

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA DO ISOPULEGOL EM CAMUNDONGOS

Cicero Pedro da Silva Júnior¹, Andreza Guedes Barbosa Ramos², Maria Sanadia Alexandre da Silva³, Renata Torres Pessoa⁴, Lucindo José Quintans-Junior⁵, Maria Rayane Correia de Oliveira⁶, Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins⁷, Irwin Rose Alencar de Menezes⁸

Resumo

A inflamação é um mecanismo fisiológico que objetiva a proteção do organismo contra um agente invasor, combatendo infecções, auxiliando na cicatrização de feridas e reparo tecidual, quando ocorrer uma lesão no tecido inicia o processo anti-inflamatório sendo liberado citocinas e mediadores químicos pelos neutrófilos, linfócitos, macrófagos etc. Os monoterpenos se destacam pelo seu relevante potencial biológico a qual se encontra o isopulegol importante para fins terapêutico. O presente estudo teve como objetivo investigar a atividade antiedematogênica do isopulegol em camundongos por meio do ensaio de carragenina e dextrana– CEUA (Nº 120\2018-GR), os animais tiveram suas patas posteriores direita e esquerda, avaliados por pletismometria após a aplicação dos agentes flogísticos durante 1h, 2h, 3h e 4h horas, a referente pesquisa mostrou relevantes resultados a qual o isopulegol reduziu o edema de pata induzido por carragenina em toda as doses de forma significativa, no teste induzido por dextrana a dose 10mg/kg reduziu em todas as horas frente ao modelo testado, com isso o Isopulegol apresentou um possível efeito anti-inflamatório.

Palavras-chave: Inflamação. Isopulegol. Antiedematogênica

1. Introdução

A resposta inflamatória pode prejudicar os tecidos envolvidos e causar importantes disfunções orgânicas (CASTELLHEIM et al., 2009). Quando ocorre uma lesão, componentes celulares do sistema imunológico são ativados como cascata da coagulação sanguínea e vias inflamatórias levando a um processo de diferenciação, proliferação e migração de células para que a integridade e homeostase dos tecidos sejam assim recuperadas, sendo esse processo ativado por meio de mediadores inflamatórios (AARABI et al., 2007).

-
- 1 Universidade Regional do Cariri: cicero.pedro@urca.br
 - 2 Universidade Regional do Cariri: andrezaurca@gmail.com
 - 3 Universidade Regional do Cariri: sanadiaalexandre@gmail.com
 - 4 Universidade Regional do Cariri: trabalho.renata18@gmail.com
 - 5 Universidade Regional do Cariri: Lucindojr@gmail.com
 - 6 Universidade Regional do Cariri: rayaneoliveirabio@gmail.com
 - 7 Universidade Regional do Cariri: anitaoliveira24@yahoo.com.br
 - 8 Universidade Regional do Cariri: irwinalencar@yahoo.com.br

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



A inflamação ocorrer com uma resposta biológica complexa contra agentes agressivos, que podem ser agentes patógenos (químicos ou biológicos) ou até mesmo células danificadas ocasionadas por uma lesão tecidual ou uma infecção, podendo se desenvolver de forma aguda ou crônica e envolver o sistema vascular local. O início do processo inflamatório é uma resposta aguda que envolve o recrutamento e ativação de células do sistema imune inato, do sangue para os tecidos lesados, com de ação curta ocorrendo à liberação das primeiras células de defesa como os neutrófilos. Na inflamação crônica, os tipos celulares no local da reação inflamatória mudam progressivamente, caracterizando-se pela destruição, seguida de reparação do tecido lesionado, e pelo constante processo de liberação de citonas produzidos pelos macrófagos, provocar um prolongamento da resposta inflamatório (FERRERO-MILIANI et al., 2007).

Na presença do agente inflamatório, ocorre a ativação da fosfolipase A2, seguida da liberação de ácido araquidônico e mediadores inflamatórios como: citocinas, histamina, prostaglandinas e leucotrienos, mediadores esses que provocam aumento da permeabilidade vascular e conseqüente migração de leucócitos para o local da inflamação (FALCÃO et al., 2005)

