

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DE BETA GLICANO ISOLADO DA RHODOTORULA MUCILAGINOSA

Bruno Cerqueira da Silva¹; Flávia Oliveira de Lima²; Gildomar Lima Valasques Júnior³; Sandra Aparecida Assis⁴

1. Bolsista PIBIC/FAPESB. Graduando em Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de Feira de Santana, email: farma.bruno@yahoo.com.br
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: flavia_lima2000@yahoo.com.br
3. Colaborador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: jrvalasques@gmail.com
4. Colaborador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: sandrinhaassis@yahoo.com.br

PALAVRAS – CHAVE: β -glicano, antinocicepção, *Rhodotorula mucilaginosa*

INTRODUÇÃO

A dor é o principal sintoma de uma série de doenças, constituindo a principal causa de incapacitação para o trabalho. Ela reduz a qualidade de vida de milhões de pessoas em todo mundo, sendo uma das razões mais comuns de procura por serviços médicos (Kipel, 2004).

A farmacoterapia disponível para controle da dor, em muitos casos, induzem inúmeros efeitos colaterais e alguns pacientes são refratários a essa terapia farmacológica (Chopade & Mulla, 2010). Essa situação evidencia a necessidade de desenvolvimento de novos analgésicos, com reduzidos efeitos indesejados e efetivos no controle da dor.

Os fungos vêm sendo utilizados historicamente pela indústria farmacêutica para produção de novos fármacos. Eles representam uma rica fonte de metabólitos secundários e macromoléculas, apresentando uma grande diversidade de estruturas químicas. Dentre essas estruturas, destacam-se os β -glicanos por possuírem enorme variedade de efeitos biológicos, como propriedade antitumoral, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e imunomodulatória. Assim, o presente trabalho tem como intuito analisar a atividade antinociceptiva de β -glicano obtido da *Rhodotorula mucilaginosa*.

MATERIAL E MÉTODO

Obtenção do polissacarídeo

O β -glicano isolado da *Rhodotorula mucilaginosa*, obtido a partir da coleção de cultura de Microrganismos da Bahia (CCMB, Feira de Santana, Brasil), foi purificado e caracterizado pelo grupo de pesquisa da Profa. Dra. Sandra Aparecida de Assis. Para caracterizar o β -glicano, foram utilizadas as técnicas de Espectrometria de Infravermelho (FT-IR) e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

Animais

Os experimentos foram realizados com camundongos machos da linhagem Swiss Webster (20-30g) criados no biotério da Universidade Estadual de Feira de Santana. Os animais foram colocados em caixas apropriadas e mantidos nas dependências do biotério, sob temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e ciclos claro escuro de 12 horas, com livre acesso a ração e água. O trabalho foi previamente submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UEFS 181/2012.

Modelo de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético

Os animais foram tratados por via intraperitoneal com o β -glicano (3, 10 e 30mg/kg; diluídos em salina), ou indometacina (10mg/kg; grupo controle positivo), ou salina (grupo controle negativo) 30 minutos antes da administração intraperitoneal de ácido acético (0,8%, v/v, 10mL/kg). A reação avaliada foi a rotação do corpo com extensão das patas traseiras, caracterizando a contorção abdominal (Collier *et al.*, 1968). A intensidade de nocicepção ficou quantificada com a observação do número de contorções abdominais durante os 30 minutos seguintes ao estímulo.

Teste da formalina

Os animais foram tratados por via intraperitoneal com o β -glicano (3, 10 e 30mg/kg; diluídos em salina), indometacina (10mg/kg; grupo controle positivo) ou salina (grupo controle negativo) 30 minutos antes da administração de 20 μ L de formalina a 2,5% na pata posterior direita de camundongos. Os animais foram observados de 0 a 5 minutos (fase neurogênica) e 15 a 30 minutos (fase inflamatória), o tempo de lambida, sacudida ou mordida da pata injetada foi registrada com um cronômetro e considerada como nocicepção (Dubuisson & Dennis, 1977).

Teste da retirada da cauda

O limiar nociceptivo térmico foi avaliado pelo teste de retirada da cauda descrito por D'Amour (1941) modificado para camundongos, método amplamente utilizado para avaliar analgésicos de ação central (Roman, 2004). Antes do início dos experimentos, os camundongos foram habituados aos cilindros de contenção durante 5 dias consecutivos (20 minutos por dia). Para medir a latência de retirada da cauda, os camundongos foram colocados nos cilindros de contenção e a ponta da cauda (2 cm da extremidade) ficou imersa em um banho de água à $48^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (estímulo térmico nociceptivo). Foi considerada resposta positiva o movimento brusco de retirada da cauda. Um tempo de corte de 10 segundos foi estabelecido para minimizar a probabilidade de dano na pele. Antes do dia do experimento, latências de retirada da cauda foram medidas para a estabilização e determinação do basal. No dia do experimento, o limiar nociceptivo foi avaliado em diferentes tempos (30min, 1h, 3h e 5h) após a administração do β -glicano doses (30 e 90mg/kg; diluídos em salina) ou salina (controle negativo). A morfina (5mg/kg, s.c.; diluída em salina), foi utilizada como controle positivo.

