



AValiação DO INIBIDOR DE METABOLISMO DE PEPTÍDEOS OPIOIDES ENDÓGENOS MICROINJETADO NA SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL DORSAL EM RATOS SUBMETIDOS AO TESTE DO LABIRINTO EM T ELEVADO

Mariana Kitayama (PIBIC/CNPq/UEM), Elisabeth Aparecida Audi (Orientador), e-mail: elisabethaudi8@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR

Área: Ciências da Saúde, subárea: Farmácia

Palavras-chave: substância cinzenta periaquedutal dorsal, opioides endógenos, labirinto em T elevado.

Resumo:

Distúrbios da ansiedade, como o transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e o transtorno do pânico (TP) são considerados transtornos mentais de alta prevalência. Encefalinas são peptídeos opioides endógenos encontrados na substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) e participam dos efeitos panicolíticos da serotonina. Estudos mostram que a atividade antipânico dos antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (5-HT, ISRS) na SCPd envolve encefalinas endógenas. As encefalinas endógenas são catabolizadas pelas enzimas de peptídeos opioides, a endopeptidase neutra (NEP) e a aminopeptidase N (APN). A opiorfina é um peptídeo inibidor de NEP e APN e, portanto, pode potencializar a ação dessas encefalinas. A opiorfina possui efeitos analgésicos semelhantes aos da morfina, sem apresentar efeitos adversos como tolerância e dependência, o que a torna interessante do ponto de vista clínico. Esse trabalho avaliou os efeitos modulatórios das respostas defensivas do inibidor de peptídeos opioides endógenos, a opiorfina humana, microinjetada na SCPd de ratos submetidos aos testes do labirinto em T elevado (LTE). A opiorfina humana foi microinjetada nas doses de 1,25, 2,5 e 5,0 nmol na SCPd e aumentou significativamente a latência de fuga no teste do LTE, indicando um efeito panicolítico na dose de 5 nmol, sem afetar a esquia inibitória ou a atividade locomotora. Esses resultados são a primeira indicação de que opiorfina pode ter propriedades panicolíticas e que poderá ser uma nova estratégia no tratamento do TP.

Introdução



O Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais V (DSM V) descreve os transtornos de ansiedade, incluindo transtorno do pânico que é caracterizado por episódios repetidos e repentinos de ataques de pânico (APs) e acompanhado de ansiedade antecipatória e/ou agorafobia. Os APs provocam períodos de medo ou desconforto intenso que atinge um pico em minutos (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013).

Estudos em animais e humanos têm mostrado que a substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) é a estrutura cerebral mais diretamente envolvida na fisiopatologia e consequentemente com o tratamento do TP (GRAEFF; DEL-BEM, 2008).

Os inibidores seletivos de recaptação de serotonina (ISRS) são considerados o tratamento de primeira escolha para tratar o TP. No entanto, apresentam limitações como o aumento de efeitos adversos como ansiedade no início do tratamento, especialmente em pacientes com TP e a demora para o início do efeito terapêutico (STEIN, et al., 2010). Assim, é importante pesquisar novas drogas para tratar este transtorno mais efetivamente. O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade da injeção intra-SCPd do inibidor de metabolismo de peptídeos opioides endógenos, a opiorfina humana, em ratos submetidos ao teste comportamental do labirinto em T elevado (LTE), que mede simultaneamente e no mesmo animal, comportamentos defensivos relacionados ao pânico e ansiedade.

Materiais e métodos

Utilizamos ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar de 55 dias (230-260 g). A opiorfina humana (OPI) foi dissolvida em salina estéril 0,9% com 0,2% de dimetilsulfóxido (DMSO)(veículo). Os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para a implantação de cânulas guias de aço inoxidável na SCPd seis dias antes dos testes. O teste do LTE mede comportamentos defensivos causados por medo condicionado através da colocação do animal no final do braço fechado, onde a latência de esquiva inibitória é relacionada a ansiedade e comportamentos defensivos associados ao medo incondicionado, através da colocação do animal no final do braço aberto, onde se mede a latência de fuga é relacionada ao pânico. Cada animal é colocado por 3 vezes consecutivas em cada situação experimental. No dia do teste os animais foram tratados por via intra-SCPd com as drogas teste ou veículo, e após dez minutos os animais foram submetidos ao teste do LTE. Trinta segundos após o teste os animais foram colocados individualmente no campo aberto por 300 segundos para avaliação da atividade locomotora. Análise dos dados usou a variância de medidas repetidas seguida do teste de Duncan.



