

**KAROLINNE SOUTO DE FIGUEIREDO**

**Avaliação do Efeito Analgésico da Sibutramina em Modelos Animais de Dor**

**JUAZEIRO DO NORTE-CE**

**2009**

**KAROLINNE SOUTO DE FIGUEIREDO**

**Avaliação do Efeito Analgésico da Sibutramina em Modelos Animais de Dor**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte-CE, requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina.

Orientador: Francisco Hélder Cavalcante Félix.

Co-orientador: Giovany Michely Pinto da Cruz

**JUAZEIRO DO NORTE-CE**

**2009**

**KAROLINNE SOUTO DE FIGUEIREDO**

**Avaliação do Efeito Analgésico da Sibutramina em Modelos Animais de Dor.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte-CE, direcionada a neurociências, requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina.

**BANCA EXAMINADORA**

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Prof. Ms. Francisco Hélder Cavalcante Félix

Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte-CE

Orientador

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Prof. Giovany Michely Pinto da Cruz

Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte-CE-FMJ

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Prof.

Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte-CE-FMJ

**JUAZEIRO DO NORTE-CE, DE DE 200**

Aos meus pais e irmãos, pelo incentivo diário, para concretização da minha formação.

**AGRADECIMENTOS**

Aos professores Dr. Francisco Hélder Cavalcante Félix, Giovany Michely Pinto da Cruz e Dra. Glauce Socorro Barros Viana, que com esmero, dedicação e paciência orientaram este trabalho. A estes o meu mais sincero e carinhoso agradecimento. Em especial, ao amigo Dr. Hélder, que além de me instruir sempre demonstrou muita confiança em sua aluna e me ensinou o que é um trabalho em equipe.

À funcionária Xênia, que por diversas vezes me auxiliou quando os dias de pesquisa se tornavam demasiadamente longos e solitários, e que por outras tantas me instruiu no trato com os animais, diluições e equipamentos.

À amiga, futura médica, Maria Luísa de Azevedo Oliveira Sales, que fez parte e dedicou-se à pesquisa.

Aos animais que passaram pelas minhas mãos e doaram suas vidas, não só para que eu realizasse este trabalho, mas também em prol da ciência.

“Sedare dolorum opus divinum est”

Hipócrates (460 – 377 a.C)

**RESUMO**

**Palavras-chaves:**

**ABSTRACT**

**Keywords:**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

5-HT Serotonina

5-HIAA Ácido 5-hidroxiindolacético

FMJ Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte

Min. Minutos (unidade de tempo)

NRM Núcleo magno da rafe

pCPA p-clorofenilalanina

PAG substância cinzenta periaquedutal

**LISTA DE SÍMBOLOS**

ºC graus Celsius

g/Kg Grama/quilograma (unidade de massa)

mg/Kg Miligrama/quilograma (unidade de massa)

% por cento

μL Microgramas (unidade de massa)

mg Miligramas (unidade de massa)

g Gramas (unidade de massa)

cm Centímetros

mm Milímetros

W Watts

g Grama (unidade de massa)

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO**.........................................................................................................13

**1.1Dor**.........................................................................................................................13

1.1.2Dor nociceptiva...................................................................................................14

1.1.3Dor neuropática..................................................................................................14

**1.2Sistema Serotoninérgico Central de modulação da dor**..................................15

**1.3Propriedades farmacológicas da sibutramina**..................................................16

**2 OBJETIVOS**............................................................................................................17

**2.1 Objetivo geral**......................................................................................................17

**2.2 Objetivos específicos**.........................................................................................17

**3 METODOLOGIA**......................................................................................................17

**3.1 Drogas e reagentes**.............................................................................................17

**3.2 Animais**................................................................................................................17

**3.3 Procedimentos experimentais**...........................................................................18

3.3.1 Teste Hargreaves..............................................................................................18

**3.4 Análise estatística**...............................................................................................18

**4 RESULTADOS**........................................................................................................19

**5 DISCUSSÃO**............................................................................................................19

**6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**....................................................................................19

**7 CRONOGRAMA**......................................................................................................19

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**.........................................................................20

**GLOSSÁRIO**..............................................................................................................XX

**APÊNDICES**..............................................................................................................XX

**ANEXOS**....................................................................................................................XX

**1 INTRODUÇÃO**

* 1. **Dor**

O comitê de taxonomia da Association International for the Study of Pain (IASP) define a dor como “uma experiência sensorial e emocional desagradável, que é decorrente e descrita em termos de lesões teciduais” (CARVALHO, 1999). Tal conceito abrange a dor inflamatória como também a dor neurogênica e a dor neuropática (LAPA, 2008).

