



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO METIL JASMONATO EM FERIDAS CUTÂNEAS EXCISIONAIS EM RATOS.

Karina Amélia Morikawa (PIBIC/CNPq/UEM), Jean Carlos Fernando Besson, Mauro Luciano Baesso, Gutierrez Rodrigues de Moraes, Viviane Fernandes, Luzmarina Hernandez (Orientadora), e-mail: karinamorika@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área: Ciências Biológicas **Sub-área:** Morfologia

Palavras-chave: metil jasmonato, inflamação, permeação cutânea.

Resumo:

Os jasmonatos são um grupo de substâncias fitoreguladoras endógenas produzidos por vegetais, algas vermelhas e fungos. Testes *in vitro*, demonstraram seu potencial antiinflamatório, comparável a um dos mais potentes antiinflamatórios naturais, a prostaglandina. Não existem estudos avaliando se os jasmonatos podem interferir na resposta inflamatória de feridas cutâneas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil antiinflamatório de feridas cutâneas excisionais tratadas com uma formulação tópica à base de metil jasmonato (MeJa). Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 180-200gramas. Após tricotomia do dorso de cada animal foram feitas duas feridas excisionais de área conhecida, paralelas uma a outra. A ferida do lado esquerdo foi diariamente tratada com gel creme a base de metil jasmonato (concentração 300g/kg), e as feridas do lado direito, consideradas controle foram tratadas com a base do gel creme. Os animais foram eutanizados 4, 7, 10 e 14 dias após a excisão. As amostras foram submetidas às seguintes metodologias: (A) espectroscopia fotoacústica (*PAS-photoacoustic spectroscopy*) para análise da permeação cutânea; (B) análise da resposta inflamatória por meio da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO). Não foram detectadas bandas de absorbância na espectroscopia fotoacústica, dessa forma não foi possível comprovar a absorção do MeJa. Também não foram obtidos níveis de significância no experimento da quantificação da enzima MPO, não podendo ser observado o perfil anti-inflamatório do MeJa.

Introdução:

Os jasmonatos são um grupo de substâncias fitoreguladoras endógenas produzidos por vegetais, algas vermelhas e fungos. A família dos jasmonatos compreende: cis - jasmonato (CJ), ácido jasmônico (AJ) e o metil jasmonato, derivados de ácidos graxos ciclopentanonas, isolados primeiramente a partir do óleo essencial de *Jasminum grandiflorum* [1].



Testes *in vitro*, demonstraram seu potencial anti-inflamatório, comparável a um dos mais potentes anti-inflamatórios naturais, a prostaglandina. Em modelos experimentais, o jasmonato inibe a produção de mediadores inflamatórios, tais como o NO, IL-1, IL6 e TNF- α , por regulação gênica, em macrófagos [2,3]. A eficácia do MeJa nos estados dolorosos está relacionada com a inibição da liberação de mediadores inflamatórios, em particular prostaglandinas, que sensibilizam nociceptores para causar dor, inibindo a formação de mediadores pró-inflamatórios, que são também conhecidos por causar dor [1]. No teste de toxicidade aguda, foi demonstrado que o MeJa é bem tolerado em animais, e não houve mortes naqueles tratados com concentrações de 100- 500mg/kg, por via intraperitoneal. Nas concentrações de 100-300 mg/kg não houve alterações visíveis, entretanto, com dosagens de 400-500mg/kg houve alterações comportamentais, como ataxia, sedação e hiperventilação [4].

Materiais e métodos

Todos os procedimentos envolvendo o uso de animais foram submetidos ao Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA-UEM) da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizados ratos Wistar machos (180-200g), provenientes do Biotério Central da UEM. Os animais foram mantidos em condições ambientais do biotério, com temperatura controlada de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ e ciclo circadiano de 12 horas, em caixas plásticas individuais, iniciando o período de luz as 7:00 horas, com o alimento e água *ad libitum*. Os animais (n=20) foram anestesiados com uma associação de xilazina (0,1mL/100g) e quetamina (0,1mL/100g) para a retirada manual dos pelos (epilação) do dorso próxima a região cervical. A seguir a pele foi demarcada e excisionada e as feridas, de 1cm^2 , lavadas com solução salina. Imediatamente após a excisão as feridas do lado esquerdo de cada animal foram diariamente tratadas com uma fórmula farmacêutica gelcreme contendo o MeJa (concentração 300g/kg). As feridas do lado direito, controle, foram tratadas com o gelcreme base. Os animais foram eutanizados após 4, 7, 10, 14 dias de tratamento. Após este período, as feridas foram coletadas para o estudo da atividade antiinflamatória (n=5/tempo) e da permeação cutânea (n=2). Foram obtidos os espectros de absorção em função da evolução da cicatrização. As medidas foram feitas a partir da iluminação na face epidermal, na qual os cremes foram aplicados, e também na face dermal. A frequência de modulação da luz foi ajustada em 40 Hz para a medida na face externa e em 10, 15 e 40 Hz quando a iluminação foi na face interna da ferida. A intensidade da resposta inflamatória também foi avaliada por meio da atividade da enzima MPO, segundo o método descrito por Krawis et al. (1984).



