

# **ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DE UM POLISSACARÍDEO SULFATADO EXTRAÍDO DA ALGA VERMELHA *Hypnea Musciformis* E SUA PARTICIPAÇÃO NA VIA DE SÍNTESE E LIBERAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO (NO)**

*Tarcisio Vieira de Brito (Orientando ICV- Iniciação Científica Voluntária/UFPI), Rafael da Silva Prudêncio (Orientando ICV- Iniciação Científica Voluntária/UFPI), André Luiz dos Reis Barbosa (Orientador, dep. de fisioterapia – CMRV/UFPI)*

## **INTRODUÇÃO**

A inflamação envolve uma sequência complexa de eventos bioquímicos estreitamente associados à patogênese de várias doenças como a artrite reumatóide, osteoartrites, espondilite anquilosante, artrite gotosa aguda, enxaqueca, etc. Antiinflamatórios não esteroides (AINE) e esteróides (SAID) são amplamente utilizados no tratamento dessas doenças (VÁZQUEZ et al, 2011). O problema principal é que essas drogas possuem vários efeitos adversos ou também são caras. No entanto, existem muitos produtos naturais que exibem propriedades antiinflamatórias e analgésicas e têm incidência relativamente baixa de efeitos colaterais (VÁZQUEZ et al, 2011). Além de terem uma interação bem elucidada nas principais vias de mediadores inflamatórios, um exemplo disso, são as algas marinhas que possuem substâncias capazes de interagirem com a via de síntese de Óxido Nítrico (NO). Muitos tipos de polissacarídeos sulfatados, que são reconhecidos como tendo o número de atividades biológicas, incluindo anticoagulante (CUMASHI A. et al, 2007) gastroprotetora, antinociceptiva (SILVA R.O. et al, 2011) e anti-inflamatória (ROCHA A. C. C. et al, 2006) o que poderia dar-lhes relevância em aplicações farmacêuticas. No entanto, apesar da riqueza de flora marinha, as atividades anti-inflamatórias dos polissacarídeos sulfatados de organismos marinhos não têm sido bem explorada.

Dado que polissacarídeos sulfatados marinhos são importantes fontes de novas substâncias químicas que podem ter atividades anti-inflamatórias e efeitos terapêuticos, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito anti-inflamatório de uma fração de polissacarídeo sulfatado (PLS) extraído da alga vermelha *Hypnea musciformis* e investigar o possível envolvimento da via sinalização do NO neste efeito.

## **METODOLOGIA**

Foram utilizados camundongos Swiss machos, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí. Todos os tratamentos e procedimentos cirúrgicos realizados estavam de acordo com o guia de cuidado em uso de animais de laboratório do National Institutes of Health (Bethesda, MD, USA) e esse projeto foi enviado para apreciação e posterior aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPI com o seguinte número de protocolo: Nº 23111.011979/11-80.

### *1- Edemas de pata induzido por carragenina ou dextran*

Para estudar o efeito da *Hypnea musciformis* na inflamação aguda, foi utilizado o modelo de edema de pata induzido por carragenina ou dextran em camundongos. A carragenina (500 µg/pata, 100µl) ou dextran (500 µg/pata, 100µl) foram administrados intraplantarmente (i.p.). Após uma hora da aplicação deste agente, foram realizados os tratamentos nos seguintes grupos de animais: G1,

controle NaCl 0,9%/i.p.; G2, permaneceu apenas com a carragenina; G3, 2,5mg/kg do polissacarídeo extraído da Hypnea; G4, 5mg/kg do polissacarídeo extraído da Hypnea; G5, 10mg/kg do polissacarídeo extraído da Hypnea e G6, Indometacina 500mg/Kg/ i. p. O volume da pata traseira direita de cada camundongo foi medido usando pletismômetro (UGO BASILI) antes da injeção do estímulo inflamatório (tempo zero). O volume da pata foi avaliado 1, 2, 3 e 4 horas após a injeção da carragenina ou 30 minutos, 1, 2, 3 e 4 horas após a injeção do dextran, usando o mesmo pletismômetro. Foram utilizados esses tempos de medição já que o pico do edema induzido por carragenina ocorre na 3ª h após a injeção desse estímulo e o do dextran entre 30 min e 1h após o estímulo. O edema foi calculado como a variação de volume, isto é, a diferença entre o volume em um determinado tempo após o estímulo e o volume da pata antes do estímulo inflamatório (tempo zero).

## *2- Dosagens de mieloperoxidase (MPO)*

Para verificação da atividade da MPO. 50-100 mg de tecido da pata traseira foi homogeneizada em tampão de HTAB, 1 ml de tampão de potássio com 0,5% (HTAB) para cada 50 mg de tecido. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 4500 rpm durante 7 minutos a 4 ° C. A atividade da MPO no sobrenadante foi dosada por medição da alteração da absorbância a 450 nm, utilizando o-dianisidina e peróxido de hidrogênio a 1%. Os resultados foram relatados em unidades de MPO/mg de tecido.

