

EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DA BENZAMIDA *N*-3-(FENILSELENIL) PROP-2-IN-1-ÍLICA EM MODELO DE DOR INDUZIDA POR RESERPINA EM CAMUNDONGOS

OSCAR RODRIGO MORELES RODRIGUES¹; KAUANE NAYARA BAHR LEDEBUHR¹; BENHUR GODOI²; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATO¹; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING¹

¹Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) – rodrigooscarmr@live.com

²Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos – Universidade Federal da Fronteira Sul

1. INTRODUÇÃO

A dor e a inflamação são respostas fisiológicas complexas que, embora essenciais para a defesa do organismo, podem se tornar patológicas e debilitantes (Wieseler-Frank, 2005). Segundo Baeuerle e Henkel (1994), o fator nuclear kappa B (NF- κ B) é um fator de transcrição fundamental para a regulação da expressão de várias citocinas pró-inflamatórias, desempenhando um papel crucial na mediação da inflamação. A interleucina 6 (IL-6) também se destaca como uma citocina chave na resposta inflamatória, ela não apenas atua como mediadora da inflamação, mas também influencia a percepção da dor (PIRES, 2017).

A inter-relação entre NF- κ B e IL-6 é particularmente significativa, pois a ativação do NF- κ B pode levar ao aumento da produção de IL-6, exacerbando a inflamação e a dor (MILLER et al., 2009). Ghasemian et al. (2017) ressaltam que essa via de sinalização é uma das responsáveis pela cronicidade da dor em várias condições patológicas, como artrite reumatoide e outras doenças inflamatórias.

Além disso, a presença elevada de IL-6 está associada a estados de dor crônica, Miller et al. (2009) encontraram uma correlação entre níveis elevados de IL-6 e a persistência da dor após procedimentos cirúrgicos, evidenciando a importância dessa citocina na manutenção da dor em pacientes.

O controle da dor e da inflamação é um desafio, o que ressalta a necessidade de medicamentos mais eficazes para seu controle, o modelo da reserpina tem sido explorado para desenvolver novas opções terapêuticas, dado seu potencial no alívio da dor, estudar e adaptar esse modelo pode oferecer insights valiosos para a criação de analgésicos mais eficazes, contribuindo assim para um manejo mais eficaz da dor (MAIA et al., 2023). A reserpina atua como um depletor de monoaminas, bloqueando a captação dos neurotransmissores noradrenalina, dopamina e serotonina para o interior das vesículas pré-sinápticas.. A depleção de monoaminas pode influenciar a resposta inflamatória do organismo (CÂMARA, 2020).

A benzamida *N*-3-(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica (SePB) tem mostrado promissora eficácia no alívio da dor inflamatória. Em estudos anteriores realizados por Ledebuhr (2022), a SePB reduziu a hiperalgesia em modelos experimentais de dor induzida por reserpina em camundongos, evidenciando seu potencial terapêutico, demonstrando também eficácia na modulação da resposta inflamatória, justificando assim sua utilização neste estudo.

Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da SePB nos níveis de NF κ B e IL-6 no córtex de camundongos submetidos a um modelo de dor induzida por reserpina.

2. METODOLOGIA

O composto benzamida *N*-3(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB) (Figura 1) foi produzido no Núcleo de Síntese, Aplicação e Análise de Compostos Orgânicos e Inorgânicos (NUSAACOI) da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Para a administração intragástrica, o composto foi diluído em óleo de canola na proporção de 10 mL/kg.

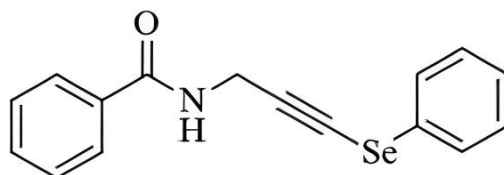


Figura 1. Estrutura química da benzamida *N*-(3-(fenilselenil)prop-2-in-1-ílica (SePB).

Para o estudo, foram utilizados camundongos machos com peso entre 25 e 35 g, provenientes do biotério central da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) sendo todos os procedimentos realizados em conformidade com as diretrizes do Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da instituição. Os camundongos foram distribuídos em diferentes grupos: controle, composto, reserpina e interação. As administrações foram realizadas conforme os grupos designados. Os animais passaram por um processo de depleção de monoaminas, por meio da administração diária de reserpina ou de um veículo (solução de 0,5% de ácido acético glacial em água destilada, com pH ajustado para 5 utilizando NaOH 5M) na dose de 0,5 mg/kg, via intraperitoneal, durante três dias consecutivos. 24h após a última injeção de reserpina, os animais foram tratados por via intragástrica com 10 mg/kg da SePB ou veículo (óleo de canola) e 30 minutos depois foi realizado a eutanásia.

Foi coletado o córtex de cada animal para análise de expressão gênica (mRNA) de NF κ B e IL-6 por reação da polimerase em cadeia em tempo real (PCR). O mRNA total foi extraído do córtex de camundongos utilizando TRIzol, seguido de sua quantificação. A síntese de cDNA foi realizada utilizando um kit de transcrição reversa de cDNA de alta capacidade de acordo com o protocolo do fabricante. A amplificação foi feita com o GoTaq® qPCR Master Mix usando o Stratagene Mx3005P real-time PCR. As expressões gênicas foram normalizadas usando o primer GAPDH como gene de referência.

As comparações entre os grupos foram realizadas no software GraphPad Prism pelo teste de ANOVA de uma via, seguidas pelo teste de Newman-Keuls. Um valor de $p < 0.05$ foi considerado significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da expressão gênica do NF κ B (Figura 2), a reserpina aumentou significativamente os níveis de mRNA desse fator de transcrição no córtex quando comparado ao grupo controle e a SePB demonstrou efeito anti-inflamatório, revertendo os níveis de NF κ B aos do controle.

