

ESTUDO DOS EFEITOS TOXICOLÓGICOS DA FENILSELENO ACETOFENONA EM CAMUNDONGOS

ANGELA MARIA CASARIL¹; DÉBORA MARTINEZ²; VANESSA RICORDI³,
 DIEGO ALVES⁴, LUCIELLI SAVEGNAGO⁵

¹Universidade Federal de Pelotas - CDTec-Biotecnologia- GPN – angela.casaril@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - DCTA - LASOL - deborammss@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas CCQFA- LASOL- vgricordi@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas- CCQFA- LASOL- dsalves@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas–CDTec Biotecnologia-GPN - lucielisavegnago@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O processo que envolve a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos vem crescendo notadamente nestes últimos anos. O problema fundamental neste processo de descoberta de novos fármacos é a elevada taxa de reprovação nos ensaios clínicos, devido à baixa eficácia e alta toxicidade. Para evitar este problema faz-se necessário uma pesquisa mais aprofundada na fase pré-clínica destes compostos, promissores fármacos, incluindo tanto avaliações farmacológicas (de estudo da farmacocinética e farmacodinâmica) quanto avaliações toxicológicas (COLOMBO e PERRETO et al., 2008).

Sendo assim, nesta intensa busca por novos fármacos que possam tratar essas patologias, podemos destacar os compostos orgânicos de selênio, os quais apresentam diversas propriedades farmacológicas, provavelmente relacionada ao seu potencial antioxidante (NOGUEIRA E ROCHA, 2011; SAVEGNAGO et al., 2013). Por outro lado, a história dos compostos orgânicos de selênio, tem sido marcada por um contraste entre efeitos tóxicos e farmacológicos (NOGUEIRA E ROCHA, 2011). De fato, os compostos orgânicos de selênio podem apresentar ação citotóxica, genotóxica e mutagênica (ROSA et al., 2010).

Apesar disso, o potencial de uso terapêutico dos compostos orgânicos de selênio ainda não foi suficientemente explorado e, conseqüentemente, não se pode descartar esta classe de compostos como promissores agentes farmacêuticos (NOGUEIRA E ROCHA, 2011). Sendo assim, devido às inúmeras propriedades farmacológicas descritas para os compostos orgânicos de selênio um estudo de perfil farmacológico e toxicológico desses compostos torna-se relevante no intuito de se estabelecer a eficácia e segurança quanto ao seu uso.

Nesse contexto, se enquadra o composto fenilselênio acetofenona (PSAP, Figura 1) como um composto orgânico de selênio com atividade mimética à enzima antioxidante glutationa peroxidase (COTGREAVE et al. 1992). HU et al. (1995) descreveram a fenilselênio acetofenona (PSAP), inibe a formação de tumores induzidos por desregulação da comunicação intercelular GAP juncional entre células do epitélio hepático.

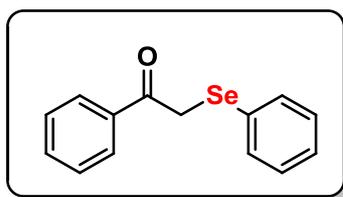


Figura 1: Estrutura da fenilselênio acetofenona.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa publicou dados de um estudo demonstrando que o composto PSAP apresenta ação antioxidante e antidepressiva (GERZSON et al., 2012).

Assim, baseando-se nas propriedades farmacológicas já apresentadas por este composto e o fato de o mesmo não ter apresentado efeitos tóxicos em tratamento agudo nos modelos experimentais analisados, faz-se necessário um estudo mais aprofundado a respeito efeito toxicológico desse composto. Nesse sentido, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o possível efeito tóxico da administração do PSAP em camundongos durante um tratamento crônico e agudo, investigando parâmetros bioquímicos como o ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), marcadores de dano hepático e renal (alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, ureia, creatinina) e pelo ensaio cometa.

2. METODOLOGIA

2.1 Síntese do PSAP

O PSAP sintetizado conforme VICTORIA et al.(2009) e foi dissolvido em óleo de canola para a administrado pela via oral.

