



EFEITO DO Se-[(2,2-DIMETIL-1,3-DIOXOLAN-4-IL)METIL]4- CLOROBENZOSELENOLATO NA RESPOSTA NOCICEPTIVA E EDEMATOGÊNICA EM UM MODELO ANIMAL DE ARTRITE REUMATOIDE.

BRIANA BARROS LEMOS¹, PAOLA DOS S. SOARES², DANIELA R. ARAUJO³,
ANGELITA M. BARCELLOS⁴, CRISTIANE LUCHESE⁵, ETHEL ANTUNES
WILHELM^{6*}

¹Universidade Federal de Pelotas – brianabarros18@gmail.com

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

³Universidade Federal de Pelotas – danielaroodrigues@gmail.com

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

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

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

1. INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune progressiva crônica, caracterizada por inflamação que leva à destruição de ossos e cartilagens, devido à atividade contínua da doença. A AR geralmente se manifesta como dor, que atinge diversas articulações ao mesmo tempo (CHANCA Y et al., 2019). A progressão do dano articular está intrinsecamente associada ao inchaço articular (BILBERG et al., 2018; ALETAHA e SMOLEN, 2018).

Estudos demonstram que a cascata inflamatória está associada à ativação de enzimas geradoras de oxidantes, promovendo a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROs) (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2015). As EROs ativam as células inflamatórias tendo um papel importante na geração da inflamação (YUDOH et al., 2009). A cura da AR ainda permanece indefinida, desta forma, o alvo principal do tratamento é reduzir a dor e a inflamação e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (OMOROGBE et al., 2018).

Os compostos orgânicos de selênio têm atraído grande atenção no campo do desenvolvimento de drogas devido a sua versatilidade. Diversos estudos revelaram os potenciais efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório dos compostos organoselênio e os mecanismos envolvidos nestas atividades farmacológicas, incluindo o antioxidante (SILVA et al., 2017; PINZ et al., 2016). Um recente estudo demonstrou a atividade antioxidante e anti-inflamatória do composto Se - [(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metil] 4-clorobenzoselenolato (Se-DMC) em camundongos (WILHELM et al., 2019). Baseado nos promissores resultados obtidos neste estudo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do composto Se-DMC frente a dor e inflamação causada pela AR em camundongos.

2. METODOLOGIA

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) (CEEA 1289-2016). Foram utilizados camundongos machos adultos da raça *Swiss* provenientes do Biotério Central da UFPEL. O composto Se-DMC (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPEL (PERIN et al., 2017).

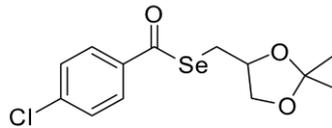


Figura 1: Estrutura química do Se-DMC

A indução de AR foi realizada de acordo com o método descrito por Pearson e Wood (1959). No dia 0 do protocolo experimental, os camundongos receberam a injeção intraplantar do adjuvante completo de Freund (CFA) (1 mg/mL de *Mycobacterium tuberculosis*, 20 µL) ou solução salina (10 mL/kg) na pata posterior esquerda. Do 1º ao 14º dia, os animais foram tratados diariamente, por via intragástrica, com o composto Se-DMC (5 mg/kg), veículo (óleo de canola, 10 mL/kg) ou meloxicam (5 mg/kg, droga de referência). A fim de avaliar o efeito do Se-DMC frente aos efeitos causados pela artrite induzida por CFA foi realizado o teste automatizado de von frey. Após o teste, os animais foram submetidos à eutanásia por anestesia com isoflurano. O edema da pata foi medido comparando a diferença de peso entre a pata direita (controle) e a pata esquerda após a injeção de CFA. As patas que receberam a injeção intraplantar foram retiradas, pesadas, homogeneizadas em Tris/HCl 50 mM pH 7,5 (1:10 m/v), e centrifugadas a 900g por 10 min a 4 °C. O sobrenadante (S1) foi utilizado para a avaliação dos níveis de espécies reativas (ER). Os níveis de ER foram determinados usando o ensaio de diacetato de 20,7'-diclorofluoresceína (DCHF-DA) (LOETCHUTINAT et al., 2005). O S1 (10 mL) foi incubado com 10 mL de DCHF-DA (1 mM). A oxidação de DCHF-DA em diclorofluoresceína fluorescente (DCF) foi medida para a detecção de ER intracelular. A emissão de intensidade de fluorescência do DCF foi registrada a 520 nm (com excitação a 480 nm) 15 minutos após a adição de DCHF-DA ao meio. Os níveis de ER foram expressos como unidades arbitrárias de fluorescência.

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (S.E.M.). A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman Keuls. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme demonstrado na Figura 2, a injeção intraplantar de CFA causou um aumento no limiar de retirada da pata quando comparado ao grupo controle, caracterizando uma hiperalgesia. O tratamento com o Se-DMC reverteu a hiperalgesia causada pelo CFA aos níveis do controle. Além disso, o Meloxicam (droga de referência) reduziu a hiperalgesia induzida pelo CFA quando comparado ao grupo induzido.

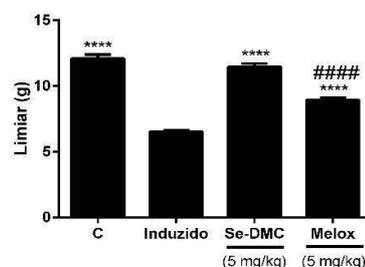


Figura 2. Efeito do tratamento com Se-DMC ou meloxicam na hiperalgesia induzida por CFA em camundongos. Os dados foram apresentados como a média ± S.E.M. de 6-7 camundongos por grupo. (****) denotam $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo induzido; (####) denotam $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle (ANOVA unidirecional seguido do teste de Newman-Keuls).

