



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

GEISSY ISRAELA DE MOURA CRUZ FEITOSA

**ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA TELOCINobufagina EM DORES AGUDAS
E CRÔNICA NEUROPÁTICA**

FORTALEZA - CEARÁ

2019

GEISSY ISRAELA DE MOURA CRUZ FEITOSA

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA TELOCINOBUFAGINA EM DORES AGUDAS
E CRÔNICA NEUROPÁTICA

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Ciências Fisiológicas. Área de concentração: Fisiologia da Dor.

Orientador: Prof. Dr. Krishnamurti de Morais Carvalho

FORTALEZA-CEARÁ

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Feitosa, Geissy Israela de Moura Cruz .

Atividade antinociceptiva da telocinobufagina em dores agudas e crônica neuropática [recurso eletrônico] / Geissy Israela de Moura Cruz Feitosa. - 2019.

1 CD-ROM: il.; 4 ¼ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 98 folhas, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Instituto Superior de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Fortaleza, 2019.

Área de concentração: Fisiologia da Dor.

Orientação: Prof. Ph.D. Krishnamurti de Moraes Carvalho.

1. Telocinobufagina. 2. Dor aguda. 3. Dor neuropática. 4. Antinocicepção. I. Título.

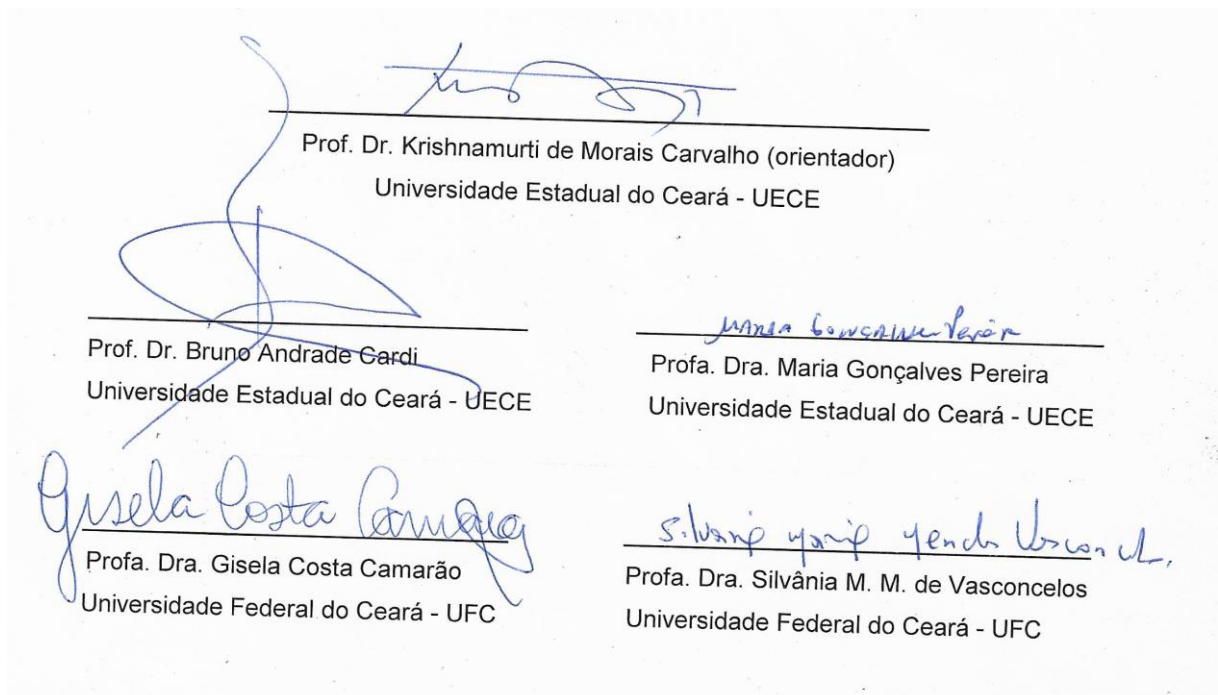
GEISSY ISRAELA DE MOURA CRUZ FEITOSA

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA TELOCINOBUFAGINA EM DORES AGUDAS
E CRÔNICA NEUROPÁTICA

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Instituto Superior de Ciências Biomédicas da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Ciências Fisiológicas. Área de concentração: Fisiologia da Dor.

