

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE NANOCÁPSULAS POLIMÉRICAS CONTENDO 4-(FENILSELANIL)-2H-CROMEN-2-ONA EM UM MODELO DE ARTRITE REUMATOIDE EM CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS

CAREN ALINE RAMSON DA FONSECA¹; JAINI JANKE PALTIAN²; RICARDO FREDERICO SCHUMACHER³; VINICIUS COSTA PRADO⁴; LETÍCIA CRUZ⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – carenramson@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jaini_paltian@hotmail.com

³Universidade Federal de Santa Maria – ricardo.schumacher@ufsm.br

⁴Universidade Federal de Santa Maria – vini132007@gmail.com

⁵Universidade Federal de Santa Maria – leticia.cruz@ufsm.br

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

1. INTRODUÇÃO

A taxa de prevalência da artrite reumatoide (AR) vem aumentando acentuadamente e por isso é considerada uma ameaça à saúde global. É relatado que a AR afeta 0,1-2,0% da população mundial, embora as taxas variem por região e país (ALMUTARI et al., 2021). A AR é uma doença autoimune crônica comum com características clínico-patológicas importantes. Sinovite, pannus, erosão da cartilagem e destruição óssea são sinais do desenvolvimento e exacerbação da doença. Esta patologia pode ocorrer em adultos de qualquer idade, mas é diagnosticada principalmente em mulheres de meia-idade, sendo estimada em 3,6% (CHAKRABORTY et al., 2021).

A AR afeta inúmeros aspectos da vida diária, reduzindo a mobilidade e afetando a capacidade de trabalho dos pacientes, sendo classificada como a principal causa de incapacidade permanente, aumento da mortalidade e custos socioeconômicos (AHMED et al., 2021). O sintoma mais comum da AR é a dor. A dor, inicialmente localizada na articulação, muitas vezes progredindo para generalizada em estágios avançados, é o principal motivo para os pacientes procurarem um profissional de saúde. Estima-se que 97% dos pacientes com AR inicial sentem dor e nos estágios avançados da doença, a dor crônica pode adquirir características neuropáticas típicas (CAO et al., 2020).

Nesse contexto, é urgentemente necessário o controle oportuno e eficaz da progressão da doença, bem como reduzir a incapacidade e o sofrimento dos pacientes acometidos. Diante disso, a nanotecnologia tem ganhado atenção especial devido aos benefícios que podem ser alcançados com o encapsulamento de moléculas. Os sistemas nanoestruturados são essencialmente projetados para encapsular uma ampla variedade de substâncias com intuito de melhorar suas propriedades e usabilidade, com efeito negativo mínimo na saúde humana ou no meio ambiente. Além disso, esses sistemas oferecem estratégias de entrega de drogas boas e eficientes em comparação com os sistemas de entrega de drogas convencionais (DENG et al., 2021).

Diante disso, compostos orgânicos de selênio e derivados cumarínicos apresentaram potencial antioxidante e ações efetivas sobre a dor e processos inflamatórios em modelos experimentais (SILVA et al., 2017; SALEEM et al., 2021). Assim, com base nas principais propriedades farmacológicas desses compostos e na busca por estratégias terapêuticas inovadoras para a AR, o presente estudo buscou elucidar os efeitos do composto 4-(fenilselanil)-2H-cromen-2-ona (4-PSCO), uma molécula com núcleo cumarínico e um substituinte organosselênio, e a veiculação desse composto em suspensões de nanocápsulas poliméricas em um modelo animal de AR.

2. METODOLOGIA

Para a realização dos experimentos, foram utilizados camundongos machos e fêmeas com 60 dias de idade, da raça Swiss provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPEl). Todos os experimentos animais foram realizados de

acordo com as normas estabelecidas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA 13049-2021) da UFPel. O composto 4-PSCO (Figura 1) foi sintetizado de acordo com metodologia descrita por PADILHA et al. (2017). As suspensões de nanocápsulas foram produzidas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado, de acordo com a metodologia previamente descrita por FERREIRA et al. (2018).

