

# **EFEITO PROTETOR DE UMA FRAÇÃO POLISSACARÍDICA EXTRAÍDA DE *Hypnea musciformis* NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS.**

*Samara Rodrigues Bonfim Damasceno (bolsista, ICV), Jocélia Clemente Rodrigues (bolsista, ICV), Renan Oliveira Silva (bolsista, PIBIC), Jand-Venes Rolim Medeiros (Orientador, Depto de Biologia – UFPI – Parnaíba)*

## **INTRODUÇÃO**

O etanol é conhecido por ser um dos muitos fatores que aumentam o risco de formação de úlcera gástrica, causando dano gástrico caracterizado por perda de células epiteliais, edema mucosal e hemorragia subepitelial<sup>3</sup>. Envolvendo no processo patogênico modulação do sistema de óxido nítrico, redução do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, além de provocar stress oxidativo e depleção de antioxidantes<sup>2</sup>.

Mundialmente, as algas marinhas ocupam uma posição de importância na pesquisa de novos compostos biologicamente ativos, pois estudos com produtos naturais de algas revelam uma série de compostos com grande potencial de aplicação biotecnológica<sup>1</sup>. Assim, as algas marinhas têm se destacado como boas fontes de polissacarídeos sulfatados, os quais têm atraído atenção no campo das pesquisas por suas inúmeras propriedades farmacológicas<sup>7</sup>.

Dessa forma, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito da fração de polissacarídeos sulfatados extraída de *Hypnea musciformis* (PLS) na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.

## **METODOLOGIA**

Camundongos Swiss machos inicialmente foram tratados, por gavagem, com o polissacarídeo nas doses de 3, 10, 30 e 90 mg/kg. Após 30 minutos foi administrado etanol 50% (0.5 ml/25g) também por gavagem. Houve dois grupos controle, onde um recebeu apenas solução salina e o outro grupo recebeu salina seguida da administração de etanol 50%. Uma hora depois, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e logo em seguida os estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura para o estudo dos efeitos do polissacarídeo. Os estômagos foram então estirados e fotografados com câmera digital e as lesões foram medidas utilizando um programa de planimetria computadorizado (software image J<sup>®</sup>). Partes das amostras de cada estômago foram retiradas e colocadas imediatamente em formol a 10% e após 24 horas foram transferidas para álcool 70% para realização das análises microscópicas. Outras partes do tecido gástrico foram retiradas e armazenadas em isopor com gelo para posteriores dosagens bioquímicas de glutatona (GSH) e malondialdeído (MDA).

O método de Sedlak, J. & Lindsay, R.H. (1968)<sup>5</sup> foi utilizado para análise de glutatona nas amostras. Para determinação dos níveis gástricos de glutatona, uma amostra de 50 a 100 mg da mucosa gástrica dos animais foi homogeneizada em 1 ml de EDTA 0.02 M. Alíquotas de 400µL do homogeneizado foram misturadas a 320µL de água destilada e a 80µL de ácido tricloroacético (TCA) 50%. Os tubos foram centrifugados por 15 minutos a 3.000 rpm a 4° C. A um total de 400µL do sobrenadante foi adicionado 800µL de tampão Tris 0,4 M (pH 8.9) e 20µL de DTNB (reagente de Ellman) 0,01 M. A mistura foi então agitada por 3 minutos e a absorbância foi lida a 412 nm em

espectrofotômetro. As concentrações de grupos sulfidrílicos não-protéicos foram expressas em  $\mu\text{g}$  de NP-SH/g de tecido.

Os níveis de malondialdeído na mucosa gástrica foram determinados pelo método de Mihara e Uchiyama (1978)<sup>4</sup>. Para os níveis de malondialdeído, fragmentos de 300mg da mucosa gástrica foram homogeneizados com KCl gelado 1.15% para preparar 10% de homogenato. Em seguida 0.5ml desse homogenato foi pipetado e processados com uma solução aquosa de ácido tiobarbitúrico aquoso (0.6%). Os tubos foram aquecidos por 45 minutos em um banho de água fervendo e a mistura reacional foi então resfriada em um banho de água gelada, seguida da adição de 4ml de n-butanol. Os conteúdos foram misturados por 40 segundos com um misturador "vortex", centrifugados a 1200 x g por 10 minutos e a absorbância foi mensurada em 520 e 535nm. Os resultados foram expressos em mmol/g de fragmentos umedecidos.