Os monoterpenos se destacam como componentes primários de óleos essenciais de várias espécies vegetais e algumas atividades biológicas dessas espécies têm sido atribuídas aos monoterpenos (QUINTANS JÚNIOR et al., 2008). O isopulegol (ISO) é um monoterpeno álcool monocíclico que está presente nos óleos essenciais de diversas espécies vegetais, entre elas a espécie *Corymbia citriodora* Hook, constituindo cerca de 6,5% (ambos os isômeros) (VERNIN et al., 2004). Outra espécie vegetal que apresenta no óleo essencial, obtido a partir do pericarpo, o isopulegol como constituinte majoritário é a *Zanthoxylum schinifolium* com importante atividade apoptótica sobre células de hepatoma humano, sugerindo uma possível atividade anti-tumoral (PAIK et al., 2005). O isopulegol é também um importante condimento, com substâncias presentes em várias classes de alimentos e bebidas (LAMBE et al., 2002). Pesquisas também mostraram que o ISO apresentou efeito antioxidante e ansiolítico anticonvulsivo e atividade sedativa em camundongos (SILVA et al., 2007) e atividade gastroprotetora (SILVA et al., 2009). Diante disso, despertou-se o interesse em avaliar a atividade antiedematogênica do isopulegol.

2. Objetivo

Avaliação da atividade antiedematogênica do isopulegol por meio do modelo de edema de pata induzido por carragenina e dextrana.

3. Metodologia

3.1 – Drogas e reagentes

O isopulegol foi adquirido pela empresa americana de química, ciências da vida e biotecnologia Sigma.

3.2 - Animais

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



Para a efetivação dos testes *in vivo*, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*), albinos, cepa Swiss de ambos os sexos, com massa corpórea delimitada entre 20-30g, escolhidos randomicamente. Estes foram mantidos acondicionados em gaiolas de polipropileno e mantidos em ambiente com temperatura entre $22 \pm 23^{\circ}\text{C}$, ciclo claro/escuro de 12h e com livre acesso à água potável e ração específica para roedores (Labina, Purina®), aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Regional do Cariri - CEUA (Nº 120\2018-GR).

3.3 - Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de carragenina ou dextrana

Os animais ($n=6/\text{grupo}$), de ambos os sexos, tiveram o volume inicial (V_i) da pata posterior direita e esquerda avaliados por pletismometria. Logo em seguida, os animais foram pré-tratados, por via oral, com veículo salina 0,9% (grupo controle negativo) e isopulegol (1, 5 e 10 mg/kg). Após 1h, os animais receberam carragenina 1% (p/v) ou dextrana 1% (20 $\mu\text{l}/\text{pata}$) na pata posterior direita e veículo na pata esquerda. O volume da pata traseira direita de cada animal foi registrado após 1, 2, 3 e 4h da injeção do agente flogístico (carragenina/dextrana). A expressão dos resultados foi obtido pela diferença entre o volume final e o volume inicial da pata de cada tempo, calculados na fórmula: $V_e = V_f - V_i$, sendo: V_e = volume do edema (em mL), V_f = volume final e V_i = volume inicial (WINTER; RISLEY; NUSS, 1962).

4. Resultados

4.1 - Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina 1%

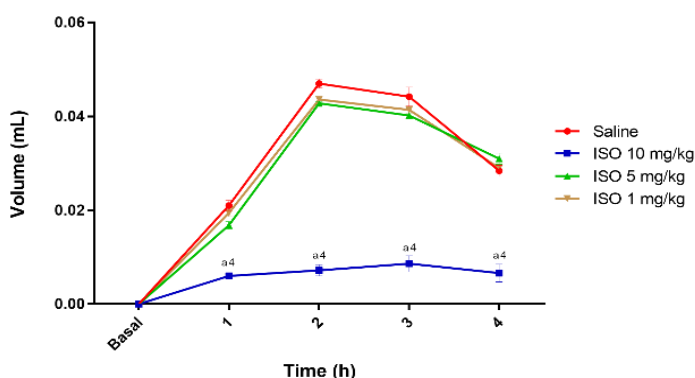


Figura 01 - Efeito do ISO (1, 5 e 10 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos até a 4ª hora. Valores representam a média \pm E.P.M. ($n=6/\text{grupo}$). Análise estatística: Two-way ANOVA seguida do Teste de Tukey's com múltiplas comparações. ($a_1p<0,05$; $a_2p<0,01$; $a_3p<0,001$; $a_4p<0,0001$ vs. salina).

A carragenina aumentou o edema de forma crescente em todos os tempos de avaliação, com o pico edematogênico em torno da 4ª hora. O tratamento via oral com o ISO reduziu significativamente o edema induzido pela carragenina nas doses de 5 e 10 mg/kg, quando comparados com o grupo que recebeu apenas solução salina 0,9%, em todas as horas de avaliação, enquanto o ISO na dose de 1 mg/kg só não apresentou inibição do edema na segunda hora de observação.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



O ISO inibiu significativamente o edema nas seguintes doses e respectivos tempos de avaliação: 10 mg/kg (T1: 60%; T2: 67,74%; T3: 86,60%; T4: 84,96%); 5 mg/kg (T1: 54%; T2: 48,39%; T3: 56,70%; T4: 63,91%); 1 mg/kg (T1: 34%; T3: 43,30%; T4: 30,83%) (Fig. 01).