A indução de artrite pelo adjuvante completo de Freud (CFA, do inglês *Complete Freund's Adjuvant*) foi realizada conforme o método previamente descrito por OMO-ROGBE et al. (2018), com algumas modificações. Primeiramente, os camundongos foram divididos aleatoriamente em oito grupos experimentais: I) Controle, II) Nanocápsula branca (NC B), III) 4-PSCO livre; IV) Nanocápsula contendo 4-PSCO (NC 4-PSCO), V) CFA, VI) CFA+NC B, VII) CFA+4-PSCO livre, VIII) CFA+NC 4-PSCO. No dia 0 do protocolo experimental, os animais dos grupos V, VI, VII e VIII receberam uma injeção intraplantar (i.pl.) de 0,1 mL de CFA na pata traseira esquerda, enquanto os camundongos do grupo I, II, III e IV receberam solução salina 0,9% (0,1 mL, i.pl.). Posteriormente, no dia 5, os animais dos grupos Controle e CFA receberam óleo de canola (10 mL kg⁻¹, intragástrica (i.g.)), os grupos NC B e CFA+NC B receberam a suspensão de NC B (10 mL kg⁻¹, i.g.), os grupos 4-PSCO livre e CFA+4-PSCO livre receberam o composto 4-PSCO (1 mg kg⁻¹, i.g.), enquanto que os grupos NC 4-PSCO e CFA+NC 4-PSCO receberam a suspensão de NC 4-PSCO (1 mg kg⁻¹, i.g.). Os tratamentos foram realizados diariamente do dia 5 ao dia 15 do protocolo experimental.

A sensibilidade tátil foi avaliada por meio do teste de nocicepção mecânica (von frey) utilizando um estesiômetro eletrônico conforme o método previamente descrito por ALEY; LEVINE (2002). Os dados foram expressos como limiar de retirada da pata (g). Os reflexos da dor em resposta ao estímulo térmico no teste da placa quente foram avaliados conforme descrito anteriormente por WOOLFE e MACDONALD (1944). Para evitar danos às patas dos animais, o tempo de permanência na placa foi limitado a 45 s. As sensibilidades mecânica e térmica foram avaliadas na linha de base (dia 0) e durante o protocolo experimental (dias 5, 10 e 15).

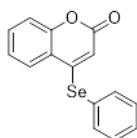


Figura 1. Estrutura química do 4-PSCO.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nosso estudo revelou que a indução de monoartrite pelo CFA em camundongos machos e fêmeas alterou os parâmetros comportamentais no teste do von frey e da placa quente. Os resultados relativos à sensibilidade mecânica demonstram que a administração i.pl. de CFA reduziu o limiar de retirada da pata nos animais dos grupos CFA, CFA+NC B, CFA+4-PSCO livre e CFA+NC 4-PSCO em comparação com os grupos Controle, NC B, 4-PSCO livre e NC 4-PSCO, ocasionando uma hipersensibilidade mecânica em ambos os sexos (Dia 5). Nos dias 10 e 15 após a exposição ao CFA, os resultados revelaram que a administração diária com 4-PSCO livre e NC 4-PSCO atenuou o limiar de retirada da pata nos camundongos machos e fêmeas em comparação com os animais do grupo CFA. Curiosamente, a sensibilidade mecânica nos camundongos machos e fêmeas expostos a CFA e que receberam a suspensão de NC 4-PSCO foi menor do que em animais tratados com 4-PSCO livre, como evidenciado por um aumento no limiar de retirada da pata no teste von Frey (dia 10 e 15) (Figura 2).