Aprovada em: 27 de junho de 2019.

BANCA EXAMINADORA



Às minhas filhas, Bianca e Isabela;
À minha mãe,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sabe de todas as coisas e tem feito a Sua vontade, que é boa, perfeita e agradável, me permitindo concluir mais essa etapa, sempre cuidando de todas as áreas da minha vida.

Ao meu orientador, professor Krishnamurti de Moraes Carvalho, pela compreensão nos momentos difíceis, pela paciência em meio aos percalços; por toda a ajuda e orientação tanto na parte experimental como na escrita desse trabalho. Por ter me aceitado no laboratório há onze anos e ter me dado a oportunidade de ao longo desse tempo adquirir conhecimentos não apenas acadêmicos, mas também de vida. Serei eternamente grata.

Ao professor Bruno Andrade Cardi por todo incentivo e conselhos, sempre estando disponível a ajudar. Suas contribuições foram muito valiosas para a construção deste trabalho. Admiro-o como professor, pesquisador e ser humano.

Às professoras membras da banca: professora Gisela Costa Camarão que mais uma vez está presente em um momento tão importante; professora Silvânia Maria Mendes de Vasconcelos, que veio somar e enriquecer o presente trabalho; professora Maria Gonçalves Pereira, que por estar à frente da coordenação me ajudou muito nesse último ano. Obrigada por prontamente terem aceitado fazer parte da banca de defesa dessa tese, trazendo sugestões e correções, ajudando a aprimorar esse trabalho desde a qualificação do projeto.

Às minhas filhas, Bianca e Isabela, meus dois tesouros aqui na Terra, que me ensinam muito mais do que imaginam e me tornam a cada dia uma pessoa melhor.

Ao Ítalo, por estar comigo desde o início da minha jornada acadêmica, por dividir comigo todos os momentos, de luta e de vitória.

À minha mãe, por ser meu porto seguro, meu exemplo de força e superação, meu incentivo.

Ao meu irmão, por não medir esforços em me ajudar sempre e em tudo que eu preciso.

Aos colegas de laboratório, Vinícius, Rafael, Edvaldo, Marla, Amanda, Lucas e Zarife. Obrigada pela companhia e pela ajuda de vocês.

À coordenação do curso, tanto através da gestão da professora Lucília como através da gestão da professora Maria.

Aos professores, que contribuíram para a minha formação em Fisiologia, aprendi muito com todos. Em especial, às professoras Crystianne Calado Lima e Alana de Freitas Pires que tanto me ajudaram durante o Estágio à Docência.

À Ecila e Lindalva, por estarem sempre à disposição seja para entrega de documentos ou informações sobre notas, disciplinas e atividades da pós-graduação.

Aos colegas do curso de pós-graduação, que em muitos momentos me ajudaram a seguir em frente.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio financeiro durante boa parte da minha vida acadêmica: iniciação científica, mestrado e doutorado.

“Não to mandei eu? Esforça-te e tem bom ânimo, não temas, nem te espantes; porque o Senhor teu Deus é contigo, por onde quer que andares”.

(Josué 1:9)

