EFEITO DO TRATAMENTO COM O TIMOL SOBRE O COMPORTAMENTO LEUCOCITÁRIO NA MICROCIRCULAÇÃO *IN VIVO*

Rafael Lucena Bastos (IC-Balcão/CNPq/UEM), Roberto Kenji Nakamura Cuman (Orientador), e-mail: rafa_lucena_@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Departamento de Farmacologia e Terapêutica / Maringá, PR

Ciências Biológicas. Farmacologia.

Palavras-chave: Produtos Naturais, Quimiotaxia, Resposta Inflamatória

Resumo:

O Timol (2-isopropil-5-metilfenol) é o constituinte majoritário isolado do óleo essencial do tomilho, e é amplamente utilizado na prática médica e odontológica, agricultura, indústrias cosméticas e alimentícias, principalmente devido à sua função antisséptica. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do tratamento com o Timol no início da resposta inflamatória, analisando o comportamento leucocitário de rolling e adesão ao endotélio vascular. A técnica utilizada na realização do estudo foi a microscopia intravital mesentérica *in vitro*. Camundongos Balb/c foram previamente tratados com doses de 25, 50 e 100mg/kg do composto isolado, seguido por uma injeção intraperitoneal de carragenina, e posterior anestesia e incisão lateral para exposição do mesentério e contagem do *rolling* e adesão por 10 minutos em vênula pós-capilar. Os resultados foram analisados estatisticamente e os dados encontrados sugerem que o Timol atua reduzindo o *rolling* leucocitário nas doses de 25 e 50mg/kg, contudo sem apresentar redução na adesão ao endotélio em nenhuma das drogas testadas. Conclui-se, então, que o Timol possui uma ação anti-inflamatória mediada pela inibição dos estágios iniciais da migração leucocitária.

Introdução

Os óleos essenciais de plantas e seus constituintes, produtos secundários do metabolismo das plantas, possuem muitas aplicações na medicina étnica, indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e de bebidas. Quimicamente, os constituintes dos óleos essenciais são substâncias terpênicas e fenilpropanóides, cujas proporções variam de acordo com a região

geográfica e com o método de extração (Sacchetti et al., 2004). O Timol (2-isopropil-5-metilfenol) é um composto fenólico monocíclico que pode ser isolado do óleo essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris*), uma planta pertencente à família das Lamiaceas (Baser, 2008). Estudos demonstraram atividades antibióticas (Shapiro & Guggenheim, 1995), antifúngicas (Guo et al., 2009) e antioxidantes (Archana et al., 2009) para este composto isolado. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do Timol no comportamento leucocitário (rolling e adesão) usando o modelo de microscopia intravital *in vivo*.

Materiais e métodos

O composto foi isolado a partir do óleo essencial do *Thymus vulgaris*. Folhas frescas da planta foram coletadas e a extração do óleo foi realizada pelo método convencional de destilação a vapor usando um aparelho de Clevenger, durante 3 horas a uma temperatura de 70ºC. A análise do óleo, sua a identificação química, e o isolamento dos compostos foram realizados pela Cromatografia Gasosa acoplada a Espectometria de Massa (CG-MS) e Ressonância Nuclear Magnética (RNM). O comportamento leucocitário foi estudado pela técnica de microscopia intravital *in vivo*. Foram utilizados camundongos machos Balb/c, os quais foram tratados com doses de 25, 50 ou 100mg/kg de Timol via oral, com o veículo (solução a 1% de Tween 80) como um controle negativo, ou com indometacina 5mg/kg como droga de referência. Os tratamentos citados foram dados 60 minutos antes da injeção intraperitoneal de carragenina (500 µg/cavidade). Duas horas depois da injeção, os animais foram anestesiados com uma solução intramuscular de ketamina/xilazina (1:1 10+10µL/10g peso corpóreo). Dez minutos após anestesia, é feito uma incisão no flanco direito do camundongo e seu mesentério é exposto. O número de leucócitos *rolling* e adesão ao endotélio foi determinado a partir de 10 minutos de contagem em uma veia pós-capilar com um comprimento de 100 µm. O protocolo da pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM 066/2010). Os resultados foram estatisticamente analisados pelo método ANOVA seguido pelo teste de Turkey. Foi considerado estatisticamente significante um $P<0,05$.

