

EFEITO ANTIEDEMATOGÊNICO DO ALFA FELANDRENO EM MODELOS ANIMAIS

Benedito Pereira de Sousa Neto (bolsista PIBIC/UFPI)⁽¹⁾ (Colaborador, UFPI-P)I^l (Colaborador, UFPI-PI); Damião Pergentino de Sousa⁽²⁾ (Colaborador, UFSE-SE); Rita de Cassia Meneses Oliveira⁽¹⁾ (Colaborador, UFPI-PI); Francisco de Assis Oliveira⁽¹⁾ (Orientador, UFPI-PI). ⁽²⁾Departamento de Química, Universidade Federal de Sergipe, Aracajú; ⁽¹⁾Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Teresina.

Introdução

A inflamação é uma resposta à infecção, antígenos ou lesão tecidual, e tem por função erradicar os agentes microbianos ou irritantes e potencializar o reparo tecidual (FLOWER; PERRETTI, 2005). A inflamação pode ser classificada de acordo com o tempo de manifestação em aguda e crônica (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). Dentre as principais terapias empregadas nos processos inflamatórios, estão os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e os corticosteroides, que são amplamente usados para tratar uma variedade de doenças inflamatórias e imunológicas. O uso mais comum de corticosteroides está no tratamento da asma e outras doenças alérgicas. Não obstante, AINEs e glicocorticóides apresentam efeitos indesejáveis, para tratamento a longo prazo, ambos aumentam o risco de aparecimento de efeitos colaterais importantes, como por exemplo osteoporose, úlcera péptica, náuseas, e diminuem os processos de cicatrização de lesões teciduais (GILROY et al., 2004). Desta forma, as plantas medicinais ricas em óleos essenciais representam uma excelente opção para o tratamento de processos inflamatórios e possuem reduzido efeito colateral, sendo por isso a base farmacológica de muitos medicamentos prescritos em todo mundo (NELSON-HARRISON et al., 2002). Os óleos essenciais são misturas voláteis e complexas obtidas de plantas medicinais são caracterizados pelo odor pungente e produzidos por plantas aromáticas. Muitos óleos essenciais possuem propriedades farmacológicas como analgésica, espasmolítica e anti-inflamatória. O alfa felandreno é um monoterpene presente na composição de óleos essenciais usado na medicina popular como agentes anti-inflamatório.

OBJETIVO: Investigar a atividade anti-edematogênica do alfa felandreno nos diferentes modelos de inflamação em ratos e camundongos.

MÉTODOS: camundongos Swiss (25-30g) ambos os sexos (n=06/grupo). No edema de orelha (EO) por TPA, os animais foram tratados topicamente com 20µL de TPA (2µg/20µL de acetona). A orelha esquerda recebeu acetona (20µL). Após 20 minutos os animais foram tratados com salina 0,9%, alfa felandreno (0,4mg/orelha) e indometacina (0,5mg/orelha) na orelha direita. A orelha esquerda recebeu apenas salina (20µL). 1 h após, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, suas orelhas cortadas (6mm), pesadas (mg). No EO por AA, os animais foram tratados topicamente (20µL) salina 0,9%, alfa felandreno (0,4mg/orelha) e indometacina (2mg/orelha). A orelha esquerda recebeu apenas salina. Após 60 min foi aplicado topicamente 20 µL de ácido araquidônico (0,1mg/µL). A orelha esquerda recebeu apenas acetona. Após 1h, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, suas orelhas cortadas (6mm), pesadas (mg). O edema de pata por carragenina foi induzido na pata traseira direita de ratos Wistar, machos, 150-180g, divididos em (n=06/grupo), aos quais administrou-se injeção subplantar de 100µL de carragenina 1% em salina 0,9%. Os animais foram tratados, v.o, com veículo, alfa felandreno 50, 100 e 200mg/kg ou

indometacina (10mg/kg), após 1h, receberam 100µL carragenina a 1%. A medida da pata foi registrada por micrômetro da 1ª a 6ªh, após a administração da carragenina. Na desgranulação de mastócitos usou-se Ratos Wistar, 150-180g, em jejum de sólidos de 18h, (n=08/grupo). Cada grupo foi tratado via oral com salina 0,9% (0,1mL/10g), veículo, alfa felandreno 50, 100 e 200 mg/kg, cetotifeno 2mg/kg. Após 2h, os animais foram anestesiados e eutanasiados, os mesentérios retirados, colocados em tubos de ensaio contendo solução de Ringer (10mL). Nos grupos tratados com veículo, alfa felandreno e cetotifeno a desgranulação dos mastócitos foi induzida pela incubação dos mesentérios com 100µL do composto 48/80 (C48/80, concentração final de 0,4 µg/mL). No grupo que recebeu a salina, foi adicionado 100µL de água destilada (a este grupo não foi adicionado C48/80). Após 30 minutos de incubação, os mesentérios foram montados em lâminas de vidro e corados com azul de toluidina 0,1% para a observação dos mastócitos desgranulados em microscopia óptica. A contagem dos mastócitos íntegros e desgranulados foram realizadas em cinco campos de cada lâmina o resultado expresso com percentagem de mastócitos desgranulados. No modelo de bolsa de ar (MILLER et al 2001) com algumas adaptações. Para formação da bolsa de ar cada animal foi previamente anestesiado com cetamina e xilazina 0,15mL. Dia 0, os animais receberam injeção subcutânea de 20 mL de ar estéril no dorso. No dia 3, nova injeção de 10 mL de ar estéril na bolsa pré-formada. No dia 6, os animais foram separados em (n=06/grupo) e tratados v.o. com dexametasona (0,5mg/kg), alfa felandreno (50, 100 e 200 mg/kg) e um grupo que recebeu apenas salina. Uma hora após os tratamentos, todos os grupos receberam 100µL de carragenina 1% em salina na cavidade (bolsa). 4h após o estímulo inflamatório os animais foram anestesiados, eutanasiados e a bolsa foi lavada com 10 mL de PBS heparinizado (10UI/mL) . Com o auxílio de uma pipeta o lavado foi coletado, através de uma incisão na bolsa, e o número de células totais no lavado foi determinado através de contagem com o auxílio de uma câmara de Neubauer sob microscopia óptica. Uma porção do lavado foi diluído em líquido de Türk (1:20) e submetido à contagem. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo CEEA sob o parecer N° 010/2011 (CEEA/UFPI).