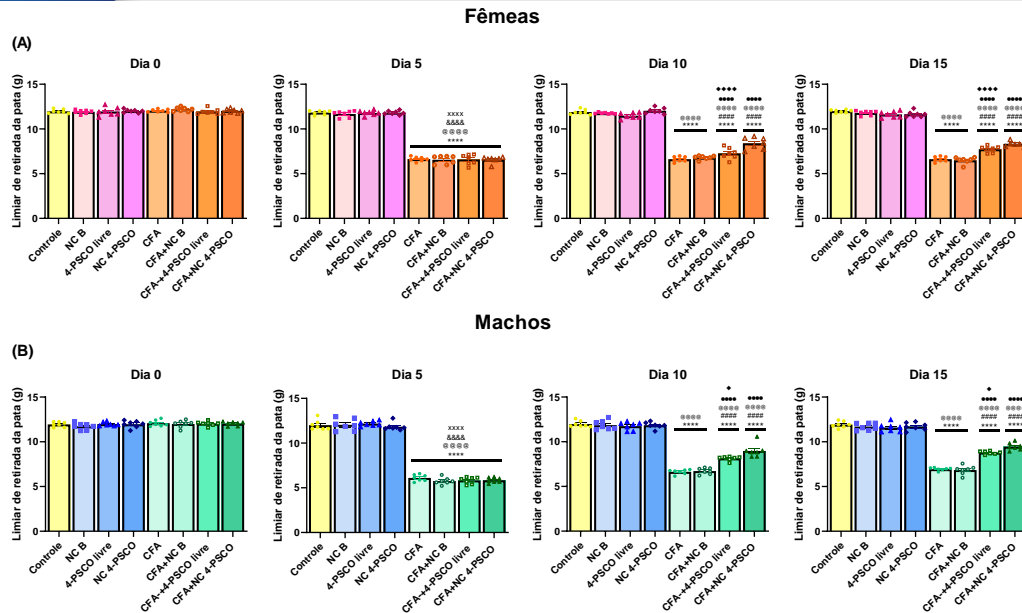


Figura 2. Efeito do tratamento oral com 4-PSCO livre e nanoencapsulado na sensibilidade mecânica no teste de von Frey em camundongos fêmeas **(A)** e machos **(B)**. (****) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo Controle; (#####) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo CFA; (@@@@) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo NC B; (&&&&) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo 4-PSCO livre; (xxxxx) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo NC 4-PSCO; (****) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo CFA+NC B; (♦) $p < 0,05$ e (♦♦♦♦) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância comparados com o grupo CFA+NC 4-PSCO (ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey).

Em relação a sensibilidade térmica, os resultados mostraram que os valores basais de latência aos estímulos térmicos eram equivalentes entre todos os grupos experimentais antes da indução de CFA (machos e fêmeas). Os animais machos e fêmeas que receberam administração de CFA apresentaram um tempo de latência menor no dia 5, confirmando assim que o CFA aumentou a sensibilidade térmica nos animais dos grupos CFA, CFA+NC B, CFA+4-PSCO livre e CFA+NC 4-PSCO em comparação com os grupos Controle, NC B, 4-PSCO livre e NC 4-PSCO. Por sua vez, o tratamento com 4-PSCO livre e NC 4-PSCO atenuou a hipersensibilidade térmica induzida pelo CFA nos camundongos machos nos dias 10 e 15. Nas fêmeas, nenhum dos tratamentos foi capaz de aumentar o tempo de latência no teste da placa quente após exposição ao CFA. Da mesma forma, não foi observada diferença estatística entre os grupos CFA+4-PSCO livre e CFA+NC 4-PSCO (Figura 3).