A capacidade que as pessoas e os animais possuem de receber informações sobre as diferentes partes do corpo é a somestesia, uma modalidade sensitiva constituída por quatro submodalidades principais: o tato, a propriocepção, a termossensibilidade e a dor. O sistema somestésico é divido em um subsistema epicrítico e outro protopático. A dor é incluída no subsistema protopático como uma submodalidade. As vias da dor envolvem receptores situados em todos os tecidos do corpo, com exceção do tecido nervoso. (LENT, 2004)

A dor é uma experiência subjetiva e multidimensional constituída por vários componentes: sensorial (e.g., intensidade, duração, localização), afetivo (e.g., emocional, motivacional) e cognitivo (e.g., medo, ansiedade). Na maioria dos casos, a sensação de dor é produzida ou por estímulos nocivos suficientemente intensos para provocar dano tecidual real ou potencial, ou por lesão do nervo. Em adição a experiência subjetiva da dor, o estímulo nocivo pode evocar uma série de comportamentos os quais têm a função de proteger os tecidos ilesos (ou seja, retirada reflexa, fuga, imobilização da parte lesada, ou ainda evitar o contato com estímulos nocivos semelhantes). No entanto, a dor não é simplesmente correlacionada com o grau de nocicepção sentida seguida da ativação das vias neuronais sensoriais. Contudo, a percepção da dor pode ser influenciada por vários fatores diferentes, os quais, cada um, pode ser um determinante maior da dor. (CARRUTHERS, 2000)

Os termos mais freqüentemente utilizados para descrever dor usam o critério temporal: dor aguda e dor crônica. (CARRUTHERS, 2000) A dor aguda tem duração relativamente curta, de minutos a algumas semanas, e decorre de lesões teciduais, processos inflamatórios ou moléstias. (CARVALHO, 1999) A dor crônica persiste durante um mês além do curso normal de uma doença aguda, ou persiste mais do que uma duração razoável para curar uma lesão, ou é associada a um processo patológico crônico, ou recorre em intervalos de meses a anos. Talvez uma classificação mais útil da dor que está sendo mais amplamente utilizada pelos especialistas em dor é a que classifica a dor pela fisiopatologia subjacente, ou seja, nociceptiva ou neurogênica. (CARRUTHERS, 2000)

**1.1.2 Dor nociceptiva**

É suscitada através da estimulação direta de nociceptores e é transportada para o SNC pelas fibras Aδ e C. A estimulação experimental das fibras Aδ produz uma dor aguda e altamente localizada, de duração relativamente curta. A estimulação das fibras C produz uma sensação dolorosa de caráter surdo, em queimação e dolorida, que persiste por muito tempo depois de o estímulo ser retirado. (KINGSLEY, 2001)

Este tipo de dor quase sempre desencadeia uma atitude de proteção, como mecanismo que serve como um alerta de que a exposição contínua ao corpo pode desencadear um dano. Também chamada de fisiológica, tem ativação rápida e duração limitada, e representa o que comumente a maioria dos profissionais se referem a dor aguda. O grau da dor nociceptiva pode variar numa escala de moderada a severa, e ainda pode ser monofásica ou recorrente. (CARRUTHERS, 2000)

