

Efeito da lectina de semente de *Mucuna pruriens* na gastropatia induzida por etanol em camundongos

Jordânia Marques de Oliveira Freire¹, Isabela Ribeiro Pinto², Tatiane Santi Gadelha¹, Vicente de Paulo Teixeira Pinto¹, Hellíada Vasconcelos Chaves³.

Pós-Graduação em Biotecnologia/ Renorbio¹, Pós- Graduação em Biotecnologia/ UFC², Orientadora³.

RESUMO

Introdução: *Mucuna pruriens* é uma planta da família Fabacea e rica em compostos bioativo, nativa de regiões tropicais e popularmente conhecida como mucuna preta. Lectinas são proteínas ou glicoproteínas capazes de interagir de forma reversível com carboidratos ou glicoconjugados sem alterá-los estruturalmente. Essa ligação torna essas proteínas capazes de exercer inúmeras atividades biológicas passíveis de serem usadas na terapêutica. **Objetivos:** Caracterizar e verificar o possível efeito gastroprotetor da lectina de sementes da *Mucuna pruriens* (*Mp*) em camundongos Swiss. **Metodologia:** Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em pesquisa animal da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil (CEPA no. 74/2013) e todos os esforços foram utilizados para diminuir o sofrimento dos animais. O dano gástrico foi induzido pela administração de etanol 99,9% (0,2 ml/animal) em camundongos machos Swiss submetidos ao jejum de 18 h. Os animais (n = 7/grupo) foram pré-tratados com *Mp* (0,001; 0,01 ou 0,1 mg/kg, i.v), ranitidina (80 mg/kg, v.o.) ou salina (0,3 ml/30g,i.v.) 30 min ou 1 h antes da administração do etanol. Os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂ 30 min após o desafio com o agente agressor. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura, lavados em solução salina, fixados e organizados em placas de Petri e fotografados em alta resolução. Lesões hemorrágicas ou ulcerativas foram medidas e comparadas à área total de cada estômago através do programa de planimetria computadorizada ImageJ (National Institutes of Health, 9000 Rockville Pike, Bethesda, Maryland, USA). Procedeu-se a análise microscópica e hemoglobina tecidual para caracterizar completamente o efeito gastroprotetor da *Mp*. Para análise da hemoglobina tecidual, foi utilizado um kit padrão (LabTest) contendo reagente de Drabkin para determinação de hemoglobina (Hb) e determinada de acordo com as instruções do fabricante. A concentração de hemoglobina de tecido foi determinada por comparação das absorbâncias com um padrão de Hb fornecido pelo fabricante. **Resultados:** Observou-se que a melhor concentração capaz de reduzir a lesão gástrica induzida por etanol foi a dose de 0,1 mg/ kg de *Mp* (p<0,05) em relação ao grupo não tratado (2,4±0,8 versus

24,5±3,0 área lesada %). Tais dados foram confirmados por meio de análise histopatológica, na qual se constatou a diminuição de hemorragia e edema ($p<0,05$). A concentração de hemoglobina tecidual dos animais tratados com *Mp* reduziu significativamente ($p<0,05$) em relação ao grupo não tratado (9,4±1,2 versus 15,83±2,0, hb tecidual $\mu\text{g}/100\text{mg}$). **Conclusão:** A lectina de sementes de *Mp* possui efeito gastroprotetor na concentração de 0,1 mg/kg, confirmado pela avaliação histopatológica e pela redução da concentração da hemoglobina.

Palavras Chave: *Mucuna pruriens*, Gastropatia, lectina

INTRODUÇÃO

A gastrite se constitui numa das mais problemáticas desordens do trato gastrintestinal (TGI) superior, tanto do ponto de vista etiológico, patológico quanto terapêutico. Existem muitas causas de gastrite, desde toxicidade aguda (etanol) e uso de drogas (anti-inflamatórios não-esteroidais), até a gastrite infecciosa (Ex: *Helicobacter pylori*), passando pela gastrite inflamatória crônica e as de etiologia ainda desconhecida. Em muitos casos, a gastrite é resultado de uma combinação destes vários fatores (SMITH, 1989).