2.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss macho adultos (25-30g) e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 7585).

2.3 Tratamento agudo

Os camundongos foram tratados com o PSAP (1, 5, 10, 50 e 200 m/kg pela via oral) ou com metilmetanosulfonato (MMS; 200 mg/kg pela via intraperitoneal; usado como controle positivo por ser um agente alquilante de bases nitrogenadas), e 24 horas depois foram eutanasiados por punção cardíaca para coleta do sangue periférico A fim de avaliar o possível efeito genotóxico do PSAP nesse tratamento, realizou-se o ensaio cometa (SINGH et al., 1988) em leucócitos. O ensaio cometa, tem sido amplamente utilizado para avaliar danos no DNA, uma vez que apresenta boa sensibilidade e simplicidade, e relativo baixo custo (CEMELI et al., 2009).

2.4 Tratamento crônico

Os animais receberam o composto (1, 10, 50 e 100 mg/kg) administrado pela via oral durante 30 dias sendo que 4 horas antes da eutanásia, um grupo de animais recebeu pela via intraperitoneal o MMS (200mg/kg).

O sangue dos camundongos (leucócitos) foi utilizado para o ensaio cometa. O plasma foi utilizado para determinação da atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), que são marcadores de dano hepático e determinação dos níveis de ureia e creatinina, que são marcadores de dano renal (através do Kit Comercial LABTEST). O cérebro, o fígado e o rim foram removidos para realização do ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)(DRAPUR et al., 1990).

2.5. Análise estatística

Os dados são representados por média \pm desvio padrão, sendo n=6 para todos os ensaios. Os dados foram analisados de acordo com ANOVA one-way seguido por Newman-Keuls.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como representado na tabela 1 (A), o tratamento agudo com com MMS (200 mg/kg) aumentou o índice de dano ($235,32 \pm 42,45\%$) quando comparado

com o grupo controle ($5,50 \pm 2,51\%$). Nota-se que as doses do PSAP testadas nesse tratamento (1, 5, 10, 50, 200 mg/kg) não induziram danos genotóxicos aos camundongos, uma vez que os resultados estão semelhantes ao grupo controle.

No tratamento crônico (tabela 1B), o controle positivo MMS aumentou o índice de dano ($327,7 \pm 81,52\%$) quando comparado ao controle. Pode-se observar que as diferentes doses do PSAP testadas no tratamento crônico (1, 10, 50, 200 mg/kg) também não induziram efeitos tóxicos ao DNA dos camundongos.

Tabela 1. Efeito do tratamento agudo (A) e crônico (B) com PSAP no ensaio cometa em leucócitos de camundongos.

A		B	
Dose (mg/kg)	Índice de Dano	Dose (mg/kg)	Índice de Dano
Controle	$5,50 \pm 2,51$	Controle	$9,16 \pm 16,41$
MMS	$235,30 \pm 42,45^{***}$	MMS	$327,70 \pm 81,52^{***}$
1	$4,25 \pm 1,70$	1	$0,60 \pm 0,54$
5	$3,75 \pm 1,50$	10	$0,11 \pm 0,48$
10	$4,00 \pm 1,41$	50	$0,50 \pm 0,54$
50	$5,50 \pm 5,06$	200	$0,66 \pm 0,81$
200	$1,50 \pm 1,91$		

Valores são expressos como índice de dano. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão. MMS: metilmetanosulfonato. *** $p < 0,001$.

A administração do PSAP nas quatro doses diferentes não alterou os parâmetros abaixo demonstrados, sugerindo uma relativa segurança no uso desse composto (Tabela 2).

Table 2. Efeito do tratamento crônico com PSAP nos níveis de ureia e creatinina, e atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) no plasma de camundongos.