**1.1.3 Dor neuropática**

A nocicepção crônica está associada com dano tecidual, inflamação ou neuropatologias, onde a sensação nociceptiva não possui utilidade biológica. Neste tipo de nocicepção, muitos processos ocorrem em associação com os eventos básicos da nocicepção, que alteram a relação entre o estímulo e a resposta nociceptiva, e afetam a modulação do estado nociceptivo resultante. Alguns desses eventos ocorrem durante o desenvolvimento e a consolidação do estado nociceptivo, levando a mudanças desde a excitabilidade das fibras aferentes primárias, até alterações drásticas no fenótipo celular dessas fibras, como por exemplo, a expressão de novas moléculas, incluindo os canais iônicos, os neurotransmissores, as enzimas e alguns receptores. Além disso, alterações centrais crônicas na neuroquímica da sinalização da nocicepção produzem hipersensibilidade, aumentando e prolongando níveis relativamente pequenos de impulsos aferentes, e permitindo que estímulos inócuos passem a ser percebidos como nociceptivos (como a alodinia, por exemplo). Mudanças estruturais, secundárias à lesão nervosa periférica, incluem a perda de interneurônios espinhais, rearranjos não apropriados de processos nervosos aferentes na medula espinhal e a proliferação de fibras simpáticas no gânglio sensorial. Essas mudanças não são uniformes e dependem do tipo de lesão tecidual, do envolvimento de tipos específicos de fibras e da participação do sistema imune (DOGRUL, 2003).

**1.2 Sistema Serotoninérgico Central na modulação da dor**

Há muitos anos foi reconhecido o envolvimento do neurotransmissor serotonina (5-HT) no sistema descendente de modulação da dor. A importância do sistema serotoninérgico central na modulação da dor é reforçada por algumas observações experimentais, como por exemplo, a p-clorofenilalanina (pCPA), a qual bloqueia a síntese da 5-HT, suprime a analgesia induzida por estimulação, bem como lesões do núcleo da rafe, seja por meios eletrolíticos ou por aplicação da 5,6-dihidroxitriptamina, uma neurotoxina serotoninérgica. O sistema inibitório descendente da dor é composto por várias conexões anatômicas centrais, iniciando pela substância cinzenta periaquedutal, a qual recebe aferências de núcleos diencefálicos (núcleo parafascicular talâmico, núcleo prémamilar dorsal, zona incerta, núcleo dorsomedial e ventromedial do hipotálamo, núcleo arqueado) e do tronco encefálico. A PAG (substância cinzenta periaquedutal) envia projeções para o núcleo paragigantocelular e núcleo magno da rafe (NRM). Por sua vez, O NRM envia fibras serotoninérgicas que se projetam através do funículo dorsolateral para o corno dorsal da medula nas lâmina I, II e IV, inibindo seletivamente neurônios nociceptivos, onde se incluem os interneurônios e os neurônios dos tratos ascendentes. A estimulação elétrica da NRM aumenta a liberação de 5-HT no corno dorsal da medula, tal efeito é bloqueado pelo pré-tratamento com pCPA. Da mesma forma o estímulo nóxico aumenta a síntese do ácido 5-hidroxiindolacético (5- HIAA), um metabólito da 5-HT. Algumas drogas de amplo uso terapêutico exercem seu efeito analgésico através da via serotoninérgica. Recentemente foi proposto que a ação analgésica do acetominofeno, da fenazona e do ácido acetilsalicílico se deve em parte à ativação da via inibitória serotoninérgica descendente. Outras drogas utilizadas, principalmente no tratamento de algumas modalidades de dor crônica, têm como mecanismo de ação a inibição ou bloqueio da recaptação da serotonina e da noradrenalina. Os antidepressivos são os principais representantes deste grupo de fármacos e alguns deles possuem uma ação mais seletiva sobre a recaptação da serotonina (inibidores seletivos da recaptação da serotonina), evidenciando-se entre eles a clomipramina, fluoxetina, sertralina, paroxetina e citalopram. Contudo, a utilização clínica destes antidepressivos mais modernos no tratamento das síndromes dolorosas crônicas ainda necessita de estudos mais inferentes. A utilização da sertralina e paroxetina tem apresentado resultados promissores no tratamento de cefaléias crônicas, principalmente nas cefaléias acompanhadas por depressão (CARVALHO, 1998).

* 1. **Propriedades farmacológicas da sibutramina**

A sibutramina tem como mecanismo farmacológico, a inibição da recaptação de 5-HT, norepinefrina e dopamina. O fármaco é convertido em dois metabólitos ativos, os quais provavelmente são responsáveis pelos seus efeitos terapêuticos. É utilizada como supressor do apetite no tratamento da obesidade. Ainda não foi elucidado se os efeitos da sibutramina em pacientes obesos são resultados da atividade de um único neurotransmissor (BRUNTON, 2006).

