

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE UMA GALACTANA SULFATADA EXTRAÍDA DE *Gracilaria caudata* EM CAMUNDONGOS

Lucas Antonio Duarte Nicolau (bolsista, ICV), Renan Oliveira Silva (colaborador, UFPI – CMRV), Geice Maria Pereira dos Santos (colaborador, UFPI – CMRV), Jand-Venes Rolim Medeiros (Orientador, Depto de Biologia – UFPI – CMRV)

INTRODUÇÃO

Atualmente, a inflamação é reconhecida como um processo bioquímico e celular que acontece no tecido conjuntivo vascularizado, envolvendo o plasma, as células circulantes, os vasos e os constituintes celulares e extracelulares desse tecido. Em resumo, a inflamação é, na maioria das vezes, uma resposta protetora cuja função é livrar o organismo da causa inicial da lesão celular e das conseqüências dessa lesão (COLLINS, 1999; ROTE, 1998).

As algas compõem um vasto grupo de organismos autotróficos que podem ser encontrados em ambientes aquáticos e terrestres úmidos, respondendo assim a inúmeras variáveis ambientais (CAVATI & FERNANDEZ 2008). A síntese de compostos, conhecidos como polissacarídeos sulfatados (PS), tem despertado grande interesse na biotecnologia de produtos naturais, tendo em vista as suas propriedades farmacológicas (FONSECA et al., 2008; LAURIENZO, et al., 2010).

Dessa forma, derivados de produtos naturais apresentam-se como uma fonte atraente de novas drogas e muitos têm mostrado resultados promissores para a clínica, seja como fonte no desenvolvimento de novas ferramentas farmacológicas ou como um produto adjuvante no tratamento de patologias que envolvem o processo inflamatório (ROZA & FREITAS et al., 2007).

Assim, o objetivo geral deste projeto foi avaliar o efeito antiinflamatório de um polissacarídeo sulfatado extraído de *Gracilaria caudata* em camundongos.

METODOLOGIA

Camundongos Swiss machos foram inicialmente tratados, por via intraperitoneal, com o polissacarídeo (PLS) testado nas doses de 2,5, 5 e 10 mg/kg ou Indometacina 10 mg/kg. Após 60 minutos foi administrado Carragenina (0.03%) 300 µg/pata diluídas em 50 µl de solução salina (0,9%) por via subplantar. O grupo controle recebeu apenas solução salina (*i.p.*). Nos tempos determinados (1, 2, 3 e 4 horas após o tratamento com o agente flogístico) foi feita a medição da pata posterior direita em pletismômetro (UGO BASILE) para verificar o efeito anti-edematogênico do PLS.

Logo após a aferição da quarta hora de todos os animais, os animais foram sacrificados e uma amostra do tecido da pata que recebeu o estímulo flogístico para a avaliação indireta da migração de neutrófilos pelo ensaio de mieloperoxidase (MPO).

Esse experimento foi realizado utilizando o tecido celular subcutâneo proveniente da pata, por animal, de cada grupo. Essas amostras foram estocadas em eppendorfs de 1,5ml, para posterior dosagem da atividade de MPO no tecido. A MPO é uma enzima encontrada predominantemente em grânulos azurófilos de leucócitos polimorfonucleares e tem sido usado como índice quantitativo para avaliar a inflamação em vários tecidos. Para tanto, as amostras foram suspensas em tampão de hexadeciltrimetilamônio (pH 6,0; 50mg de tecido por mL de tampão) e depois trituradas com um homogeneizador de tecidos. Posteriormente foram centrifugadas a 4500 rpm, durante 12 min a uma

temperatura de 4°C; o sobrenadante foi, então, colhido. Os níveis teciduais da atividade de MPO foram determinados por meio da técnica descrita por Bradley & Cols (1982), utilizando peróxido de hidrogênio 0,0005 % como substrato para MPO. Uma unidade de MPO foi definida como a quantidade capaz de converter 1 μmol de peróxido de hidrogênio a água em 1 min a 22°C. No ensaio, à medida que o peróxido de hidrogênio for degradado ocorrerá a produção de ânion superóxido, responsável pela conversão de o-dianisidina em composto de cor marrom. A variação da densidade óptica da mistura das amostras com a solução de o-dianisidina em função do tempo de reação foi medida por espectrofotômetro à 450nm. Os resultados foram expressos como unidade de MPO/ mg de tecido.

