

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA 7-CLORO-4-(FENILSELANIL) QUINOLINA EM UM MODELO DE FIBROMIALGIA INDUZIDA PELO ESTRESSE AO FRIO INTERMITENTE EM CAMUNDONGOS FÊMEAS

TAISE CARLOS NUNES¹; ANA PAULA BONATO WILLE²; GUSTAVO BIERHALS BLÖDORN³; DIEGO ALVES⁴; CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - taisecnunes@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - anapaulabonatowille@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - gustavoblodorn@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - dsalves@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - cristiane_luchese@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - ethelwilhelm@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A fibromialgia (FM) é uma condição musculoesquelética caracterizada por dor crônica generalizada, fadiga, distúrbios do sono e alterações de humor (SINGH et al., 2019). Estima-se que a FM afete cerca de 2,7% da população mundial, com maior prevalência em mulheres entre 30 e 50 anos (SARZI-PUTTINI et al., 2020). Essa condição compromete significativamente a qualidade de vida dos pacientes, representando um desafio crescente de saúde pública (SINGH et al., 2019).

Embora a etiologia da FM ainda não seja totalmente elucidada, há evidências de que fatores genéticos, emocionais e ambientais contribuam para o desenvolvimento dos sintomas (BARCELOS et al., 2020). Pacientes com FM costumam apresentar uma sensibilidade aumentada a diversos estímulos, incluindo pressão mecânica e isquêmica, calor e frio (GYORFI et al. 2022). Essa sensibilização central parece ser resultado de alterações bioquímicas e neurais, que amplificam a percepção da dor (SIRACUSA et al., 2021). Em particular, a disfunção de enzimas cruciais para a excitabilidade neuronal e transdução de sinal, como a Na⁺/K⁺ ATPase e Ca²⁺ ATPase, parece estar envolvida no processamento anormal da dor (SINGH et al., 2021; BARCELOS et al., 2020).

Diante disso, os antidepressivos da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina, como a duloxetina, são amplamente utilizados no tratamento da doença (GYORFI et al. 2022). No entanto, seu uso prolongado está associado a efeitos adversos e sua eficácia é limitada (SARZI-PUTTINI et al., 2020). Nesse cenário, compostos orgânicos de selênio têm ganhado destaque devido aos seus promissores efeitos biológicos e sua baixa toxicidade (NOGUEIRA et al. 2021). Entre eles, o composto 7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina (4-PSQ) tem demonstrado várias propriedades farmacológicas, destacando especialmente sua ação antinociceptiva, que demonstrou ser mediada pela modulação dos sistemas serotoninérgico, nitrérgico e glutamatérgico (SILVA et al., 2017; PINZ et al., 2016). Além disso, em estudos anteriores o composto já demonstrou capacidade de modular a atividade das enzimas Na⁺/K⁺ ATPase e Ca²⁺ ATPase (PALTIAN et al. 2022; REIS et al. 2020). Frente a isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de uma administração de 4-PSQ (1 mg/kg) sobre a nocicepção mecânica e térmica induzida pelo estresse ao frio intermitente (EFI) em camundongos fêmeas.

2. METODOLOGIA

Para a realização deste protocolo foram utilizados camundongos fêmeas da raça Swiss, com 60 dias de idade, advindos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Todos os experimentos realizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPel (CEUA nº 28142-

2019). O composto 4-PSQ (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL), conforme metodologia descrita por DUARTE et al. (2017).

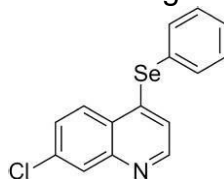


Figura 1. Estrutura química do composto 7-cloro-4(fenilselanil) quinolina (4-PSQ).