Resultados e Discussão

Por meio de espectroscopia fotoacústica foi obtida a curva de absorbância, no Ultravioleta (UV) e na faixa do visível do gel base de carbopol e da formulação de gel creme contendo MeJa. Dessa forma, foram padronizadas as bandas de absorção das duas formulações, como observado na Figura 1. Os resultados mostraram a ocorrência de bandas de absorção no UV, mas não na região do visível. Entretanto, muitas moléculas orgânicas são absorvidas no UV, dessa forma não é possível qualificar se foi a molécula do MeJa a responsável pela curva de absorbância.

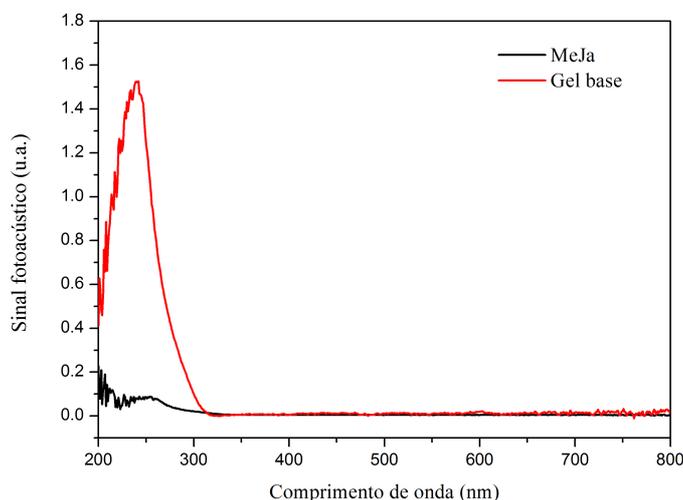


Figura 1 – Curva de permeação das formulações contendo gel base – em vermelho, e MeJa – em preto

A intensidade da resposta inflamatória, na via da enzima mieloperoxidase foi quantificada nos diferentes tempos de tratamento, e os respectivos controles e tratados comparados, como observa-se na Figura 2. O MeJa tem potencial anti-inflamatório, como já corroborado por Dang et al[3]. Entretanto, por essa via, não foram encontrados níveis confiáveis de significância para o experimento, provavelmente devido ao pequeno espaço amostral.

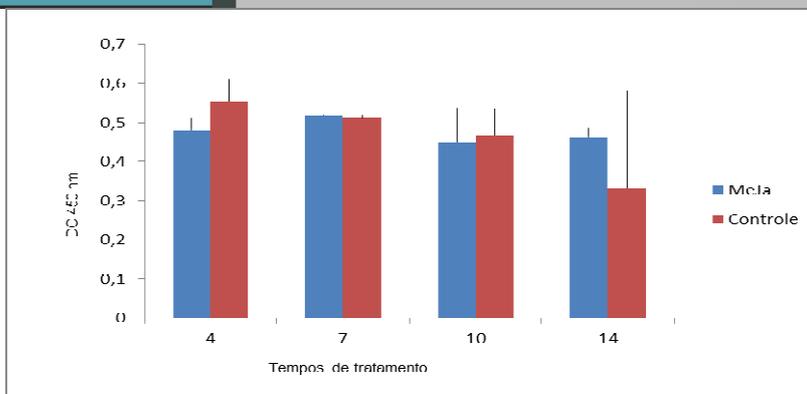


Figura 2: Quantificação média da enzima Mieloperoxidase em feridas excisionais de ratos tratados com um gel creme contendo Metil Jasmonato (MeJa) ou com um gel base, durante 4, 7, 10 e 14 dias. Foi usado o $P < 0,05$ quando comparado com controle, entretanto não foram encontrados níveis confiáveis de significância em um $n=3$ /tempo.

Conclusões

Não foram detectadas bandas de absorvância na espectroscopia fotoacústica, dessa forma não foi possível comprovar a absorção do MeJa. Também não foram obtidos níveis de significância no experimento da quantificação da enzima MPO, não podendo ser observado o perfil anti-inflamatório do MeJa, por essa via.

Agradecimentos

Ao CNPq, pela bolsa concebida; à minha orientadora, Luzmarina Hernandez e ao doutorando, Jean Carlos F. Besson, que me acompanhou por todo o projeto.

Referências

- [1] Olugbemide A.S., Umukoro S. Antinociceptive effects of methyl jasmonate in experimental animals. **Journal of Natural Medicines**. V. 65, p. 466-470, 2011.
- [2] Chung H.J., Dang H.T., Hong J., Jung J.H., Kang G.J., Kim H.S., Lee S.K., Lee S.M., Lee Y.M., Moon H.R., Pyee Y., Yoo E.S. In vitro stability and in vivo anti-inflammatory efficacy of synthetic jasmonates. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. V. 20, p. 4109-4116, 2012.
- [3] Dang H.T., Lee H.J., Yoo E.S., Hong J., Bao B., Choi J.S., Jung J.H. New jasmonate analogues as potential anti-inflammatory agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. V. 16, p. 10228-10235, 2008.
- [4] Wasternack C., Forner S., Strnad M., Hause B. Jasmonates in flower and seed development. **Biochimie**. V. 95, p. 79-85, 2013.