## *3- Papéis do PLS na via de liberação do óxido nítrico (no) na pata*

Camundongos foram tratados por via intraperitoneal (i.p.) com 500 µL de salina estéril ou PLS 10 mg/kg. Depois disso, os animais foram co-tratado por via subcutânea com L-Arg (500 mg/kg; 250 uL) e AG (50 mg/kg; 250 uL) ou tratadas com aminoguanidina (AG) (50 mg.kg-1, 250 ul) somente e 30 min mais tarde foi feita a administração de Cg (500 mg/pata) foi injetado na superfície plantar direita dos animais. O edema de pata foi determinado conforme descrito anteriormente.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No edema por carragenina, o PLS (10mg/kg) reduziu significativamente o edema em 93,62% e 88,46% na terceira e quarta hora respectivamente depois da aplicação da droga. O tratamento (i.p.) dos animais com PLS, 30 min antes da injeção local de dextran, reduziu significativamente o edema em 97,40% e 100% em 30 min. e 1 hora respectivamente, quando comparado ao grupo tratado apenas com dextran. Dessa forma fica claro que o PLS reduz o edema induzido por carragenina e por dextran, drogas que promovem inflamação por liberação de mediadores e por permeabilidade vascular respectivamente.

A amostra de PLS (10 mg/kg) inibiu a infiltração de neutrófilos, via redução da concentração de MPO para  $4,73 \pm 0,68$  UMPO/mg de tecido da pata, ao passo que no grupo Cg a concentração foi de  $37,39 \pm 8,23$  UMPO/mg, dessa forma o PLS inibiu a atividade da MPO em 87,34%.

Quando co-administrado com PLS, AG aumentou o volume de edema na pata (1ªh:  $0,0575 \pm 0,0014$  mL; 2ªh:  $0,0500 \pm 0,009$  mL; 3ªh:  $0,0460 \pm 0,006$  mL) em relação aos volumes no grupo tratado com PLS somente (1ªh:  $0,002 \pm 0,001$  mL; 2ªh:  $0,000 \pm 0,000$  mL; 3ªh:  $0,000 \pm 0,000$  mL). A

L-Arg quando co-administrado com PLS e AG diminuiu o volume da pata (1<sup>ª</sup>h: 0,005 ± 0,004 mL; 2<sup>ª</sup>h: 0,004 ± 0,002 mL; 3<sup>ª</sup>h: 0,0025 ± 0,002 mL) em relação aos volumes do grupo AG mais PLS. Assim fica evidente a participação do PLS na inibição da migração neutrofílica bem como o seu envolvimento na via do NO

### CONCLUSÃO

Em conclusão nossos experimentos demonstraram que o polissacarídeo sulfatado extraído da alga vermelha *Hypnea musciformis* teve uma ação antiedematogênica por reduzir os edemas de carragenina e dextran, possui atividade antimigratória para a pata por reduzir a atividade da Mieloperoxidase (MPO), enzima que mede indiretamente a migração neutrófila e tem envolvimento na inibição da via de liberação de óxido nítrico (L-Arg./NO) na pata, demonstrando uma ação que reverte a atividade migratória de neutrófilos. Contudo sugerir-se que o nosso PLS possui uma atividade anti-inflamatória.

**Apoio.** UFPI/CNPq.

### Bibliografias:

CUMASHI A.; USHAKOVA N. A.; PREOBRAZHENSKAYA M. E.; D'INCECCO A.; PICCOLI A.; TOTANI L.; TINARI N.; MOROZEVICH G. E.; BERMAN A. E.; BILAN M. I. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*.17,541-52, 2007.

FARIAS W. R. L.; VALENTE A. P.; PEREIRA M. S.; MOURÃO P. A. S. Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans. Isolation of a unique sulfated galactan from the red alga *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans from invertebrates. **Journal of Biological Chemistry**. 275, 29299-29307, 2000.

KLOAREG B.; QUATRANO R. S.; *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 26, 259—315, 1998.  
ROCHA A. C. C.; FERNANDES E. S.; QUINTÃO N. L. M.; CAMPOS M. M.; CALIXTO J. B. Relevance of tumor necrosis factor- $\alpha$  for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. **Brit J Pharmacol**. 148, 688-95, 2006.

SILVA R. O.; SANTOS G. M. P.; NICOLAU L. A. D.; LUCETTI L. T.; SANTANA A. P. M.; CHAVES L. S. C.; BARROS C. N.; FREITAS A. L. P.; SOUZA M. H. L. P.; MEDEIROS J. V. R. Sulfated-polysaccharide fraction from red algae *Gracilaria caudate* protects mice gut against ethanol-induced damage. **Mar. Drugs**. 9, 2188-200, 2011.

VÁZQUEZ A. I. F.; SÁNCHEZ C. M. D.; DELGADO N. G.; ALFONSO A. M. S.; ORTEGA Y. S.; SÁNCHEZ H. C. Anti-inflammatory and analgesic activities of red seaweed *Dichotomaria obtusata*. **Brazilian Journal of pharmaceutical Sciences**. vol. 47, n-1, 2011.

**Palavras-chaves.** inflamação, edema e óxido nítrico.