Inicialmente os animais foram distribuídos em cinco grupos experimentais, sendo eles: **I)** Controle, **II)** 4-PSQ, **III)** EFI, **IV)** EFI+4-PSQ e **V)** EFI+Duloxetine (DXT) (n=7/8 animais por grupo). Conforme o protocolo de indução de fibromialgia descrito por NISHIYORY e UEDA (2008), os camundongos dos grupos **III**, **IV** e **V** foram expostos a uma temperatura controlada de 4 °C após as 16 h e 30 min do primeiro dia e foram mantidos até às 10 h do dia seguinte. No segundo e terceiro dia de indução os animais foram expostos a diferentes temperaturas de 22 e 4 °C, com trocas a cada 30 minutos, iniciando às 10h e finalizando às 16h e 30min. No quarto dia, às 10 h, os animais foram transferidos para um ambiente de 22 ± 2 °C. Os grupos **I** e **II** permaneceram a 22 ± 2 °C durante todo o protocolo. Após uma hora de ambientação os animais dos grupos **II** e **IV** receberam o tratamento com o composto 4-PSQ, na dose de 1 mg/kg pela via intragástrica (i.g.) e os animais do grupo **V** receberam a DXT (30 mg/kg, i.g.), fármaco utilizado como referência no estudo. Os grupos **I** e **III** receberam o veículo de diluição do composto (óleo de canola, 10 mL/kg, i.g.). Trinta minutos após o tratamento, os animais foram submetidos a avaliação da nocicepção mecânica e térmica, segundo metodologia de ALAMRI et al. (2018) e WOOLFE e MACDONALD (1994), respectivamente. Após isso, os animais foram submetidos à eutanásia com sobredose de isoflurano, e amostras de córtex cerebral e medula espinhal foram imediatamente coletadas. A atividade das enzimas Ca^{2+} ATPase e $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ ATPase foi determinada conforme método descrito por ROHN (1993) e FISKE e SUBBAROW (1925), respectivamente. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) e analisados por meio da análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme demonstrado na Figura 2, os animais expostos ao EFI apresentaram diminuição no limiar de retirada da pata em resposta ao estímulo mecânico (Figura 2A) e no tempo de latência em resposta ao estímulo térmico (Figura 2B), quando comparado ao grupo controle. Estes resultados evidenciam que o EFI causou hipersensibilidade à dor nos animais, indicando que este modelo induz os sintomas clínicos dolorosos característicos da FM. Frente a isso, o tratamento com 4-PSQ (1 mg/kg) reduziu significativamente a hiperalgesia mecânica (Figura 2A) e térmica (Figura 2B) induzida pelo EFI, em comparação com o grupo EFI. Da mesma forma, a DXT (30 mg/kg) também atenuou a hiperalgesia mecânica e térmica induzida pelo EFI. É importante destacar que este é o primeiro estudo a demonstrar que uma administração única da 4-PSQ (1 mg/kg) apresentou efeito antinociceptivo semelhante ao da DXT (30 mg/kg).

Com o objetivo de investigar as vias moduladas pelo 4-PSQ que podem contribuir para seu efeito antinociceptivo, avaliou-se a atividade das enzimas Ca^{2+} ATPase e $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ ATPase. Os resultados apresentados na Figura 3 revelam que a exposição ao EFI aumentou a atividade da Ca^{2+} ATPase no córtex cerebral (Figura 3A) e na medula espinhal (Figura 3C), enquanto inibiu a atividade da $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ ATPase (figuras 3B e 3D), em comparação ao grupo controle.