A Figura 3 demonstra que a injeção de CFA causou um aumento significativo no edema de pata, quando comparado ao grupo controle. O Se-DMC e o Meloxicam reduziram o edema de pata em 17% e 11%, respectivamente. A redução da hiperalgesia e do edema de pata observada após o tratamento com Se-DMC ou Meloxicam revelam que estes compostos foram efetivos em reduzir a dor e inflamação causada pela AR em camundongos.

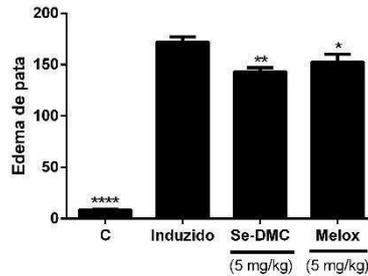


Figura 3. Efeito do Se-DMC e do Meloxicam no edema de pata induzido por CFA. Os dados foram apresentados como a média \pm S.E.M. de 6-7 camundongos por grupo. (***) e (****) denotam $p < 0,001$ e $p < 0,0001$, respectivamente, quando comparados ao grupo induzido (one-way ANOVA unidirecional seguido do teste de Newman-Keuls).

Os resultados apresentados na Figura 4 revelam que o CFA causou um aumento nos níveis de ER na pata dos animais, quando comparado ao grupo controle. O tratamento com o Se-DMC ou Meloxicam reverteu o aumento nos níveis de ER, quando comparado ao grupo induzido. Estes resultados sugerem que a atividade antioxidante destes compostos contribui para o efeito farmacológico observado no modelo de AR.

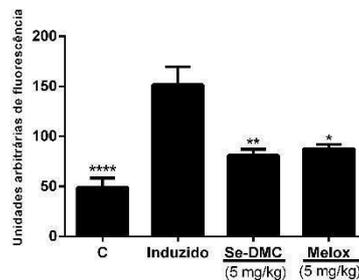


Figura 4. Efeito do Se-DMC e do Meloxicam nos níveis de ER na pata de camundongos expostos ao CFA. Os dados foram apresentados como a média \pm S.E.M. de 6-7 camundongos por grupo. (*), (**), e (****) denotam $p < 0,05$; $p < 0,01$ e $p < 0,0001$, respectivamente, quando comparados ao grupo induzido (one-way ANOVA unidirecional seguido do teste de Newman-Keuls).

4. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo mostram que o Se-DMC reduz as respostas inflamatória (edematogênica) e nociceptiva induzidas pelo CFA em camundongos, além de possuir propriedades antioxidantes, o que favorece o seu benefício em indivíduos com doença artrítica. No entanto, mais estudos são necessários para compreender o mecanismo de ação do Se-DMC no tratamento da AR.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALETAHA, D; SMOLEN, J.S. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: a review. *Jama*, v. 320, n. 13, p. 1360-1372, 2018.

- BILBERG, A.; BREMELL, T.; BJERSING, J.; MANNERKORPI, K. High prevalence of widespread pain in women with early rheumatoid arthritis. **Scandinavian journal of rheumatology**, v. 47, n. 6, p. 447-454, 2018.
- 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.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, A.; GAXIOLA-ROBLES, R.; ZENTENO-SAVÍN, T. Oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. **Revista de Investigación Clínica**, v. 67, n. 1, p. 46-53, 2015.
- 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.
- 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-dioxolanylmethyl) diselenide as substrates. **Organic Chemistry**, n. part ii, p. 138-148, 2017.
- PINZ, M.; REIS, A.S.; DUARTE, V.; DA ROCHA, M.J.; GOLDANI, B.S.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. 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.
- 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.
- SILVA, V.D.G.; REIS, A.S.; PINZ, M.; DA FONSECA, C.A.R.; DUARTE, L.F.B.; ROEHRS, J.A.; ALVES, D.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. Further analysis of acute antinociceptive and anti-inflammatory actions of 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline in mice. **Fundamental and clinical pharmacology**, v.31, n.5, p.513-525, 2017.
- LOETCHUTINAT, C.; KOTHAN, S.; DECHSUPA, S.; MEESUNGNOEN, J.; JAYGERIN, J.P.; MANKHETKORN, S. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2', 7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 72, n. 2-3, p. 323-331, 2005.
- WILHELM, E. A.; SOARES, P. S.; REIS, A. S.; BARTH, A.; FREITAS, B. G.; MOTTA, K. P.; LEOMS, B.B.; VOGT, A.G.; DA FONSECA, C.A.R.; ARAUJO, D.R.; BARCELLOS, A. M.; PERIN, G.; LUCHESE, C. Se-[(2, 2-Dimethyl-1, 3-dioxolan-4-yl) methyl] 4-chlorobenzoselenolate reduces the nociceptive and edematogenic response by chemical noxious stimuli in mice: implications of multi-target actions. **Pharmacological Reports**, 2019.
- YUDOH, K.; KARASAWA, R.; MASUKO, K.; KATO, T. Water-soluble fullerene (C60) inhibits the development of arthritis in the rat model of arthritis. **International Journal of Nanomedicine**, v. 4, p. 217, 2009.