Tal medicamento inicialmente se destacou pelo potencial fármaco antidepressivo. O antagonismo da sibutramina sobre os receptores de serotonina 5HT2A e 2C, assim como sobre os receptores adrenérgicos beta-1 a nível central tem propriedades de supressão do apetite, principalmente sobre o desejo de carboidratos, como também na prolongação da saciedade pós ingesta. Atualmente é demonstrado que a sibutramina impede a diminuição da taxa metabólica basal que normalmente se apresenta como resposta compensatória orgânica à perda de peso. Embora seja dotada de um mecanismo de ação central a sibutramina não possui potência aditiva já que não afeta as vias dopaminérgicas de recompensa, como pode ser observado na anfetamina, mazindol, dietilpropiona e fentamina (MENDIVIL, 2005). 

**2 OBJETIVOS**

**2.1 Geral:**

**Avaliar o efeito analgésico da sibutramina em modelos de animais de dor e hiperalgesia.**

**2.2 Específicos:**

Investigar possíveis mecanismos de ação dos efeitos observados.

**3 MATERIAIS E MÉTODOS**

**3.1 Drogas e reagentes:**

**O presente trabalho utilizará drogas tais como: carragenina, obtida do laboratório SIGMA, USA; cloridrato monoidratado de sibutramina, medicamento genérico, 10 mg, comprimidos, obtido da Medley S/A Indústria Farmacêutica, Brasil.**

**3.2 Animais:**

**Serão utilizados 50 ratos da raça Wistar, do sexo feminino, com peso médio de 200 g, os quais permanecerão acondicionados no interior de caixas** forradas com serragem e receberam água e ração *ad libitum***, na temperatura de 25ºC, divididos em 10 grupos cada um com 5 animais.** Cada animal foi identificado com marcas em sua cauda. Serão pré-tratados com sibutramina nas doses de 0,1, 0,5, 1,5 e 5 mg/kg, para cada dose será utilizado 10 animais, totalizando 40 animais tratados. Um grupo de 10 animais será utilizado para compor os grupos controles (negativo e positivo), onde o positivo (n=10) receberá apenas o estímulo inflamatório sem tratamento oral e o negativo (n=10), não receberão o estímulo inflamatório nem o tratamento oral.

**3.3 Procedimentos experimentais:**

**3.3.1 Teste Hargreaves**

Será utilizado o modelo de hiperalgesia térmica de Hargreaves no qual os animais são mantidos em jejum durante 4 horas, administrando-se o tratamento por via oral após esse período, e inoculando-se o estímulo inflamatório subcutâneo (carragenina 1mg) na pata traseira direita, ao mesmo tempo. Após 2 horas serão submetidos ao estímulo térmico, medindo-se o tempo de reação em segundos. Para obter resposta nociceptiva ao estímulo térmico, os ratos são colocados em câmaras de acrílico transparentes (18 cm x 29 cm x 12,5 cm) com piso transparente permitindo aclimatação por 5 min. ao novo ambiente antes do teste. Após o período de aclimatação, o feixe de calor radiante é direcionado à pata alvo através do piso transparente. Concomitantemente, um interruptor aciona a fonte de calor radiante e inicia a contagem em um cronômetro. A fonte de calor radiante consiste em uma lâmpada de alta intensidade (Osram 58-8007, 8V, 50W) localizada há 40 mm abaixo do piso transparente , no interior de um cone móvel, e sua luz é projetada através de uma abertura no topo com dimensões de 5 mm x 10 mm. Uma célula fotoelétrica localizada na abertura do cone é destinada a detectar a luz refletida na pata do animal e desliga a luz e o cronômetro no momento em que o movimento da pata interrompe a luz refletida (HARGREAVES, 1987).

3.3.2 Teste Rota-Rod

O aparelho é composto por uma barra de 2,5 cm de diâmetro, subdividida em compartimentos de igual largura, colocada a 25 cm de altura e girando a 12 r.p.m. Os animais foram selecionados 24 h antes do teste, em três sessões de 2 min de duração, antes da administração da solução em estudo, sendo escolhidos aqueles que permaneceram na barra giratória por esse período. Os selecionados receberam o tratamento no dia do teste, e após 2 h, foram colocados no “rota-rod” por 1 min. Foi registrado o número de quedas durante o período, não limitando-se o número de reconduções à barra (LAPA, 2008). Tal teste tem a finalidade de avaliar se os tratamentos promovem incoordenação motora nos animais, por relaxamento muscular e/ou sedação, permitindo uma interpretação mais precisa dos resultados obtidos nos testes de antinocicepção (DUNHAM & MIYA, 1957).