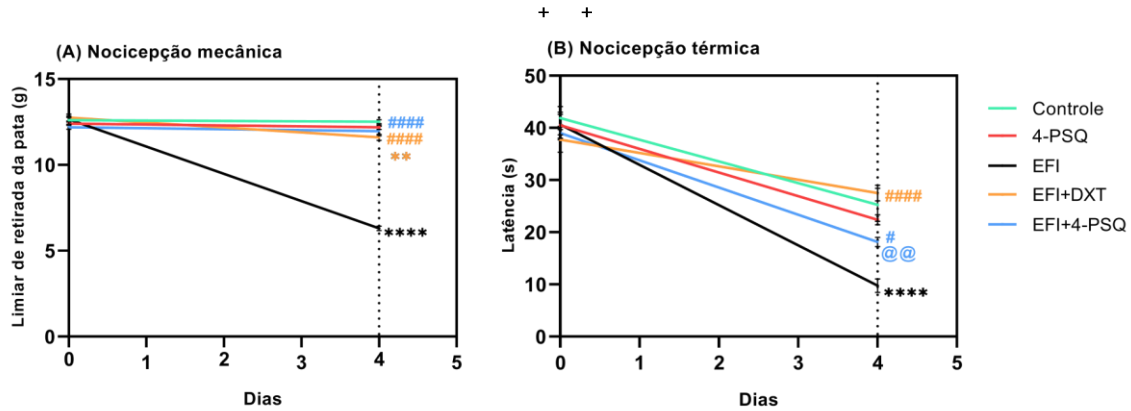


Figura 2. Efeito do 4-PSQ (1 mg/kg) sobre a nocicepção (A) mecânica e (B) térmica nos testes de *Von Frey* e placa quente, respectivamente. (**) $p < 0,01$ e (****) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância quando comparado ao grupo controle, (#) $p < 0,05$ e (####) $p < 0,0001$ ao grupo EFI, (@@) $p < 0,01$ ao grupo EFI+DXT (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey).

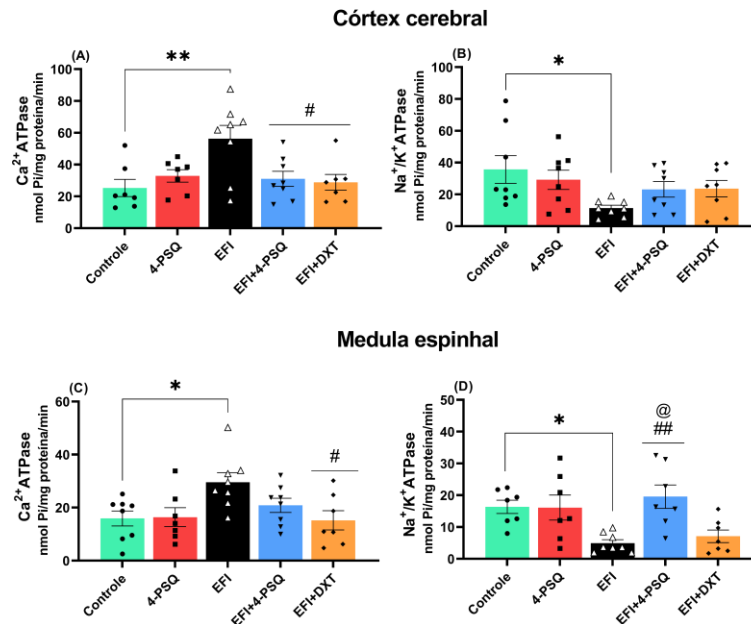


Figura 3. Efeito do 4-PSQ (1 mg/kg) sobre a atividade das enzimas Ca^{2+} ATPase e Na^{+}/K^{+} ATPase no córtex cerebral (A e B, respectivamente) e na medula espinal (C e D, respectivamente). (*) $p < 0,05$ e (**) $p < 0,01$ denotam níveis de significância quando comparado ao grupo controle, (#) $p < 0,05$ e (##) $p < 0,01$ ao grupo EFI, (@) $p < 0,05$ ao grupo EFI+DXT (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey).

