

IX Encontro de Pós-Graduação e  
Pesquisa

Universidade Estadual Vale do Acaraú/ Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

**Lectina de *Abelmoschus esculentus* reduz hipernocicepção inflamatória induzida por zymosan na articulação temporomandibular de ratos**

Danielle Rocha do Val<sup>1</sup>, Raul Sousa Freitas<sup>2</sup>, Tatiane Santi Gadelha<sup>3</sup>, Mirna Marques Bezerra<sup>4</sup>, Hellíada Vasconcelos Chaves<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Doutoranda em Biotecnologia (RENORBIO)/UFPE; Bolsista FACEPE, Pós-Graduação em Biotecnologia/ UFC *Campus* Sobral<sup>2</sup>, Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular-UFPB-PB<sup>3</sup>, Pós-Graduação em Ciências da Saúde/ UFC *Campus* Sobral, Orientadora<sup>4</sup>.

Palavras Chave: Zymosan. Lectina. Hipernocicepção

## INTRODUÇÃO

Distúrbios da articulação temporomandibular (ATM) são um grupo de condições que resultam em dor na ATM, que freqüentemente limita falar, mastigar e outras atividades diárias básicas, com altos níveis de incapacidade relacionada à dor inflamatória. Os modelos experimentais que permitem o estudo dos mecanismos subjacentes a essas condições inflamatórias e dor são de grande relevância clínica. A este respeito, temos desenvolvido um modelo em ratos de inflamação da ATM utilizando injeções intra-articulares de zymosan agente pró-inflamatório (Chaves et al., 2011). Zymosan é um polissacarídeo de paredes de células de levedura que produz uma sinovite grave e erosiva relacionado com a dor inflamatória em modelos animais de artrite do joelho (Bezerra et al, 2007).

O quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* Moench.), espécie pertencente à família Malvaceae, é originário da África e desenvolve-se melhor nas regiões tropicais, subtropicais e nas áreas mais quentes nas zonas temperadas, desenvolvendo-se bem em temperaturas entre 18 e 35°C (CASTRO, GODOY E CARDOSO, 2007). Além de ser usado na alimentação, também é utilizado em medicina nos casos de pneumonia, bronquites e tuberculose pulmonar, atuando também como laxante. Segundo esses autores, os testes de atividade biológica da lectina de farinha de sementes previamente purificada apresentaram atividade antiinflamatória, antinociceptiva e não apresentou citotoxicidade frente hemácias do sistema ABO.