O modelo de lesão gástrica induzida por etanol em roedores pode ser produzido de forma bastante confiável pela simples administração intragástrica de quantidades variáveis (0,5 a 2,0 ml) de etanol em diferentes concentrações (50 a 100%). Dependendo da quantidade de etanol, entre 10 e 40% da porção glandular do estômago de ratos e camundongos torna-se coberta de erosões hemorrágicas e úlceras após um período de 1 a 2 horas. Estudos de evolução temporal das lesões, neste modelo, entretanto, mostram que a maior parte do dano produzido pelo etanol ocorre entre 1 e 3 minutos após instilação no estômago (GLAVIN & SZABO, 1992).

A humanidade se utiliza de produtos naturais desde tempos imemoriais para o tratamento e cura das suas enfermidades. A busca pelo alívio e cura de doenças pela ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos de origem natural (VIEGAS JR *et al.*, 2006).

A *Mucuna pruriens* é uma planta leguminosa nativa da África, Ásia e Caribe e conhecida como mucuna preta. Essa espécie tropical compõe a família Fabaceae e é rica em diversos compostos bioativos, como lectinas. Lectinas são uma classe de proteínas não-imunológicas que interagem de forma reversível aos carboidratos sem mudar a estrutura deles.

OBJETIVOS

Verificar o possível efeito gastroprotetor da lectina de sementes da *Mucuna pruriens* (*Mp*) em modelo de lesão gástrica induzida por etanol camundongos.

METODOLOGIA

O dano gástrico foi induzido pela administração de etanol 99,9% (0,2 ml/animal) em camundongos machos Swiss submetidos ao jejum de 18 h. Os animais ($n = 7/\text{grupo}$) foram pré-tratados com *Mp* (0,001; 0,01 ou 0,1 mg/kg, i.v), ranitidina 80 mg/kg, v.o. (Ran) ou salina 0,3 ml/30g, i.v. (---), 30 min ou 1 h antes da administração do etanol. Outro grupo recebeu apenas o veículo (salina) e foi denominado naive. Os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂ 30 min após o desafio com o agente agressor. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura, lavados em solução salina, fixados e organizados em placas de Petri e fotografados em alta resolução. Lesões hemorrágicas ou ulcerativas foram medidas e comparadas à área total de cada estômago através do programa de planimetria computadorizada ImageJ (National Institutes of Health, 9000 Rockville Pike, Bethesda, Maryland, USA). Procedeu-se a análise microscópica e hemoglobina tecidual para caracterizar completamente o efeito gastroprotetor da *Mp*. Para análise da hemoglobina tecidual, foi utilizado um kit padrão (LabTest) contendo reagente de Drabkin para determinação de hemoglobina (Hb) e determinada de acordo com as instruções do fabricante. A concentração de hemoglobina de tecido foi determinada por comparação das absorbâncias com um padrão de Hb fornecido pelo fabricante. Para análise estatística, todos os valores foram expressos como média \pm EPM e para as avaliações macro (índice de úlcera) e microscópicas, foi usado o teste para dados não-paramétricos de Kruskal–Wallis, seguido do teste de Dunn para múltiplas comparações. O teste t de Student foi usado para avaliar os dados de toxicidade subcrônica. $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nós exploramos as propriedades gastroprotetoras da lectina de sementes de *Mucuna pruriens* em camundongos. A ingestão de etanol caracteriza-se pelo desenvolvimento de lesões gástricas em seres humanos (Laine and Weinstein, 1988). No modelo usado neste estudo, o etanol absoluto é o principal fator que leva ao dano intenso da mucosa gástrica, promovendo o aparecimento de múltiplas bandas hemorrágicas ao longo eixo da porção glandular do estômago (Mincis et al., 1995; Silva et.al., 2012). Observou-se que a melhor concentração capaz de reduzir a lesão gástrica induzida por etanol foi a dose de 0,1 mg/ kg de *Mp* ($p < 0,001$) em relação ao grupo não tratado ($2,4 \pm 0,8$ versus $24,5 \pm 3,0$ área lesada %), como mostrado na figura 1. Tais dados foram confirmados por meio de análise histopatológica, na qual se constatou a diminuição ($p < 0,05$) de

hemorragia e edema (Tabela 1). Além disso, a tabela 2 apresenta a concentração de hemoglobina tecidual, indicativo do grau de sangramento do tecido, revelando diminuição nos animais tratados com *Mp* 0,1 mg/ kg em relação ao grupo não tratado ($9,4 \pm 1,2$ versus $15,83 \pm 2,0$, hb tecidual $\mu\text{g}/100\text{mg}$). Esta redução, provavelmente, contribuiu para a gastroproteção exibida pela *Mp*.