RESULTADOS E DISCUSSÃO. No modelo de EO por TPA, o alfa felandreno (0,4mg/orelha) inibiu ($p<0,001$) o edema em 61%. Da mesma forma, a indometacina (0,5mg/orelha), reduziu o edema em 56%. No EO induzido por ácido araquidônico, o alfa felandreno (0,4mg/orelha) e a indometacina (2mg/orelha) foram capazes de diminuir significativamente ($p<0,001$) o edema em 35% e 58,54%, respectivamente. Outros monoterpenos como alfa terpineol e linalol apresentam atividades anti-inflamatórias em modelo de edema de orelha por TPA. No edema de pata por carragenina os animais pré-tratados com alfa felandreno (100mg/kg) demonstraram redução significativa do edema da 1ª a 6ª hora de observação ($p<0,05$), com redução de 27,32%, 23,41%, 17,92%, 19,84% e 23%, respectivamente. No entanto, na 3ª hora não foi observado resultado significativo. A dose de 200 mg/kg também foi capaz de reduzir ($p<0,05$), em todas as horas de observação (1ª, 2ª, 3ª, 4ª, 5ª e 6ª) o edema (31,59%, 30,96%, 18,57%, 24,21%, 29,35% e 31,72%, respectivamente). No entanto, os animais tratados com a dose de 50mg/kg não apresentaram diminuição dos edemas. A indometacina exibiu efeito antiedematogênico significativo ($p<0,05$), em todas as horas de análise com redução em 60,58%, 56,29%, 46,59%, 47,20%, 31,43% e 41,28% respectivamente. Monoterpenos como o linalol e geranial também apresentaram resultados semelhantes em edema por carragenina. No modelo de bolsa de ar, os animais tratados (v.o.) apenas com salina apresentaram migração de leucócitos totais na ordem de 90,21%. O tratamento dos animais, por via oral, com alfa felandreno (50, 100 e 200

mg/kg) inibiu de modo significativo ($p < 0,001$) em 29,9% 53,3% 30,4%, respectivamente, o número de leucócitos que migraram para a cavidade da bolsa. O grupo que recebeu dexametasona (0,5mg/kg v.o) também demonstram redução significativa ($p < 0,001$) em 9,8%. Estes dados sugerem que o alfa felandreno possui propriedade anti-inflamatória. A dexametasona atua em processos inflamatórios aumentando a síntese de várias proteínas anti-inflamatórias entre elas a lipocortina-1 que possui efeito inibitório na fosfolipase A_2 inibindo a produção de mediadores inflamatórios lipídicos, tais como leucotrienos, prostaglandinas e fator ativador de plaquetas. Na desgranulação de mastócitos (*ex vivo*), o monoterpene alfa felandreno (50, 100 e 200mg/kg) foi capaz de reduzir significativamente ($p < 0,001$) a desgranulação induzida pelo C48/80 em 61,94% 26,68% 25,23% respectivamente quando comparado ao grupo controle veículo (87%). Cetotifeno (2mg/kg), também foi capaz de diminuir o percentual de desgranulação em 22,83% com ($p < 0,001$). O grupo tratado com salina exibiu um percentual de 12,6% de mastócitos desgranulados. Neste modelo, o alfa felandreno apresentou efeito tão significativo quanto ao cetotifeno. Os resultados obtidos sobre o modelo de desgranulação mastocitária mostram um possível efeito deste monoterpene na estabilização das membranas de mastócitos, com isso, inibindo a sua desgranulação e conseqüentemente a liberação de histamina. A hidroxidiidrocarvona um outro monoterpene também tem ação anti-inflamatório.

CONCLUSÃO: o monoterpene alfa felandreno demonstrou ação anti-inflamatória em todos os modelos de inflamação testados. Os dados obtidos com este projeto contribuem com a utilização popular de plantas medicinais ricas neste monoterpene para tratamento de processos inflamatórios além da possibilidade de desenvolvimento de um fitofármaco com ação anti-inflamatória.

Palavras-chave. Monoterpene. alfa felandreno. anti-inflamatório.

Apoio financeiro: CAPES/UFPI

REFERENCIAS:

FLOWER, R. J.; PERRETTI, M. Controlling inflammation: a fat chance. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 201 (5), p. 671 – 674, 2005.

KANYEREZI, B.R., Ethnobotanical research into the 21st century. In: Iwu, M.M., Wootton, J.C. (Eds.), **Ethnomedicine and Drug Discovery**. p. 283–307, 2002.

NORTON, S. Quantitative determination of mast cell fragmentation by compound 48/80. **British Journal of Pharmacology**. v. 9, p. 494-497, 1954.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, p. 385–405, 2004.

GILROY, D. W., LAWRENCE, T., PERRETTI, M., ROSSI, A. G. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. **Nat. Reviews. Drug Discovery**., v. 3, p. 401-416, 2004.