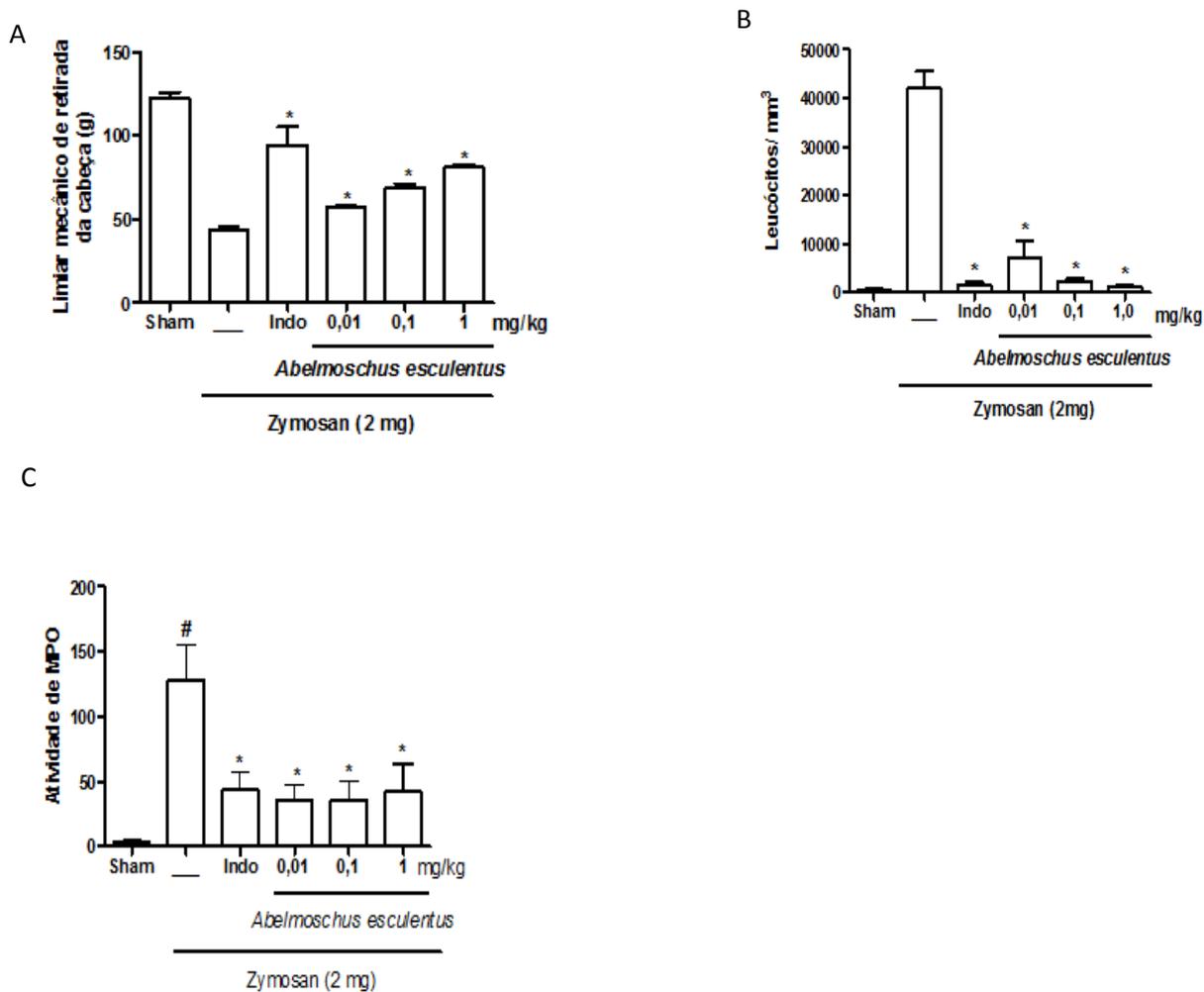
O objetivo desse trabalho é avaliar a eficácia antinociceptiva e anti-inflamatória da lectina de *Abelmoschus esculentus* no modelo de hipernocicepção inflamatória induzida por zymosan na articulação temporomandibular (ATM) de ratos.

## 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. Ratos Wistar machos (180-240g) foram pré-tratados (i.v.) com AEL (0,01, 0,1 ou 1 mg/kg) 30 min antes da injeção intra-articular (i.art.) de Zy (2mg) ou salina (grupo sham) na ATM esquerda. O efeito antinociceptivo foi avaliado pelo teste de Von Frey na 4<sup>a</sup>h após a injeção de Zy. Na 6<sup>a</sup>h após a injeção i. art. de Zy, os animais foram eutanasiados, sendo removido tecido periarticular e gânglio trigeminal (GT), para dosagem de TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$  pelo método ELISA e coletado o lavado sinovial, para contagem total de células e dosagem de mieloperoxidase (MPO). Também foi removida a ATM para análise histopatológica.

