

AValiação NOCICEPTIVA EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM *Trypanosoma evansi*¹

Daniel Sérgio Cipriani², Amanda Leite Bastos-Pereira³, Ana Paula Povaluk⁴, Gabriela Kaiser Borges⁴

¹ Vinculado ao Projeto “Avaliação nociceptiva em camundongos experimentalmente infectados com *Trypanosoma evansi*”

² Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária - CAV - bolsista PROBIC/UDESC

³ Orientadora, Departamento de Medicina Veterinária - CAV - amanda.pereira@udesc.br

⁴ Mestranda do Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular - CAV

As tripanossomoses são doenças endêmicas em diversas regiões brasileiras, causadas por parasitas do gênero *Trypanosoma*, sendo mais especificamente a “surra” ou “mal das cadeiras” causada pela espécie *Trypanosoma evansi*. Essa enfermidade infecta mais frequentemente equinos, porém existem relatos nos quais afirma-se que pode parasitar outras espécies. Causa apatia, edema e anemia nos hospedeiros.

Sabe-se que a melhora clínica dos animais infectados é multifatorial, pois a resposta de seu organismo frente ao agente etiológico depende não só da supressão da replicação parasitária, mas também do controle dos sinais clínicos, para gerar melhor qualidade de vida durante o período de infecção. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da inflamação desencadeada pela infecção por *T. evansi* em modelos de dor, em camundongos.

A proposta foi submetida ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UDESC) e aprovada sob o protocolo nº 3044060919. Mediante tal assentimento, foram utilizados camundongos Swiss adultos, machos ou fêmeas, mantidos em condições de bem-estar e ambiente controlados. Os testes realizados envolveram acompanhamento da estimativa do número de parasitas por esfregaço sanguíneo, mensuração de dor pela *Mouse Grimace Scale* (MGS), modelos de hiperalgesia mecânica de pata e dor visceral, ambos mensurados por von Frey, hiperalgesia térmica por placa quente e avaliação da exploração comportamental em campo aberto. Precedendo estes, os animais foram aclimatados e ambientado, em jejum hídrico e alimentar de 1 hora. Após o término dos experimentos, os animais foram eutanasiados através de anestesia inalatória profunda e deslocamento cervical para confirmação da morte.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, seguidos de análise de variância (ANOVA de uma ou duas vias) e teste de Bonferroni para comparações múltiplas. A significância estatística adotada considerou o valor de $p < 0,05$.

Os animais foram inoculados intraperitonealmente com 0,1 mL de sangue de um camundongo contendo 10^4 tripanossomas, sendo que os animais não infectados receberam o mesmo volume de veículo (PBS + Glicose).

Com o intuito de verificar o papel das prostaglandinas no mecanismo de dor induzida pela enfermidade, o anti-inflamatório celecoxibe (10 mg/kg) foi escolhido como droga de eleição para os testes de von Frey e campo aberto. Para o teste de placa quente, utilizou-se o opioide morfina (10 mg/kg), pois trata-se de um modelo relacionado a dor de origem central. Celecoxibe foi dissolvido em tampão Tris-HCl 0,2 M (pH 8,2) e administrado via oral (v.o.) por sonda de gavagem, a morfina foi dissolvida em água ultrapura e administrada por via subcutânea (s.c.), enquanto as soluções veículo foram consideradas os respectivos solventes, administrados num volume fixo de 10 mL/kg. Os fármacos e doses utilizados foram escolhidos baseados em estudos

anteriores. As medições iniciaram no dia em que os animais foram infectados e estenderam-se, com intervalos de 24 horas, por um período de 5 dias. Para realização do teste de campo aberto, os camundongos utilizados foram os mesmos do teste de von Frey, no último dia de análise. A mensuração de dor pela MGS e quantificação de parasitas foram carreadas concomitantemente aos demais testes.

Os grupos pertencentes ao delineamento experimental foram: A, infectado tratado; B, infectado não tratado; C, não infectado tratado; e D, não infectado não tratado. O primeiro dos testes foi o von Frey de pata, no qual os animais foram mantidos em recintos acrílicos sobre uma malha de 5 mm², desde 30 minutos previamente às medições, as quais a pata posterior direita de cada camundongo era estimulada com uma ponteira rígida e a força exercida registrada em gramas (g). Os resultados obtidos demonstraram diminuição no limiar de dor no grupo infectado tratado com veículo, sendo este estatisticamente diferente dos grupos não infectados a partir do dia 2, e diferente do grupo infectado tratado com celecoxibe a partir do dia 3. O grupo infectado tratado com o AINE não apresentou diferença quanto aos grupos não infectados durante todo o período de experimento, sugerindo que a hiperalgesia desencadeada pela infecção tem caráter inflamatório / infeccioso e depende da atuação de prostaglandinas produzidas a partir da estimulação de COX-2.

O segundo teste, de dor visceral, apresenta resultados semelhantes ao primeiro. Nesse, a ambientação segue o padrão do primeiro teste, porém a ponteira foi redirecionada para a região abdominal cranial. Os resultados obtidos demonstraram também diminuição no limiar de dor no grupo infectado não tratado (veículo), sendo este estatisticamente diferente de todos os demais grupos a partir do dia 3.

No teste de campo aberto não foi encontrada diferença estatística entre grupos quanto aos parâmetros locomotores, acusando que a infecção por *T. evansi* não apresenta ação sobre o sistema locomotor dos animais, porém obteve-se diferença quanto a latência para com que o animal sai do quadrado central no qual inicia o experimento, o que sugere aumento do comportamento ansioso nos animais infectados. Na avaliação de dor pela MGS, obteve-se diferença estatística entre o grupo infectado tratado e não tratado a partir do dia 3, além de que não foi encontrada diferença entre o grupo infectado tratado e os grupos não infectados, sugerindo que a dor é fator presente na doença, porém sendo o celecoxibe, na dose utilizada, droga capaz de prevenir a expressão da mesma.

O terceiro teste avaliou a hiperalgesia térmica dos animais por meio da placa quente. Neste, não houve diferença entre os grupos não infectado e infectado não tratados, sendo que apenas os grupos tratados apresentaram diferença estatística. Este resultado demonstra que a infecção por *T. evansi* não é capaz de diminuir o limiar de dor nos animais a nível de sistema nervoso central.

Visto os resultados obtidos da avaliação dos modelos de inflamação, nocicepção e hiperalgesia, sugere-se que a dor presente no decorrer da infecção por *Trypanosoma evansi* é majoritariamente de caráter inflamatório, tendo como possível mediador a enzima ciclooxigenase-2 (COX-2). Destaca-se também que pouco está relacionada à ação do parasita sobre o sistema nervoso central, no que se diz respeito a hiperalgesia. Dessa forma, a dor faz parte da sintomatologia dessa enfermidade, sugerindo-se o uso de um analgésico que atue no controle dos sinais clínicos decorrentes dessa inflamação.

Palavras-chave: Nocicepção. Anti-inflamatório. *Trypanosoma evansi*.