4.2 - Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana 1%

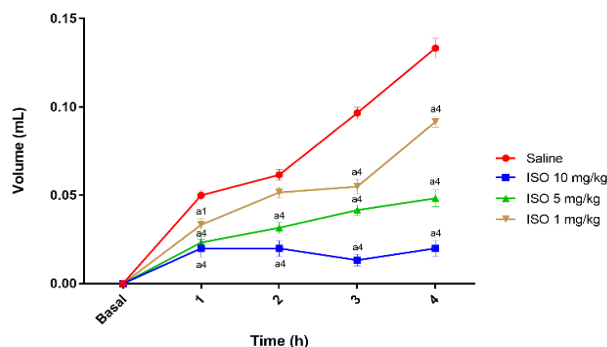


Figura 02 - Efeito do ISO (1, 5 e 10 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos até a 4ª hora. Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Análise estatística: Two-way ANOVA seguida do Teste de Tukey's com múltiplas comparações. (a1p<0,05; a2p<0,01; a3p<0,001; a4p<0,0001 vs. salina).

A injeção intraplantar de dextrana a 1% aumentou significativamente o edema, com um pico edematogênico na 2ª hora e declínio nas horas posteriores. A administração oral do ISO na dose de 10 mg/kg reduziu estatisticamente o edema, quando comparado com o grupo salina, em todas as horas de avaliação nas seguintes porcentagens: T1: 71,43%; T2: 85,11%; T3: 79%; T4: 75% (Fig. 02).

5. Conclusão

Conclui-se que o isopulegol apresentou efeito antiedematogênico de modo significativamente nos testes de edema de pata induzido por carragenina e dextrana, sendo a melhor dose de 10 mg/kg, no entanto outros ensaios deverão ser realizados para verificação do possível mecanismo envolvido.

6. Agradecimentos

CNPQ - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, FUNCAP - Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a URCA - Universidade Regional do Cariri.

7. Referências

AARABI, S.; LONGAKER, M. T.; GURTNER, G. C. Hypertrophic scar formation following burns and trauma: new approaches to treatment. PLoS Medicine, v. 4, n.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA
XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



9, p. e234, 2007. ISSN 1549-1676.

CASTELLHEIM, A. et al. Innate immune responses to danger signals in systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Scandinavian journal of immunology*, v. 69, n. 6, p. 479-491, 2009. ISSN 1365-3083.

FALCÃO, H. D. S. et al. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 15, n. 4, p. 381-391, 2005. ISSN 0102-695X.

FERRERO-MILIANI, L. et al. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clinical & Experimental Immunology*, v. 147, n. 2, p. 227-235, 2007. ISSN 1365-2249.

LAMBE, J.; CADBY, P.; GIBNEY, M. Comparison of stochastic modelling of the intakes of intentionally added flavouring substances with theoretical added maximum daily intakes (TAMDI) and maximized survey-derived daily intakes (MSDI). *Food Additives & Contaminants*, v. 19, n. 1, p. 2-14, 2002.

PAIK, S.-Y. et al. The essential oils from *Zanthoxylum schinifolium* pericarp induce apoptosis of HepG2 human hepatoma cells through increased production of reactive oxygen species. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 28, n. 5, p. 802-807, 2005.

QUINTANS JÚNIOR, L. J. et al. Plants with anticonvulsant properties: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 798-819, 2008. ISSN 0102-695X.

SILVA, M. I. G.; AQUINO NETO, M. R. de; TEIXEIRA NETO, P. F. et al. A atividade do sistema nervoso central da administração aguda do isopulegol em camundongos. *Pharmacologi Biochem Behav* 88 (2):141-147, 2007

SILVA, M. I. G.; MOURA, B. A.; AQUINO NETO, M. R.; TOMÉ, A. R.; ROCHA, N. F. M.; CARVALHO, A. M. R.; MACÊDO, D. S.; VASCONCELOS, S. M. M.; SOUSA, D. P.; VIANA, G. S. de B.; SOUSA, F. C. F. Gastroprotective activity of isopulegol on experimentally induced gastric lesions in mice: investigation of possible mechanisms of action. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol*, v. 380, p. 233-245, 2009.

VERNIN, G. A. et al. GC/MS analysis of the volatile constituents of *Corymbia citriodora* Hook. from Réunion Island. *Journal of Essential Oil Research*, v. 16, n. 6, p. 560-565, 2004.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, v. 111, n. 3, p. 544-547, 1962.