Para a análise da secreção gástrica foi utilizado o modelo de Shay *et al.*, (1945)<sup>6</sup>, onde foi acumulado o conteúdo gástrico durante 4 horas e avaliado em termos de volume secretado, pH e acidez total. Os camundongos foram tratados com PLS (30 mg/kg, i.p). Os grupos controle foram tratados com salina, histamina (5 mg kg<sup>-1</sup>) ou ranitidina (5 mg kg<sup>-1</sup>) também por via intraperitoneal. Transcorridas 4 horas da cirurgia, os animais foram sacrificados sob anestesia etérea profunda, os estômagos foram removidos e o conteúdo gástrico foi coletado. O volume final e o pH foram determinados após a lavagem da mucosa com 2 mL de água destilada. A acidez total do suco gástrico foi determinada através de titulação, usando fenolftaleína 2% como indicador.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais tratados com etanol 50% apresentaram graves lesões gástricas ( $72,2 \pm 20,4 \text{ mm}^2$ ) em comparação com o grupo tratado com salina que não apresentaram lesões na mucosa. Entretanto, quando os camundongos foram pré-tratados com o PLS houve uma diminuição, de forma dose-dependente, da lesão induzida por etanol, sendo o efeito máximo observado na dose de 30 mg/kg ( $3,1 \pm 0,9 \text{ mm}^2$ ), evidenciando que a fração polissacarídica extraída da alga em estudo exerceu efeito gastroprotetor.

A administração de etanol 50% promoveu redução dos níveis gástricos de GSH ( $178,6 \pm 19,8 \mu\text{g/g}$  de tecido) quando comparado com o grupo salina ( $250,9 \pm 10,9 \mu\text{g/g}$  de tecido). Entretanto, quando os animais foram pré-tratados com PLS 30mg/kg houve aumento significativo dos níveis gástricos de glutatona ( $262,8 \pm 18,5 \mu\text{g/g}$  de tecido), revertendo a diminuição causada pelo etanol.

Foi observado um aumento dos níveis de MDA nos animais tratados com etanol ( $230,1 \pm 31,65 \text{ mm}^2$ ) quando comparado ao grupo salina ( $142,8 \pm 30,56 \text{ mm}^2$ ). Contudo quando os animais foram tratados com PLS na dose de 30 mg/kg os níveis de MDA voltaram ao normal ( $129,4 \pm 11,95 \text{ mm}^2$ ), sugerindo que o PLS pode exercer ação anti-oxidativa e reduzir a peroxidação lipídica.

Na análise da secreção gástrica observou-se que após a administração do polissacarídeo na dose de 30 mg/kg em camundongos, no processo de ligadura do piloro por 4h, não ocorreu alteração no volume de suco gástrico, ph ou total de acidez quando comparado ao grupo tratado apenas com solução salina. Por outro lado, quando prétratados com histamina houve aumento do

volume ( $1009 \pm 75,3$ ) e do total de acidez ( $12 \pm 0,5$ ) quando comparado com o grupo controle (salina,  $612 \pm 12,8$  e  $5,1 \pm 0,3$ , respectivamente).

## CONCLUSÃO

- Este trabalho sugere que a fração de polissacarídeos sulfatados exerce efeito gastroprotetor contra lesão induzida por etanol em camundongos.
- O polissacarídeo reverteu a depleção de glutathiona gástrica e o aumento da peroxidação lipídica na mucosa causados pelo etanol.
- Não houve alteração da atividade secretora gástrica após o tratamento com a fração polissacarídica.

**APOIO:** CNPq.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GRESSLER, V. **Composição química e potencial biológico das algas vermelhas marinhas *Laurencia filiformis*, *Laurencia intricata*, *Plocamium brasiliense* e *Ochtodes secundiramea* da costa brasileira**. 2010. 284f. Tese (Doutorado em Toxicologia e Análises Toxicológicas)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
2. LA CASA C, VILLEGAS I, ALARCON DE LA LC, et al. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **J Ethnopharmacol**, v. 71, p. 45-53, 2000.
3. MEDEIROS J.V.R.; Gadelha G.G.; Lima S.J.; Garcia J.A.; Soares P.M.; Santos A.A.; Brito G.A.; Ribeiro R.A.; Souza M.H. Role of the NO/cGMP/KATP pathway in the protective effects of sildenafil against ethanol-induced gastric damage in rats. **Br J Pharmacol**, v. 153, p. 721-727, 2008.
4. MIHARA, M.; UCHIYAMA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Anal Biochem.**, v. 86(1), p. 271-278, 1978.
5. OLIVEIRA, F.A.; VIEIRA-JÚNIOR, G.M.; CHAVES, M.H.; ALMEIDA, F.R.C.; FLORÊNCIO, M.G.; LIMA JR, R.C.P.; SILVA, R.M.; SANTOS, F.A.; RAO, V.S.N. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. **Pharmacological Research**, v. 49, p. 105–111, 2004.
6. SHAY, M.; Kamarov, S.A.; Fels, D.; Meranze, D.; Gruenstein, H.; Siplet, H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rats. **Gastroenterology**, v. 5, p. 43–61, 1945.
7. WIJESKARA, I.; Pangestuti, R.; Kim, S.K. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. **Carbohydr. Polym**, v. 84, p. 14–21, 2011.

**PALAVRAS-CHAVE:** Polissacarídeo sulfatado. Stress oxidativo. Etanol.