O tratamento com 4-PSQ (1 mg/kg) foi capaz de restaurar os prejuízos ocasionados pela indução, pois causou a inibição da atividade da enzima Ca^{2+} ATPase no córtex cerebral (Figura 3A) e o aumento da atividade da Na^{+}/K^{+} ATPase na medula espinal (Figura 3D), em comparação ao grupo EFI. A DXT (30 mg/kg) restaurou a atividade da Ca^{2+} ATPase em ambos os tecidos analisados a níveis semelhantes aos do grupo controle. Também é importante observar que o 4-PSQ *per se* não causou alteração na atividade das enzimas, em ambos os tecidos. Com isso, o efeito antinociceptivo do 4-PSQ parece estar ligado à sua capacidade de modular as enzimas Ca^{2+} ATPase e Na^{+}/K^{+} ATPase de forma tecido dependente, com ações distintas no córtex e na medula espinal.

4. CONCLUSÕES

Baseado nas evidências, o 4-PSQ se destaca como um candidato promissor para tratar os sintomas nociceptivos da fibromialgia. O composto demonstrou capacidade de modular a atividade das enzimas Ca^{2+} ATPase e $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ ATPase de forma tecido dependente. Mais estudos são necessários para investigar o papel das ATPases nos efeitos nociceptivos apresentados pelo 4-PSQ.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAMRI, F.F. et al. Applicability of the grip strength and automated von Frey tactile sensitivity tests in the mouse photothrombotic model of stroke. **Behavioral Brain Research**, v. 336, p. 250-255, 2018.
- BARCELOS, R. C. S. et al. Apical periodontitis induces changes on oxidative stress parameters and increases $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase activity in adult rats. **Archives of Oral Biology**, v. 118, p. 104849, 2020.
- DUARTE, L.F.B. et al. A simple method for the synthesis of 4-arylselanyl-7-chloroquinolines used as in vitro acetylcholinesterase inhibitors and in vivo memory improvement. **Tetrahedron Letters**, v. 58, p. 3319-3322, 2017.
- FISKE, C.H.; SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 66, p. 375-400, 1925.
- GYORFI, M. et al. Fibromyalgia Pathophysiology. **Biomedicines**, v. 10, p. 3070, 2022.
- NISHIYORI, M.; UEDA, H. Prolonged gabapentin analgesia in an experimental mouse model of fibromyalgia. **Molecular Pain**, v. 4, p. 52, 2008.
- NOGUEIRA, C. W. et al. Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: an update. **Archives of Toxicology**, v. 95, p. 1179-1226, 2021.
- PALTIAN, J. J. et al. 7-Chloro-4-(Phenylselanyl) Quinoline Is a Novel Multitarget Therapy to Combat Peripheral Neuropathy and Comorbidities Induced by Paclitaxel in Mice. **Molecular Neurobiology**, v. 59, p. 1-23, 2022.
- PINZ, M. et al. 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.
- REIS, A. S. et al. Advances in the Understanding of Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy in Mice: 7-Chloro-4-(Phenylselanyl) Quinoline as a Promising Therapeutic Agent. **Molecular Neurobiology**, v. 57, p. 5219-5234, 2020.
- ROHN, T. et al. Ion transport ATPases as targets for free radical damage. **Biochemical Pharmacology**, [S. l.], v. 46, n. 3, p. 525-534, 1993.
- SARZI-PUTTINI, P. et al. Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 16, n. 11, p. 645-660, 2020.
- SILVA, V. D. G. et al. Further analysis of acute antinociceptive and antiinflammatory actions of 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 31, p. 513-525, 2017.
- SINGH, L. et al. Possible molecular mediators involved and mechanistic insight into fibromyalgia and associated co-morbidities. **Neurochemical research**, v. 44, n. 7, p. 1517-1532, 2019.
- SINGH, L. et al. Daphnetin, a natural coumarin averts reserpine-induced fibromyalgia in mice: modulation of MAO-A. **Experimental Brain Research**, v. 239, n. 5, p. 1451-1463, 2021.
- SIRACUSA, R. et al. Fibromyalgia: Pathogenesis, Mechanisms, Diagnosis and Treatment Options Update. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 3891, 2021.
- WOOLFE, G.; MACDONALD, A. The evaluation of the analgesic actions of pethidine hydrochloride (Demerol). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 80, p. 300-307, 1944.