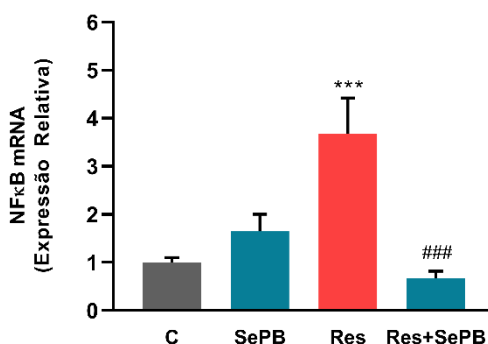


Figura 2. Efeito da SePB e/ou reserpina nos níveis de NFκB no córtex de camundongos. Os dados estão demonstrados como média \pm erro padrão da média. *** $p < 0,001$ em relação ao grupo controle e ### $p < 0,001$ quando comparado ao grupo Res. Foram utilizados 4-5 animais por grupo. Res: reserpina; SePB: benzamida N-3-(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica.

Com relação a avaliação da expressão gênica da IL-6, a reserpinação aumentou significativamente os níveis de mRNA desta citocina no córtex quando comparado ao grupo controle e a SePB demonstrou efeito anti-inflamatório, revertendo o aumento da IL-6 causada pela reserpina, e reduzindo além dos níveis do controle (Figura 3).

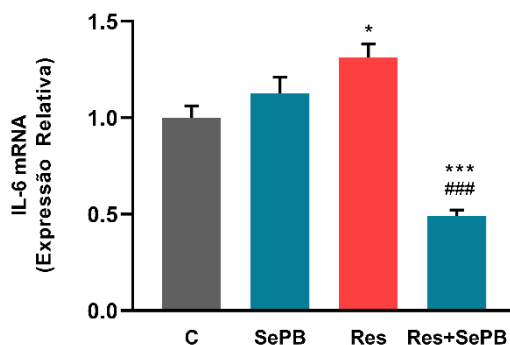


Figura 3. Efeito da SePB e/ou reserpina nos níveis de IL-6 no córtex de camundongos. Os dados estão demonstrados como média \pm erro padrão da média. * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ em relação ao grupo controle. ### $p < 0,001$ quando comparado ao grupo Res. Foram utilizados 4-5 animais por grupo. Res: reserpina; SePB: benzamida N-3-(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica.

Nos resultados obtidos, a reserpina aumentou significativamente os níveis de mRNA do NFκB e da IL-6, indicando que este composto pode induzir um estado inflamatório no córtex, esse aumento sugere que a reserpina pode facilitar a sensibilização neural, um aspecto fundamental na gênese da dor. Por outro lado, a SePB demonstrou um efeito anti-inflamatório ao reverter os níveis de NFκB e IL-6 para níveis comparáveis ao controle, sugerindo que a SePB pode ser eficaz na modulação da resposta inflamatória, reduzindo a ativação do NFκB e, consequentemente, a produção de IL-6.

Esses achados são significativos para entender o mecanismo de ação da SePB na dor e na neuroinflamação. Isso sugere que intervenções que visem a modulação da neuroinflamação, como o uso da SePB, podem representar uma estratégia promissora no tratamento de condições dolorosas, onde a

neuroinflamação desempenha um papel central. A compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na neuroinflamação e na dor é crucial para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

4. CONCLUSÕES

Através dos resultados é possível concluir que a SePB apresenta um efeito do tipo antiinflamatório em um modelo de dor induzido por reserpinação, demonstrando ser um composto potencial para o tratamento da dor com componente inflamatório.

Os resultados apresentados indicam que tanto o NFκB quanto a IL-6 são alvos importantes para intervenções que buscam atenuar a dor inflamatória e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Assim, a pesquisa contínua sobre a SePB e seus efeitos na neuroinflamação pode oferecer *insights* valiosos para estratégias de tratamento mais eficazes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baeuerle, P. A., & Henkel, T. (1994). "Function and activation of NF-κB in the immune system." *Annual Review of Immunology*, 12, 141-179.

Câmara, D. D. A. (2020). *Efeito fase-dependente da reserpina na promoção de déficit comportamental e alteração neuroquímica na via nigro-estriatal de ratos* (Master's thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Norte).

Ghasemian, A., et al. (2017). "Role of NF-κB in the regulation of pain and inflammation." *Journal of Neuroinflammation*, 14, 39.

Ledebuhr, K. N. B. (2022). *Efeito antinociceptivo da benzamida N-3-(fenilselenil) prop-2-in-1-ílica em camundongos: envolvimento do sistema serotoninérgico* (Master's thesis, Universidade Federal de Pelotas).

MAIA, Flávio G.; ALMEIDA, Rafael C.; CASTRO, Daniele A. O modelo da reserpina como ferramenta na pesquisa de novos analgésicos: avanços e perspectivas. *Revista Brasileira de Farmacologia Experimental e Clínica*, v. 14, n. 3, p. 233-245, 2023.

Miller, A. M., et al. (2009). "IL-6 and TNF-α are associated with persistent pain after knee arthroplasty." *BMC Musculoskeletal Disorders*, 10, 57.

Pires, M. D. O. (2017). *Efeitos do treinamento físico sobre a cinética das concentrações séricas dos componentes do Complexo Ternário do IGF-I e citocinas (TNF-?, IL-6, IL-10) em nadadores adolescentes* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Wieseler-Frank, J., Maier, S. F., & Watkins, L. R. (2005). Immune-to-brain communication dynamically modulates pain: physiological and pathological consequences. *Brain, behavior, and immunity*, 19(2), 104-111.