Para se avaliar a migração de neutrófilos, foram injetados por via intraperitoneal, por cavidade de cada animal, 300 μg de carragenina diluídos em 1 mL de salina estéril. Após quatro horas, a cavidade peritoneal foi lavada com 10 mL da solução de PBS heparinizado, massageada e incisada com bisturi para coleta do líquido com pipeta Pasteur. As contagens totais e diferenciais foram feitas de acordo com o método descrito por Souza & Ferreira (1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais tratados apenas com solução salina não apresentaram alterações relevantes no volume da pata. Entretanto os animais tratados apenas com carragenina apresentaram aumento significativo de volume da pata. Os resultados mostram ainda que a administração do polissacarídeo reduziu, de forma dose dependente, o edema de pata induzido por carragenina, em todas as doses testadas (2,5; 5 e 10 mg/kg do polissacarídeo, i.p), sendo que a dose de 10 mg/kg foi a que apresentou o maior efeito inibitório do edema de pata (85,45% de redução).

Na avaliação da atividade da MPO, a injeção subplantar de carragenina aumentou significativamente a atividade dessa enzima em animais controle (Salina + Carragenina). Observou-se ainda que o grupo tratado com o PLS comprova que tiveram o acúmulo de neutrófilos reduzidos quando comparados com o grupo tratado com carragenina. Mostra ainda que a melhor dose foi a de 10 mg/kg (9,38 U/mg de tecido), sendo melhor até do que a Indometacina (9,07 U/mg de tecido).

Em relação à migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal induzida por carragenina, observou-se que a carragenina induziu uma significativa migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal. Entretanto, utilizou-se a melhor dose do PLS já determinado pelo edema de pata, que é a dose de 10 mg/kg e portanto o grupo do PLS selecionado recebeu esta dose e notou-se que a migração diminuiu tanto na contagem total (4975 neutrófilos·10³/ml) quanto na diferencial (1918,75 neutrófilos·10³/ml) das células envolvidas na inflamação, onde quando comparado com o grupo que recebeu Indometacina teve um resultado que apresentou significância (p<0,05)

CONCLUSÃO

- ✓ Este estudo sugere que o polissacarídeo sulfatado extraído de *Gracilaria caudata* exerce efeito antiinflamatório no edema de pata induzido por carragenina.

- ✓ O polissacarídeo reduziu a migração de neutrófilos pela dosagem de mieloperoxidase, a qual sugere tal afirmação por ser um marcador indireto da presença de neutrófilos.
- ✓ Os dados sugerem ainda que migração de neutrófilos foi diminuída pela contagem total e diferencial através do protocolo experimental da peritonite induzida por carragenina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAVATI, B.; FERNANDEZ, V. O., Algas perifíticas em dois ambientes do baixo rio Doce (lagoa Juparanã e rio Pequeno – Linhagens, Estado do Espírito Santo, Brasil: variação espacial e temporal. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.30, n.4, p.439-448, 2008.
- COLLINS, T. Acute and chronic inflammation. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T (Eds.). *Robbins pathologic basis of disease*. 6th ed. Philadelphia: Saunders, 1999. cap. 3, p. 50-88.
- FONSECA, R. J. C.; OLIVEIRA, S. N. M. C. G.; MELO, F. R.; PEREIRA, M. G.; BENEVIDES, N. M. B.; MOURÃO, P. A. S., Slight differences in sulfatation of algal galactans account for differences in their anticoagulant and venous antithrombotic activities. **Thrombosis and Haemostasis**, v.99, n.3, p.539-545, 2008.
- LAURIENZO, et al. Marine Polysaccharides in Pharmaceutical Applications: An Overview. **Marine Drugs**, v. 8, p. 2435-2465, 2010
- ROSAS, E.; FREITAS, J. C. Anti-inflammatory activity of the apolar extract from the seaweed *Galaxaura marginata* (RHODOPHYTA, NEMALIALES). **J. Venom. Anim. Toxins. incl. Trop. Dis.** V. 13, n. 2, p. 544-548, 2007.
- ROTE, N.S. Inflammation. In: McCANCE, K.L.; HUETHER, S.E. **Pathophysiology: the biologic basis for disease in adults and children**. Cap. 7, p. 205-236. 3th ed. St. Louis: Mosby, 1998.

PALAVRAS-CHAVE: *inflamação, edema de pata, mieloperoxidase, polissacarídeo.*