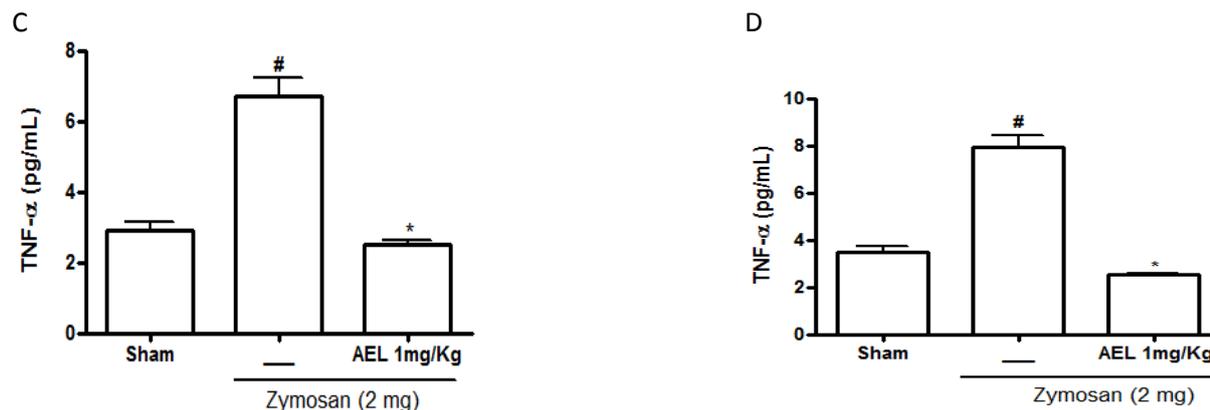
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que AEL nas doses de 0,01 (56,72  $\pm$  1,13), 0,1 (69,1  $\pm$  2,10) e 1 mg/kg (80,97  $\pm$  1,69) aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) o limiar de hipernocicepção inflamatória comparado ao grupo Zy (43,78  $\pm$  2,19). AEL (1mg/kg) reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) a dosagem de IL-1 $\beta$  no tecido periarticular (3,11  $\pm$  0,49) e no GT (1,55  $\pm$  0,34) quando comparado ao grupo Zy (11,01  $\pm$  0,83) (4,72  $\pm$  0,47), respectivamente, sendo semelhante ( $p < 0,05$ ) ao grupo sham (4,30  $\pm$  0,23) (1,86  $\pm$  0,20). AEL 1 mg/kg reduziu consideravelmente ( $p < 0,05$ ) os níveis de TNF- $\alpha$  no tecido periarticular (2,52  $\pm$  0,08) e no GT (2,52  $\pm$  0,09) em relação ao grupo Zy (7,94  $\pm$  0,49) (6,51  $\pm$  0,52), respectivamente. AEL 1 mg/kg reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) o influxo celular (1433  $\pm$  609), a atividade de MPO (22,1  $\pm$  10,7), o infiltrado celular inflamatório na membrana sinovial da ATM (0,5  $\pm$  0,2) quando comparado ao grupo Zy (37844  $\pm$  6203), (127,5  $\pm$  27,6), (3,0  $\pm$  0,4), respectivamente.



**Figura 1: Efeito da lectina de *Abelmoschus esculentus* sobre a hipernociceção mecânica na artrite induzida por zymosan (Zy) na articulação têmporo-mandibular (ATM) esquerda de ratos (a) contagem total de leucócitos no líquido sinovial (b) concentração de mieloperoxidase (MPO) no líquido sinovial (c). Ratos receberam injeção intra-articular (i.art.) de Zy (2 mg; 40 $\mu$ ) na ATM esquerda. A hipernociceção facial foi realizada na 4<sup>a</sup> h após injeção i.art. de Zy ou salina. A hipernociceção facial foi realizada na 4<sup>a</sup> h após injeção i.art. de Zy ou salina. A lectina de *Abelmoschus esculentus* (0,1; 1 ou 10 mg/kg) foi administrada (i.v.) 30 min antes da indução da artrite na ATM. A lectina de *Abelmoschus esculentus* (0,1; 1 ou 1 mg/kg) reduziu a hiperalgesia facial. Os dados representam a média  $\pm$  EPM(n=6). \*p < 0,05 em relação ao grupo ao grupo Zy 2 mg (ANOVA, Bonferroni)**





**Figura 2:** Efeito da lectina de *Abemoschus esculentus* sobre os níveis de interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) no gânglio trigeminal (a), tecido periarticular (b) e níveis de TNF- $\alpha$  no gânglio trigeminal (c) e tecido periarticular (d) de ratos submetidos à injeção de zymosan (Zy) na articulação temporomandibular (ATM) esquerda. Ratos receberam a injeção intra-articular (i.art.) de Zy (2mg; 40 $\mu$ ) na ATM esquerda. A dosagem de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  foi realizada por ELISA utilizando amostras de tecido periarticular e gânglio trigeminal obtidas na 6<sup>a</sup> hora após a injeção i.art. de Zy. A lectina de *Abemoschus esculentus* (1mg/kg) foi administrada (i.v.) 30 minutos antes da indução da artrite na ATM. Os dados representam a média  $\pm$  EPM (n=6) (ANOVA, Bonferroni).