Análise estatística

Os resultados estão representados como média \pm EPM de 6-8 animais por grupo experimental, sendo os grupos experimentais comparados pelo teste one-way ANOVA, seguido do teste de Bonferroni. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da atividade antinociceptiva do β -glicano foi inicialmente feita pelo teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. A administração intraperitoneal de 30 mg/kg do β -glicano resultou numa inibição significativa ($p < 0,05$) do número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Indometacina (10mg/kg/IP), um AINES padrão utilizado como referência também produziu inibição significativa no número de contorções ($p < 0,005$).

O teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético é um método de triagem para a avaliação das propriedades analgésicas ou anti-inflamatória de novos agentes (Collier *et al.*, 1968). Este método apresenta uma boa sensibilidade, mas baixa especificidade, já que as contorções abdominais podem ser suprimidas pelos relaxantes musculares e outros medicamentos (Le bars *et al.*, 2001). Assim, para evitar erros de interpretação dos resultados e confirmar o efeito antinociceptivo do β -glicano utilizamos o teste de formalina.

A injeção intraplantar de formalina promove duas fases da sensibilidade à dor, que pode não só servir para avaliar substância antinociceptiva, mas também para a elucidação dos mecanismos de antinocicepção (Dubuisson e Dennis, 1977; Hunskaar & Hole, 1987). A fase precoce (dor neurogênica), que não foi afetada pelo tratamento com o β -glicano ($p > 0,05$), ocorre por meio da estimulação química direta promovida pela formalina em nociceptores. Enquanto que a fase tardia (dor inflamatória) é causada por inflamação local e é associada com a liberação de mediadores químicos tais como a histamina, a serotonina, a bradicinina, prostaglandinas e aminoácidos excitatórios (Hunskaar & Hole, 1987). No presente estudo, o tratamento com 30mg/kg do β -glicano induziu atividade antinociceptiva apenas na fase tardia da formalina. Assim, é possível que o efeito antinociceptivo do β -glicano seja devido a uma ação anti-inflamatória.

O teste da retirada da cauda foi usado para avaliar se o β -glicano possuía ação antinociceptiva central. A administração intraperitoneal do β -glicano (30 e 90mg/kg) não aumentou a latência do tempo de retirada da cauda comparada ao grupo controle ($P > 0,005$). A administração de morfina (5mg/kg), fármaco utilizado como referência, apresentou aumento significativo do limiar por até 1 hora após sua administração ($p < 0,001$). O fato de que o β -glicano não produz efeito antinociceptivo no teste de imersão da cauda sugere que este não bloqueia a transmissão da dor neural, como a morfina.

CONCLUSÃO

O β -glicano isolado da *Rhodotorula mucilaginosa* apresentou uma importante atividade antinociceptiva nos modelos experimentais de dor. Provavelmente, o β -glicano testado induz antinocicepção periférica, através da inibição de mediadores inflamatórios. Sugerindo a possibilidade do desenvolvimento deste composto para o tratamento das condições dolorosas inflamatórias.

REFERÊNCIAS

- CHOPADE, A. R.; W. A. MULLA, 2010. Novel strategies for the treatment of inflammatory hyperalgesia. *Eur J Clin Pharmacol* 66(5):429-44.
- COLLIER, H. O. *et al.* 1968. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *Br J Pharmacol Chemother* 32(2): 295-310.
- D'AMOUR, F. E. S.; D. L. 1941. A method for determining loss of pain sensation. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 72: 74-79.
- DUBUISSON, D.; S. G. DENNIS. 1977. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4(2): 161-74.
- HUNSKAAR, S.; K. HOLE. 1987. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain* 30(1): 103-14.
- KIPEL, A. G. B. 2004. Prevalência da dor: mitos, medos e desacertos relacionados ao uso de analgésicos opiáceos. *Texto e Contexto Enfermagem* 13(002).
- LE BARS, D.; M. GOZARIU, *et al.* 2001. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 53(4): 597-652.

ROMAN, A. A. R. S. 2004. *Participação do óxido nítrico no efeito sedativo e antinociceptivos dos agonistas alfa2-adrenérgicos*. 2004. 94f. Dissertação (Doutorado em Patologia Experimental). Curso de Pós-graduação em Patologia Experimental do Departamento de Patologia Experimental da Universidade Federal Fluminense, Niterói.