Dose (mg/kg)	Uréia	Creatinina	AST	ALT
Controle	$38,27 \pm 11,36$	$0,259 \pm 0,04$	$42,50 \pm 24,23$	$41,67 \pm 23,54$
1	$38,25 \pm 15,12$	$0,297 \pm 0,07$	$81,10 \pm 11,29$	$31,60 \pm 8,10$
10	$39,59 \pm 8,10$	$0,284 \pm 0,03$	$36,83 \pm 19,60$	$48,42 \pm 35,29$
50	$35,57 \pm 3,98$	$0,211 \pm 0,08$	$44,92 \pm 29,54$	$41,00 \pm 22,90$
200	$42,55 \pm 7,89$	$0,228 \pm 0,09$	$53,00 \pm 26,06$	$49,17 \pm 29,39$

Valores de ureia e creatinina são expressos em mg/dL. Valores de AST e ALT são expressos em U/ml. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão.

Como pode ser observado na tabela 3, o tratamento dos animais com o composto nas doses testadas (1, 10, 50, 200 mg/kg) não alteraram os níveis de TBARS nos tecidos quando comparadas ao grupo controle.

Tabela 3. Efeito do tratamento crônico com PSAP nos níveis das Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) no fígado, rim e cérebro de camundongos.

Tecidos	Dose (mg/kg)				
	Controle	1	10	50	200
Fígado	297,00 ± 114,20	284,70 ± 144,00	393,90 ± 196,80	620,40 ± 363,40	449,90 ± 343,10
Rim	573,20 ± 174,30	554,60 ± 133,40	455,60 ± 104,60	589,70 ± 216,20	499,40 ± 136,40
Cérebro	183,70 ± 79,89	229,90 ± 38,25	192,80 ± 94,36	172,00 ± 93,03	172,08 ± 56,70

Valores são expressos em nmol Malondialdeídos/g tecido. Os dados são expressos como média ± desvio padrão.

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi possível aumentar os conhecimentos a respeito da toxicidade do composto fenilselênio acetofenona, evidenciando a ausência de efeito tóxico nas condições estudadas. Com esses resultados promissores é interessante investigar de maneira mais aprofundada a toxicologia do composto, seja através de outros ensaios de toxicidade, ou dos possíveis mecanismos de reparo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CEMELI, E., BAUMGARTER, A., ANDERSON, D. Antioxidants and the comet assay. **Mutation Research**, v.681, p.51-67, 2009.
- COLOMBO, M; PERRETO, I. Chemistry strategies in early drug discovery: an overview of recent trends. **Drug Discovery Today**, v.13, p.15-16, 2008.
- COTGREAVE, I.A., MOLDEUS, P., BRATTSAND, R., HALLBERG, A., ANDERSSON, C.M., ENGMAN, L. α -(Phenylselenenyl)acetophenone derivatives with glutathione peroxidase-like activity: A comparison with ebselen. **Biochemical Pharmacology**, v.43, p.793-802, 1992.
- DRAPUR, H.H., HODLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods of Enzymology**, v.186, p.421-431, 1990.
- GERZSON, M. F. B., VICTORIA, F. N., RADATZ, C. R., GOMES, M. G., BOEIRA, S. P., JACOB, R. G. ALVES, D., JESSE, C. R., SAVEGNAGO, L. In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of α -(phenylselenenyl) acetophenone in mice, **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.102, p.21-29, 2012.
- NOGUEIRA, C. W., ROCHA, J. B. T. Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds. **Archives of Toxicology**, v.85, p.1313-1359, 2011.
- ROSA, R.M., GUECHEVA, T.N., OLIVEIRA, I.M., BRAGA, A.L., HENRIQUES, J.A.P. Genetic toxicity of three symmetrical diselenides in yeast. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.21, p.2119-2124, 2010.
- SAVEGNAGO, L., VIEIRA, A. I., SEUS, N., GOLDANI, B. S., CASTRO, M., LENARDÃO, E.J., ALVES, D. Synthesis and Antioxidant Properties of Novel Quinoline-Chalcogenium Compounds. **Tetrahedron Letters**, v. 54, p.40-44, 2013.
- SINGH, N.P., MCCOY, M.T., TICE, R.R., SCHEIDER, E.L.A. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**, v.175, p.184-191, 1988.