**Tabela 1:** Análise histopatológica das articulações temporomandibular (ATMs) de ratos submetidos à indução da hipernociceção inflamatória por zymosan e tratados com a lectina de *Abemoschulentus esculentus*

Grupos	Inf. Cel. Memb. Sinovial	Inf. Cel. Tec. Conjuntivo	Inf. Cel. Tec. Muscular
Sham	0 (0-0)*	0 (0-0)*	0 (0-0)*
Zymosan	3 (1-4)	4 (2-4)	2,5 (2-3)
Indometacina	0 (0-1)*	0 (0-1)*	0 (0-1)*
Ae (0,0,1 mg/kg)	1 (0-2)	3 (2-3)	2 (1-3)
Ae (0,1 mg/kg)	2 (1-3)	3 (1-4)	2 (1-3)
Ae (1 mg/kg)	0,5 (0-1)*	2,5 (1-4)	1,5 (0-3)

Ratos receberam injeção intra-articular (i.art.) de Zy (2 mg; 40  $\mu$ L) na ATM esquerda. O grupo sham recebeu 40  $\mu$  L desolução salina i.art. A lectina de *Abemoschus esculentus* (0,01; 0,1 ou 1mg/kg) foi administrada (i.v.) 1 h antes da indução da artrite. As ATMs foram removidas na 6<sup>a</sup> h após injeção i.art. de Zy ou salina. Após fixação em formol à 10%, descalcificação com ácido fórmico 5%, as ATMs foram incluídas em parafina, seguindo-se coloração pela hematoxilina-eosina

(H&E). Foi feita análise semi-quantitativa das lâminas, avaliando-se os seguintes critérios histopatológicos: (Chaves et al., 2011): influxo celular inflamatório na membrana sinovial (MS), espessamento da MS, fibrose da MS, influxo celular inflamatório para o tecido conjuntivo e influxo celular inflamatório no tecido muscular esquelético. Atribui-se escores de 0 a 4, a saber: 0- ausente; 1- discreto; 2- leve; 3 – moderado; 4 – grave. Dados representam mediana e variação de pelo menos 6 ATMs por grupo. \*p<0,05 em relação ao grupo NT (Mann-Whitney).

## CONCLUSÃO

A Lectina de *Abelmoschus esculentus* reduz a hipernociceção inflamatória na ATM de ratos induzida por zymosan, podendo ser utilizada futuramente como possível ferramenta para seu tratamento.

## AGRADECIMENTOS

FUNCAP, CNPQ, CAPES, ICNT-IBISAB.

## REFERÊNCIAS

1. TAKEUCHI, Y.; ZEREDO, J.L.; FUJIYAMA, R.; AMAGASA, T.; TODA, K. Effects of experimentally induced inflammation on temporomandibular joint nociceptors in rats. *Neurosci. Lett.* v. 354, n. 2, p. 172-174, 2004.
2. TAKEDA, M.; TANIMOTO, T.; IKEDA, M.; NASU, M.; KADOI, J.; YOSHIDA, S.; MATSUMOTO, S. Enhanced excitability of rat trigeminal root ganglion neurons via decrease in A-type potassium currents following temporomandibular joint inflammation. *Neurosci.* v. 138, n. 2, p. 621-630, 2006.
3. CASTRO, M. M.; GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I. Qualidade de sementes de quiabeiro em função da idade e do repouso pós-colheita dos frutos. *Ciência e agrotecnologia, Lavras*, v. 32, n. 5, p. 1491-1495, 2008.
4. PANERO, F. S., M; VIEIRA F. P.; CRUZ Â. M. F, M. F. V. MOURA; SILVA, H. E. B.. Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do Rio Grande do Norte e Pernambuco. *Eclética Química, São Paulo*, 34(3): 33 - 40, 2009.
5. CHAVES, H.V.; RIBEIRO, R.A.; SOUZA, A.M.B.; SILVA, A.A.R.; GOMES, A.S.; VALE, M.L.; BEZERRA, M.M.; BRITO, G.A.C. Experimental model of zymosan-induced arthritis in the rat temporomandibular joint: role of nitric oxide and neutrophils. *J. Biomed. Biotechnol.* v. 2011, p. 1-11, 2011.
6. CHAVES, H.V. Padronização de modelo experimental de artrite na articulação temporomandibular de ratos induzida por zymosan e estudo do papel do óxido nítrico. 2006. 124 fls. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.