Resultados e Discussão

A **figura 1** mostra que opiorfina microinjetada na SCPd aumentou significativamente a latência de fuga ($F_{(3,104)}=8,26$; $p<0,01$). A análise *post hoc* de Duncan revelou que opiorfina aumentou significativamente a latência de fuga na dose de 5,0 nmol quando comparada com os demais grupos ($p<0,01$). Nem a esquivas inibitórias no LTE, nem a atividade locomotora no campo aberto diferiram entre os grupos testados (**Tabela 1**). A possibilidade do efeito panicolítico da opiorfina ser decorrente do comprometimento da atividade locomotora foi descartada, já que no teste do campo aberto esta droga não alterou a distância total percorrida pelo animal. Também não observou-se nenhuma alteração nos parâmetros de esquivas inibitórias promovido por nenhuma das doses de opiorfina. Como a opiorfina inibe a degradação enzimática de encefalinas (THANAWALA; KADAM; GHOSH, 2008), a explicação mais provável para estes resultados é que o efeito panicolítico da opiorfina é mediada pela maior concentração de encefalinas endógenas na SCPd.

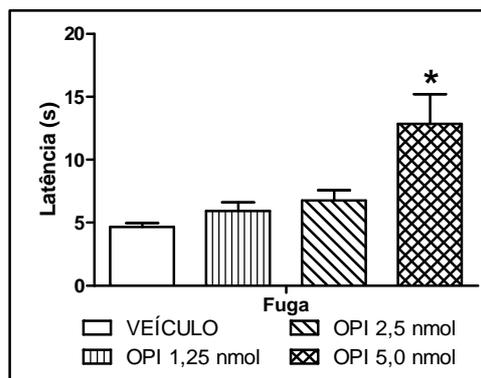


Figura 1 – Média \pm erro padrão médio da fuga no LTE causada pela microinjeção intra SCPd da opiorfina (OPI; 0, 1,25, 2,5 e 5,0 nmol). As três tentativas de fuga no experimento foram colabadas. $n=7-11$, $*p<0,01$, comparado aos demais grupos.

Tabela 1. Média \pm erro padrão médio da esquivas inibitórias do labirinto em T elevado (LTE) e distância total percorrida no campo aberto durante 300 s

Drogas tratamento (nmol)	<i>n</i>	Linha de base	Esquiva 1	Esquiva 2	Distância total percorrida (m)
Veículo	11	18,00 \pm 9,28	38,18 \pm 21,87	77,18 \pm 34,93	17,20 \pm 1,16
Opiorfina (1,25)	9	11,78 \pm 10,26	14,44 \pm 24,18	66,22 \pm 38,62	17,46 \pm 1,28
Opiorfina	8	23,00 \pm 10,88	9,00 \pm 25,64	42,75 \pm 40,96	17,97 \pm 1,36



(2,5)					
Opiorfina (5,0)	9	25,22±10,26	69,11±24,18	130,88±38,61	19,26±1,28

Conclusão

Os presentes resultados são a primeira indicação de que opiorfina pode ter propriedades panicolíticas. Portanto, o desenvolvimento de análogos de opiorfina com características físico-químicas mais resistentes ao metabolismo, mais lipossolúveis e apropriadas para administração em humanos pode ser um caminho para a descoberta de uma nova medicação para tratar o TP.

Agradecimentos

CNPq, Capes.

Referências

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. 5. ed. Arlington, VA.: American Psychiatric Publishing, 2013.

GRAEFF, F. G.; DEL-BEN, C. M. Neurobiology of panic disorder: from animal models to brain neuroimaging. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 32, n. 7, p. 1326–1335, 2008.

MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **Journal of comparative and physiological psychology**, v. 48, n. 4, p. 254–60, 1955.

STEIN, M.; STECKLER, T.; LIGHTFOOT, J. D.; HAY, E.; GODDARD, A. W. Pharmacologic Treatment of Panic Disorder. In: STEIN, M. B.; STECKLER, T. (Eds.). **Current Topics in Behavioral Neurosciences: Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment**. New York, NY: Springer, 2010.

THANAWALA, V.; KADAM, V. J.; GHOSH, R. Enkephalinase inhibitors: potential agents for the management of pain. **Current drug targets**, v. 9, n. 10, p. 887–894, 2008.