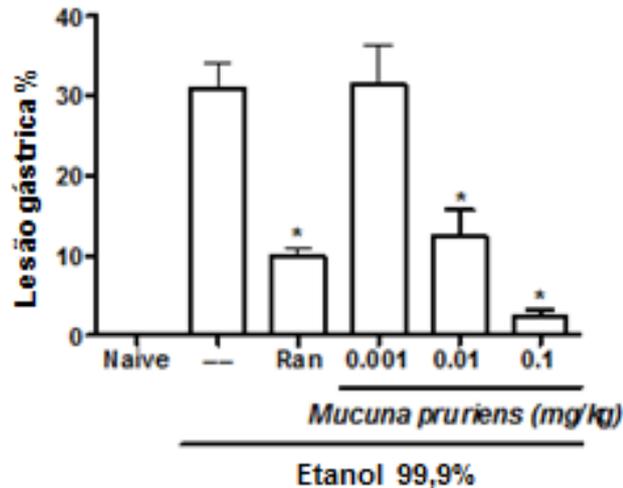


Figura 1: Efeito da *Mp* na gastropatia induzida por etanol. Os camundongos foram tratados com salina (---), ranitidina (Ran) ou *Mp* (0,001, 0,01 ou 0,1 mg/kg, i.v.). Os resultados são expressos como média \pm EPM para cada grupo de seis camundongos. * $p < 0,05$ em relação ao grupo etanol+salina. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.

Tabela 1. Efeito protetor da lectina de sementes de *Mucuna pruriens* (MR01) sobre o aspecto microscópico das lesões gástricas induzidas pelo etanol.

Grupo Experimental (n = 7)	Dano Hemorrágico (escore 0-4)	Edema (escore 0-4)	Perda Células epiteliais (score 0-3)
Naïve	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
Etanol + Salina	1 (0-4)	1 (0-4)	2 (1-3)
Etanol + <i>Mp</i> 0.001 mg/kg	0 (0-2)	0 (0-1)*	2 (1-3)
Etanol + <i>Mp</i> 0.01 mg/kg	0 (0-2)*	2 (2-4)	2.5 (2-3)
Etanol + <i>Mp</i> 0.1 mg/kg	0 (0-0)*	0 (0-1)*	1.5 (0-2)

A tabela mostra valores de mediana seguidos por escores máximo e mínimo entre parênteses. Teste não paramétrico de Kruskal–Wallis seguido do teste de Dunn * $p < 0,05$ comparado ao grupo

etanol+salina.

Tabela 2. Efeito da lectina de sementes de *Mucuna pruriens* (MR01) na concentração de hemoglobina (Hb) tecidual.

Grupo experimental (n = 7)	Hb tecidual ($\mu\text{g}/100 \text{ mg tecido}$) S.E.M.
Salina	9,4 \pm 07
Etanol + Salina	15,8 \pm 2,05
Etanol + <i>Mp</i> (0.1 mg/kg)	9,4 \pm 1,2 *

A tabela mostra média \pm EPM. ANOVA seguida do teste de Bonferroni para múltiplas comparações.

* $p < 0,05$ comparado ao grupo etanol+salina.

CONCLUSÃO

A lectina de sementes de *Mucuna pruriens* (*Mp*) possui efeito gastroprotetor na concentração de 0,1 mg/kg, confirmado pela avaliação histopatológica e pela redução da concentração da hemoglobina tecidual.

AGRADECIMENTOS

FUNCAP, CNPQ, CAPES, ICNT-IBISAB.

REFERÊNCIAS

1. GLAVIN, G.B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **The FASEB Journal**, v. 6, p. 825-831, 1992.
2. SILVA A.A.R., BEZERRA, M. M. , CHAVES, H. V., PINTO, V. P. T. , FRANCO, E.S., VIEIRA, A.M., ARAÚJO, E. B., RIOS, L.C. , LEITE, A.C. R., MAIA, M. B.S. Protective effect of *Chresta martii* extract on ethanol-induced gastropathy depends on alpha-2 adrenoceptors pathways but not on nitric oxide, prostaglandins or opioids. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 142, pp. 206–212, 2012.
3. SMITH, C. Sucralfate in the Treatment of Gastritis: A Review. **The American Journal of Medicine**, v. 86 (suppl 6A), p. 70-72, 1989.
4. VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.