Resultados e Discussão

A injeção de carragenina aumenta significativamente o *rolling* e adesão ao endotélio vascular duas horas após a estimulação, quando comparado ao camundongo que recebeu a injeção intraperitoneal de salina 0,09% (veículo). Uma significativa redução do *rolling* leucocitário foi observada após o tratamento com Timol nas doses de 25 e 50mg/kg. Em relação a adesão

leucocitária, não foi observada redução significativa em nenhuma das doses testadas, contudo o tratamento com a dose de 100mg/kg resultou em aumento significativo dessa adesão, sugerindo uma toxicidade da droga nesta concentração.

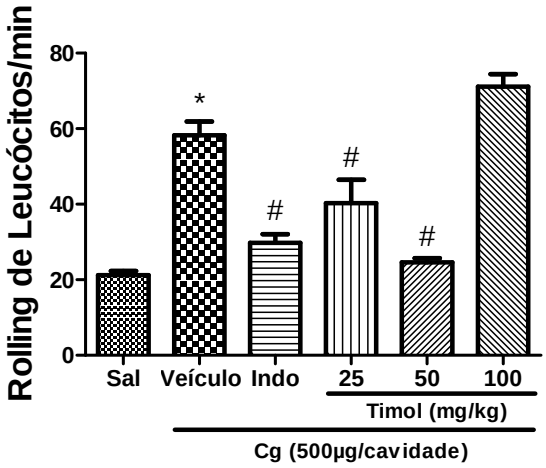

Figura 1 – Número de *rolling* de leucócitos por minuto. *: p<0,05 comparado ao grupo salina. #: p<0,05 comparado ao veículo.

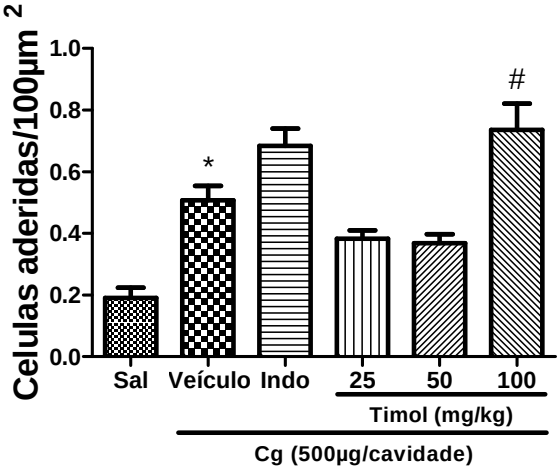

Figura 2 – Número de leucócitos aderidos por 100µm². *: p<0,05 comparado ao grupo salina. #: p<0,05 comparado ao veículo.

Conclusões

O Timol obteve um efeito inibitório nos estágios iniciais da migração leucocitária nas doses de 25 e 50mg/kg em relação a rolling celular. Portanto, nossos dados sugerem um efeito anti-inflamatório do composto isolado pela inibição dos estágios iniciais da quimiotaxia leucocitária.

Agradecimentos

CAPES. CNPq. Fundação Araucária.

Referências

ARCHANA P.R., NAGESHWAR RAO B., BALLAL M., SATISH RAO B. S. Thymol, a naturally occurring monocyclic dietary phenolic compound protects Chinese hamster lung fibroblasts from radiation-induced cytotoxicity. **Mutation research**, v. 680, n. 1-2, p. 70-77, 2009.

BASER, K. H. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, n. 29, p. 3106-3119, 2008.

GUO N., LIU J., WU X., BI X., MENG R., WANG X., XIANG H., DENG X. YU L. Antifungal activity of thymol against clinical isolates of fluconazole-sensitive and -resistant Candida albicans. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, n. 8, p. 1074-1079, 2009.

SACCHETTI, G., MEDICI, A., MAIETTI, S., RADICE, M., MUZZOLI, M., MANFREDINI, S., BRACCIOLI, E., BRUNI, R. Composition and functional properties of the essential oil of amazonian basil, Ocimum micranthum Willd., Labiatae in comparison with commercial essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3486-3491, 2004.

SHAPIRO S., GUGGENHEIM B. The action of thymol on oral bacteria. **Oral microbiology and immunology**, v. 10, n. 4, p. 241-246, 1995.