se que o composto Se-DMC pode atuar efetivamente no tratamento das comorbidades relacionadas à AR. O Se-DMC apresentou efeitos do tipo ansiolítico e antidepressivo em camundongos e estas ações parecem envolver a modulação da atividade da Na^+ , K^+ -ATPase no hipocampo. Entretanto, mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos envolvidos nesta ação farmacológica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALETAHA, D.; SMOLEN, J.S. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: Review. **Journal American Medical Association**, v. 320, n. 13, p. 1360-1372, 2018.
- BLUM, M.A.; KOO, D.; DOSHI, J.A. Measurement and rates of persistence with and adherence to biologics for rheumatoid arthritis: a systematic review. **Clinical Therapeutics**, v. 33, n. 7, p. 901-913, 2011.
- CHANCAY, M.G.; GUENDSECHADZE, S.N.; BLANCO, I. Types of pain and their psychosocial impact in women with rheumatoid arthritis. **Women's midlife health**, v. 5, n. 1, p. 1-9, 2019.
- COUTANT, F.; MIOSSEC, P. Evolving concepts of the pathogenesis of rheumatoid arthritis with focus on the early and late stages. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 32, n. 1, p. 57-63, 2020.
- FISKE, C.H.; SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 375-400, 1925.
- PEARSON, C.M.; WOOD, F.D. Studies of polyarthritis and other lesions induced in rats by injection of mycobacterial adjuvant. I. General clinical and pathologic characteristics and some modifying factors. **Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology**, v. 2, n. 5, p. 440-459, 1959.
- OMOROGBE, O.; AJAYI, A.M.; BEN-AZU, B.; OGHWERE, E.E.; ADEBESIN, A.; ADERIBIGBE, A.O.; OKUBENA, O.; UMUKORO, S. Jobelyn® attenuates inflammatory responses and neurobehavioural deficits associated with complete Freund-adjuvant-induced arthritis in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p. 585-593, 2018.
- 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.
- PERIN, G.; SILVEIRA, M.B.; BARCELLOS, A.M.; ARAUJO, D.R.; JACOB, R.G.; BARCELLOS, T.; LENARDÃO, E.J. Rongalite®/PEG-400 as reducing system in the synthesis of new glycerol-derived selenol esters using anhydrides and bis-(2, 2-dimethyl-1, 3-dioxolanyl)methyl diselenide as substrates. **Organic Chemistry**, n. part ii, p. 138-148, 2017.
- PETERSON, S.; PIERCY, J.; BLACKBURN, S.; SULLIVAN, E.; KARYEKAR, C.S.; LI, N. The multifaceted impact of anxiety and depression on patients with rheumatoid arthritis. **BMC Rheumatology**, v. 3, n. 43, p. 1-10, 2019.
- 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.
- WALSH, R.N.; CUMMINS, R.A. The open-field test: a critical review. **Psychological bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482, 1976.