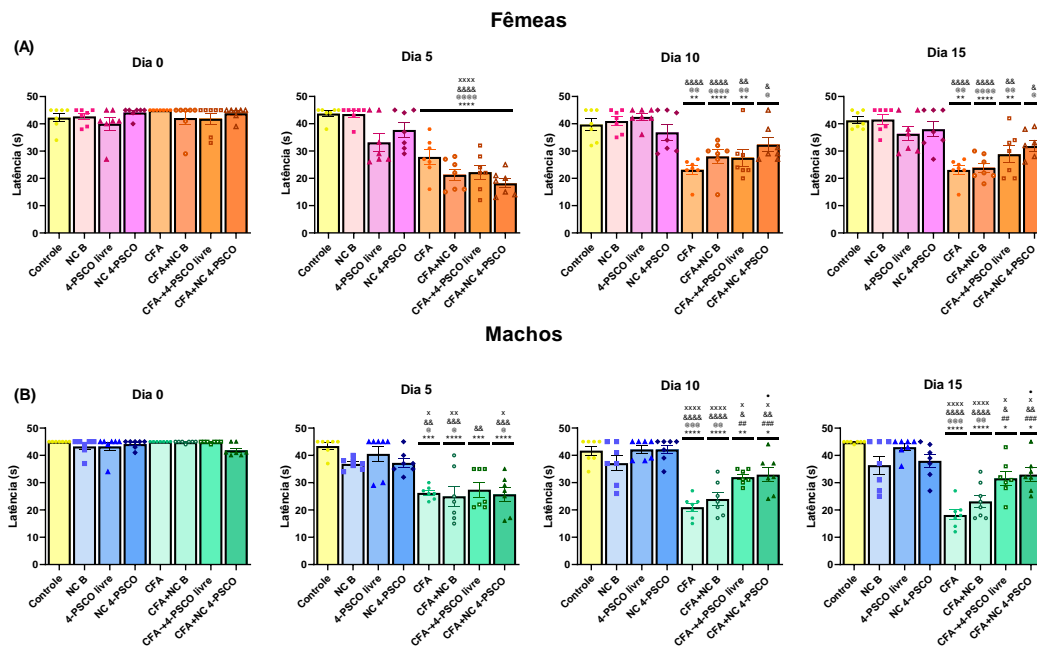


Figura 3. Efeito do tratamento oral com 4-PSCO livre e nanoencapsulado na hiperalgesia térmica no teste da placa quente em camundongos fêmeas **(A)** e machos **(B)**. (****) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo Controle; (####) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo CFA; (@@@@) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo NC B; (&&&&) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo 4-PSCO livre; (xxxx) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo NC 4-PSCO; (****) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância em relação ao grupo CFA+NC B; (♦) $p < 0,05$ e (♦♦♦) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância comparados com o grupo CFA+NC 4-PSCO (ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey).

4. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos, sugere-se que o composto 4-PSCO livre e nanoencapsulado pode atuar efetivamente o tratamento da hiperalgesia mecânica e térmica associada a AR. Entretanto, estudos adicionais como a expressão gênica e marcadores bioquímicos serão realizados com intuito de aprofundar os mecanismos envolvidos nesta ação farmacológica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, E.A.; AHMED, O.S.; FAHIM, H.I.; ALI, T.M.; ELES AWY, B.H.; ASHOUR, M.B. Potency of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Indomethacin in Complete Freund's Adjuvant-Induced Arthritic Rats: Roles of TNF- α , IL-10, iNOS, MMP-9, and TGF- β 1. **Stem Cells International**, v. 2021, n. 4, p. 1-11, 2021.
- ALEY, K.O.; LEVINE, J.D. Different peripheral mechanisms mediate enhanced nociception in metabolic/toxic and traumatic painful peripheral neuropathies in the rat. **Neuroscience**, v. 111, n. 2, p. 389-397, 2002.
- ALMUTAIRI, K.; NOSSENT, J.; PREEN, D.; KEEN, H.; INDERJEETH, C. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review. **Rheumatology International**, v. 41, n. 5, p. 863-877, 2021.
- CAO, Y.; FAN, D.; YIN, Y. Pain Mechanism in Rheumatoid Arthritis: From Cytokines to Central Sensitization. **Mediators of Inflammation**, v. 2020, p. 1-11, 2020.
- CHAKRABORTY, D.; GRUPTA, K.; BISWAS, S. A mechanistic insight of phytoestrogens used for Rheumatoid arthritis: An evidence-based review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133, p. 1-18, 2021.
- DENG, S.; GIGLIOBIANCO, M.R.; CENSI, R.; MARTINO, P.D. Polymeric Nanocapsules as Nanotechnological Alternative for Drug Delivery System: Current Status, Challenges and Opportunities. **Nanomaterials**, v. 10, p. 1-39, 2020.
- OMOROGBE, O.; AJAYI, A.M.; BEN-AZU, B.; OGHWERE, E.E Jobelyn® attenuates inflammatory responses and neurobehavioural deficits associated with complete Freund-adjuvant-induced arthritis in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p. 585-593, 2018.
- FERREIRA, L.M.; CERVI, V.F.; SARI, M.H.M.; BARBIERI, A.V. Diphenyl diselenide loaded poly(epsilon-caprolactone) nanocapsules with selective antimelanoma activity: Development and cytotoxic evaluation. **Materials Science and Engineering C**, v. 91, p. 1-9, 2018.
- PADILHA G, BIRMANN, P.T.; DOMINGUES, M.; KAUFMAN, T.S. Convenient Michael addition/ β -elimination approach to the synthesis of 4-benzyl- and 4-aryl-selenyl coumarins using diselenides as selenium sources. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 10, p. 985-990, 2017.
- SALEEM, M.; ASIF, M.; PARVEEN, A.; YASEEN, H.S. Investigation of in vivo anti-inflammatory and anti-angiogenic attributes of coumarin-rich ethanolic extract of *Melilotus indicus*. **Inflammopharmacology**, v. 29, p. 281-293, 2021.
- SILVA, V.D.G.; Reis, A.S.; Pinz, M.P.; Fonseca, C.A.R. Further analysis of acute antinociceptive and anti-inflammatory actions of 4-phenylselenyl-7 chloroquinoline in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 31, n. 5, p. 513-525, 2017.
- WOOLFE, G.; MACDONALD, A.D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demerol). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 80, p. 300-307, 1944.