RESUMO

Atualmente para o tratamento de dores agudas de intensidade moderada a severa são utilizados medicamentos associados a opioides, o que ocasiona diversos efeitos colaterais; para o tratamento da dor neuropática são utilizados como medicamentos de primeira linha os antidepressivos e anticonvulsivantes que nem sempre trazem resultados satisfatórios. Venenos de animais estão sendo estudados na tentativa de desenvolver novos fármacos uma vez que são ricos em substâncias biologicamente ativas. Já foi demonstrado que as secreções tóxicas de algumas espécies da família Bufonidae apresentam ações terapêuticas, incluindo analgésicas. Assim, essa tese teve por objetivo avaliar a atividade antinociceptiva da telocinobufagina (TCB), um esteroide do grupo dos bufadienolídeos, em dores agudas e crônica neuropática experimentais, bem como investigar a participação do sistema opioide. Para obtenção da TCB, o veneno bruto do anfíbio *Rhinella jimi* foi fracionado por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) utilizando coluna preparativa C18 de fase reversa. O esteroide foi diluído em solução de DMSO e administrado via intraperitoneal nas doses de 0,125; 0,25; 0,5 e 1 mg/kg e diluído em solução de labrasol + transcutol para administração via oral (v.o.) nas doses de 1,25; 2,5, 5 e 10 mg/Kg para o estudo de dores agudas e nas doses de 5, 10 e 20 mg/Kg para o estudo de dor neuropática. A atividade antinociceptiva da TCB foi avaliada usando os seguintes modelos experimentais de dor: testes de contorção abdominal induzida por ácido acético, formalina, retirada da cauda e placa quente, para dores agudas; testes de von Frey e retirada da pata, para dor neuropática. A dose mais elevada de TCB reduziu mais de 90 % o número de contorção e o tempo de lambida da pata nos testes de contorção abdominal e formalina, respectivamente, bem como aumentou 200 % o tempo de início de reação nos testes de retirada da cauda e placa quente. A TCB reverteu de maneira dose-dependente a alodinia do grupo controle no teste de von Frey e a hiperalgesia no teste de imersão da pata. A naloxona não reverteu o efeito antinociceptivo de TCB em nenhum dos testes realizados, sugerindo que a TCB não atua no sistema opioide. Portanto, a TCB apresentou atividade antinociceptiva tanto centrais como periféricas, além de importante ação anti-inflamatória em dores agudas e reverteu o quadro de alodinia e hiperalgesia em dor neuropática podendo vir a ser uma possível alternativa farmacológica para o tratamento dessas dores.

Palavras-chave: Telocinobufagina. Dor aguda. Dor neuropática. Antinocicepção.

ABSTRACT

Currently, drugs, associated to opioids, are used for moderate to severe-intensity acute pain, causing several side effects. Antidepressants and anticonvulsants are used as first line drugs for neuropathic pain treatment, but not always bringing satisfactory results. Because they are rich in biologically active substances, animal poisons are studied in attempt to develop new drugs. It has been shown that the toxic secretions of the *Bufo* family present therapeutic actions, including analgesics. So, this work aimed to evaluate the anti-nociceptive activity of Telocinobufagin (TCB), a steroid from the Bufadienolides group, in acute and chronic neuropathic pain, as well as to verify if this effect could involve the opioid system participation. To obtain TCB, crude amphibian venom *Rhinella jimi* was fractionated by high performance-liquid chromatography (HPLC) using reverse phase C18 preparative column. The steroid was diluted in DMSO solution and administered intraperitoneally at doses of 0.125; 0.25; 0.5 and 1 mg / kg and diluted in lavasol + transcutol solution for oral administration (o. a.) at doses of 1.25; 2.5, 5 and 10 mg / kg for acute pain and 5, 10 e 20 mg/Kg for neuropathic pain. TCB anti-nociceptive activity was evaluated using the following experimental pain models: acetic acid-induced-abdominal writhing test, formalin, tail withdrawal and hot plate for acute pain; von Frey tests and paw flick, for neuropathic pain. The higher dose of TCB reduced by more than 90% the number of writhing and paw licking time in abdominal writhing and formalin tests, respectively, as well as increased the reaction start time in the tail withdrawal and hot plate tests by 200%. TCB dose-dependently reversed control group's allodynia in the von Frey test and hyperalgesia in the paw flick test. Naloxone did not reverse the anti-nociceptive effect of TCB in any of the tests performed, suggesting that TCB does not act on the opioid system. Therefore, TCB showed both central and peripheral anti-nociceptive activity, as well as an important anti-inflammatory action in acute pain, and reversed allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain, which may be a possible pharmacological alternative for the treatment of these pains.

Keywords: Telocinobufagin. Acute pain. Neuropathic pain. Anti-nociception.