

INTERAÇÕES ENTRE FLUOXETINA E OPIORFINA NO TESTE DO LABIRINTO EM T ELEVADO

Cláudia Tiemi Yabiku (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Elisabeth Aparecida Audi (Orientadora), e-mail: elisabethaudi8@gmail.com

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

Área: Farmacologia; subárea: Neuropsicofarmacologia

Palavras-chave: opiorfina, transtorno do pânico, substância cinzenta periaquedutal dorsal.

Resumo

O transtorno do pânico (TP) se caracteriza por ocorrência repetida de ataques de pânico, nos quais o indivíduo experimenta taquicardia, náuseas, sensação de sufocação, medo de morrer e/ou enlouquecer, dentre outros sintomas. Atualmente seu tratamento farmacológico de primeira escolha preconiza a utilização dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina, como a fluoxetina. Essas e outras drogas que porventura são utilizadas no tratamento do TP (como os antidepressivos tricíclicos) têm como desvantagem o tempo de latência até que surjam seus efeitos, além da resistência ao tratamento farmacológico por uma parcela significativa de pacientes. Com base neste quadro, há um grande interesse na pesquisa de novas formas de terapias para os pacientes com TP. Nesse sentido, surge a opiorfina, um peptídeo analgésico e antidepressivo encontrado na saliva humana, capaz de inibir enzimas que degradam opioides endógenos, os quais têm papel na promoção de efeito panicolítico. Existe alta densidade de receptores opioides na substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd), região envolvida na fisiopatologia do TP. Este estudo investigou se associação da opiorfina acelera e/ou facilita o efeito antipânico da fluoxetina em ratos, utilizando o teste do labirinto em T elevado (LTE). Observamos que a opiorfina associada à fluoxetina não acelerou mas facilitou os efeitos panicolíticos da fluoxetina.

Introdução

A SCPd é a estrutura cerebral mais diretamente envolvida na etiologia do pânico (DEL-BEN; GRAEFF, 2009). Sabe-se que há uma alta densidade de receptores opioides nesta estrutura, e que sua ativação causa um efeito panicolítico em testes comportamentais com ratos. Entretanto, os opioides endógenos são rapidamente degradados após sua liberação na fenda

sináptica por enzimas (endopeptidase neutra e aminopeptidase N). A opiorfina é um peptídeo produzido e secretado naturalmente na saliva humana, nas lágrimas, no plasma sanguíneo, no sêmen e no leite materno que tem como ação inibir a ação de tais enzimas, aumentando portanto a concentração de opioides. Os efeitos fisiológicos de sua administração já foram demonstrados em estudos pré-clínicos, que indicaram atividades analgésica e antidepressiva, sem potencial de abuso nem tolerância (POPIK et al., 2010). Este trabalho objetivou investigar o sinergismo entre a opiorfina e a fluoxetina, avaliando aceleração e/ou facilitação do efeito antipânico em ratos expostos ao LTE.

Materiais e métodos

Animais, tratamento e delineamento experimental

Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar de 55 dias com peso variando entre 230-260 g. Opiorfina era dissolvida numa solução veículo de salina estéril 0,9% com 2,0% de DMSO, e fluoxetina era dissolvida numa solução veículo de salina estéril 0,9% com 2,0% de polissorbato. Veículo ou fluoxetina eram administrados diariamente durante 7 ou 21 dias antes da cirurgia, e opiorfina + veículo ou opiorfina + fluoxetina eram administrados 7 dias após a cirurgia.

ETAPA 1 – Avaliação da aceleração de efeito panicolítico da fluoxetina pela opiorfina: avaliamos se a microinjeção intra SCPd de opiorfina em dose sub efetiva (2,5nmol) poderia facilitar o aparecimento do efeito panicolítico obtido com a administração diária de doses efetivas da fluoxetina (10 mg/Kg) por via i.p. durante 7 dias. Para isso, os seguintes grupos experimentais (n=10/por grupo) foram formados: veículo + veículo, veículo + fluoxetina (10 mg/kg, ip), opiorfina (2,5nmol) + veículo e opiorfina (2,5nmol) + fluoxetina (10 mg/kg, ip).

ETAPA 2 – Avaliação da facilitação do efeito panicolítico da fluoxetina: avaliamos se a microinjeção intra SCPd de opiorfina em dose sub efetiva (2,5nmol) poderia facilitar o efeito panicolítico obtido com a administração diária (durante 21 dias) de doses sub efetivas da fluoxetina (5 mg/Kg) por via i.p. Para isso, os seguintes grupos experimentais (n=10/por grupo) foram formados: veículo + veículo, veículo + fluoxetina (5 mg/kg, ip), opiorfina (2,5nmol) + veículo e opiorfina (2,5nmol) + fluoxetina (5 mg/kg, ip).

Cirurgia esterotáxica

A cirurgia consistiu na implantação de cânulas guia na SCPd para o teste do LTE, que era realizado 7 dias depois, no qual serviria para microinjeção de drogas. A cânula era fixada ao crânio do animal por meio de uma resina acrílica, e ocluída com um mandril de aço inoxidável de mesmo comprimento para evitar possíveis entupimentos.

Análise comportamental

Teste do LTE: é um aparato de três braços de madeira de iguais dimensões, elevados 50 cm do chão. No dia do teste, os animais tratados com as drogas específicas eram colocados no final do braço fechado, e registravam-se os tempos que levavam para deixar este braço com as quatro patas (linha de base, esquiva inibitória 1-2); após 30s desse teste, os animais eram colocados no fim do braço aberto, e o tempo que levavam para deixar esse braço com as quatro patas foi registrado por três vezes (fugas 1-3).