**4 RESULTADOS**



sibutramina inibe de forma dose-dependente a hiperalgesia térmica induzida pela injeção de carragenina (0,1ml de 1mg/ml) na região plantar da pata direita de ratas Wistar – teste plantar (Hargreaves et al); p < 0,001 (sibutramina 5mg/kg e controle sem tratamento nem estímulo hiperalgésico); p < 0,001 (sibutramina 1,5mg/kg e controle sem tratamento nem estímulo hiperalgésico) e p < 0,05 (sibutramina 0,5mg/kg) em relação ao controle positivo com carragenina (sem tratamento); n = 20 no controle, n = 10 nos demais grupos; resultado em segundos (tempo de reação ao estímulo térmico).



Curva dose-resposta obtida a partir da regressão sigmoidal dos resultados da sibutramina no modelo de Hargreaves (mostrados em forma de tempo de reação em segundos), mostrando curva (linha cheia) e intervalo de confiança 95% (linhas tracejadas). EC50 = 0,72 mg/kg (0,16 – 3,22); levando em consideração apenas as médias, não os desvios, R2 = 0,94 e os dados ajustam-se significantemente ao modelo (p = 1,0 para desvio do modelo).

**5 DISCUSSÃO**

**6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

**7 CRONOGRAMA**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Atividades** | 2009 | | | | | |  |
| Maio | Jun | Jul | Agos | Set | Out | Nov |
| **Concluir o projeto** |  |  |  |  |  |  |  |
| **Submeter ao CEP** |  |  |  |  |  |  |  |
| **Aprofundamento da Revisão Bibliográfica** |  |  |  |  |  |  |  |
| **Coleta dos dados (após aprovação pelo CEP)** |  |  |  |  |  |  |  |
| **Análise dos dados** |  |  |  |  |  |  |  |
| **Elaboração do Relatório** |  |  |  |  |  |  |  |
| **Defesa da Monografia** |  |  |  |  |  |  |  |
| **Encaminhamento do Relatório Final ao CEP** |  |  |  |  |  |  |  |

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BRUNTON, Laurence L.; LAZO, John S.; PARKER, Keith L.; **Agonistas e antagonistas dos receptores de 5-hidroxitriptamina (serotonina).** Goodman & Gilman´s the pharmacological basis of therapeutics. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, p.272, 2006.

CARRUTHERS, S. George et al. **Melmon and Morrelli´s Clinical Pharmacology**. 4. ed. Singapura: McGraw-Hill Book Co, 2000.

CARVALHO, Maria M. M. M. J. **Dor – um estudo multidisciplinar.** 2. ed. São Paulo: Summus Editorial Ltda, 1999.

CARVALHO, Wilson A.; LEMÔNICA, Lino. **Mecanismos centrais de transmissão e de modulação da dor. Atualização terapêutica\*.** Rev Bras Anestesiol 1998; vol 48: nº 3: 221 – 241.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. **A note on simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice.** J Am Pharm46: 208-209, 1957.

DOGRUL, A. et al. **Reversal of experimental neuropathic pain by T-type calcium**

**channel blockers**. Pain, v. 105, p. 159-168, 2003.

HARGREAVES, K. et al. **A new sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia.** Pain**,** v. 32, p. 77-88, 1988.

KINGSLEY, Roberto E. **Manual de Neurociência.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001.

LAPA, Antonio J. et al. **Métodos de Avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Medicinais.** 5. ed. São Paulo: [s.n], 2007.

LENT, Roberto. **Cem Bilhões de Neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**. ed. rev. e atual. São Paulo: Atheneu, 2004.

MENDIVIL A., Carlos Olimpo. **Orlistat y Sibutramina en el manejo del síndrome metabólico.** Acta Med Colomb, Bogotá, v.30, n.3, p.169-170, jul/set, 2005.