Teste do campo aberto (CA): foi utilizado para avaliar possíveis efeitos das drogas sobre a locomoção dos animais. 30s após o teste do LTE, os animais foram colocados individualmente no CA para percorrer livremente, e mediuse a distância percorrida em 5min com o programa de monitoramento por vídeo ANY-maze (Stoelting. Co., EUA).

Resultados e Discussão

Os dados são apresentados como média \pm EPM dos grupos experimentais e submetidos à análise de variância de medidas repetidas (RMANOVA) para avaliar ambos os dados de esquiva e fuga. Para análise estatística, fluoxetina e seu veículo são referidos como fator pré-tratamento, e opiorfina e seu veículo são referidos como sendo o fator tratamento.

ETAPA 1 - RMANOVA mostrou que houve aquisição da esquiva inibitória ($F_{(2,52)} = 32,19$; $p < 0,001$). O teste ainda mostrou que não houve efeito de pré-tratamento ($F_{(1,26)} = 2,80$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{(1,26)} = 0,53$; $p > 0,05$) nem de interação entre pré-tratamento x tratamento ($F_{(1,26)} = 2,76$; $p > 0,05$). Considerando os dados de latências de fuga colabadas (média das 3 fugas), não houve efeito na ANOVA de duas vias para os fatores pré-tratamento ($F_{(1,26)} = 0,11$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{(1,26)} = 0,41$; $p > 0,05$) nem de interação entre os fatores ($F_{(1,26)} = 0,72$; $p > 0,05$). Em relação ao teste do campo aberto, ANOVA de duas vias mostrou que a locomoção não foi afetada pelo pré-tratamento ($F_{(1,26)} = 0,27$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{(1,26)} = 0,17$; $p > 0,05$) nem pela interação entre ambos ($F_{(1,26)} = 0,41$; $p > 0,05$).

ETAPA 2 - RMANOVA indicou que todos os grupos testados adquiriram aprendizado na esquiva inibitória ($F_{(2,52)} = 32,2$; $p < 0,001$). Entretanto, não houve efeito de pré-tratamento ($F_{(1,26)} = 0,38$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{(1,26)} = 3,48$; $p > 0,05$) nem de interação entre pré-tratamento x tratamento ($F_{(1,26)} = 3,5$; $p > 0,05$). Já em relação aos dados de latência de fuga, os resultados mostraram que houve diferença relacionada ao tratamento ($F_{(2,52)} = 4,25$; $p < 0,05$). ANOVA de uma via indicou diferença na medida da fuga 1 ($F_{(3,29)} = 4,66$; $p < 0,05$). O teste post-hoc de Duncan foi realizado, e esse mostrou que a interação do pré-tratamento x tratamento originou latências de fuga significativamente maiores quando comparada os outros grupos. Quando as fugas foram colabadas, observou-se também que havia diferenças entre os grupos, por ANOVA de uma via ($F_{(3,29)} = 4,21$; $p > 0,05$). Teste post-hoc de Duncan foi aplicado, e também verificou-se que diferença estatisticamente significativa no grupo da interação pré-tratamento x tratamento. A distância percorrida pelos animais no teste do campo aberto foi submetida a ANOVA

de duas vias, a qual mostrou não haver mudança na atividade locomotora causada por pré-tratamento ($F_{(1,29)} = 0,22$; $p > 0,05$), tratamento ($F_{(1,29)} = 0,99$; $p > 0,05$) nem pela interação entre ambos ($F_{(1,29)} = 0,66$; $p > 0,05$).

Conclusões

O atual tratamento do TP utiliza antidepressivos como a fluoxetina, que possuem um tempo de latência e necessitam alcançar altas concentrações no organismo para apresentar seus efeitos panicolíticos. Os resultados obtidos indicam que a administração de opiorfina associada à fluoxetina não acelerou os efeitos panicolíticos da fluoxetina, mas que foi capaz de facilitá-los. Nesse contexto, a opiorfina abre a perspectiva de tratamento combinado, permitindo reduzir a dose necessária de fluoxetina. Este efeito possivelmente está relacionado a uma interação farmacológica entre os receptores opioides MOR e serotoninérgicos 5-HT_{1A} (RANGEL et al., 2014).

Agradecimentos

Agradecemos o apoio da UEM, CNPq e Fundação Araucária para a realização do projeto.

Referências

DEL-BEN, C. M.; GRAEFF, F. G. Panic Disorder: Is the PAG Involved? **Neural Plasticity**, v. 2009, p. 108135, 2009.

POPIK, P.; KAMYSZ, E.; KRECZKO, J.; WRÓBEL, M. Human opiorphin: the lack of physiological dependence, tolerance to antinociceptive effects and abuse liability in laboratory mice. **Behavioural brain research**, v. 213, n. 1, p. 88–93, 2010.

RANGEL, M. P.; ZANGROSSI, H.; RONCON, C. M.; GRAEFF, F. G.; AUDI, E. A. Interaction between μ -opioid and 5-HT_{1A} receptors in the regulation of panic-related defensive responses in the rat dorsal periaqueductal grey. **Journal of psychopharmacology** (Oxford, England), v. 28, n. 12, p. 1155–60, dez. 2014.