

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE VITAMINA D₃ NO PROCESSO INFLAMATÓRIO EXPERIMENTAL

Beatriz Cervigni Feltrin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Andrieli Cansi, Jessica Faggion Pinheiro de Oliveira, Ciomar Aparecida Bersani Amado, Silvana Martins Caparroz Asséf (Orientadora), e-mail: smcassef@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde /
Departamento de Farmacologia e Terapêutica (DFT) - Maringá-PR.

Ciência Biológicas / Farmacologia / Farmacologia Bioquímica e Molecular

Palavras-chave: vitamina D, inflamação, edema de pata.

Resumo:

Muitas pessoas apresentam insuficiência/deficiência D de vitamina, e tal condição parece estar relacionada às doenças inflamatórias, porém, até o momento o mecanismo pelo qual a vitamina D atua neste processo é desconhecido. Este trabalho propõe avaliar o efeito da suplementação diária de vitamina D na resposta inflamatória experimental aguda, utilizando o edema de pata induzido por carragenina, em ratos machos Wistar. Vitamina D (1 mg/kg) foi administrada diariamente por 15 e 30 dias previamente à indução da inflamação. O tratamento com vitamina D por 15 e 30 dias reduziu significativamente o edema. Entretanto, a redução observada parece não estar relacionada à produção de NO e MPO, uma vez que a concentração destes mediadores não foi modificada.

Introdução

A vitamina D é fundamental para o metabolismo ósseo, porém sua função vai além destes aspectos, incluindo regulação do sistema imunológico e participação na resposta inflamatória (Castro, 2011). A investigação de alternativas terapêuticas que possam apresentar efeitos favoráveis ou sinérgicos aos medicamentos classicamente utilizados, com menores efeitos adversos, merece atenção no tratamento da inflamação. Este trabalho teve por objetivo estudar o efeito da suplementação diária de vitamina D na resposta inflamatória aguda experimental.

Materiais e métodos

Animais

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar (180 e 220 g), mantidos sob temperatura controlada e em ciclo claro/escuro de 12 horas, com água e ração *ad libitum* (CEUA/UEM nº 9504220615). Os animais foram tratados, por via oral, com vitamina D₃ na dose de 1 mg/Kg (~8.000 UI) por

15 e 30 dias, e naproxeno (3 mg/Kg - VO) (anti-inflamatório de referência) 1 hora antes à indução do edema.

Edema de pata

Os animais receberam uma injeção intraplantar de 100 µL de solução de carragenina (200 µg/pata), dissolvida em salina 0.9% na pata posterior esquerda, e o mesmo volume de salina na pata posterior direita. O volume de ambas as patas foi determinado nos períodos de 1, 2 e 4 horas por pletismógrafia digital.

Preparo do Tecido Plantar

Após 4 horas da indução do edema de pata, os ratos foram sacrificados, o tecido plantar retirado, processado e centrifugado durante 20 minutos à 6000G/4°C. O sobrenadante obtido foi utilizado para as análises da atividade da mieloperoxidase (MPO) (Bani e cols. (1998)), e da concentração de Óxido Nítrico (NO) por Método de Griess (GREEN e cols. (1982)).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.) e submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, considerando $p < 0,05$ como nível de significância.

Resultados e Discussão

A injeção intradérmica de carragenina promoveu aumento significativo do volume da pata injetada de ratos controles na 1ª, 2ª e 4ª hora (22,67±1,67; 40,87±3,30; 59,33±3,50) após a aplicação do agente flogístico.

A suplementação diária com vitamina D por 15 dias reduziu significativamente o edema na 1ª h (40%), 2ª h (32%) e 4ª h (31%) (13,58±1,11; 27,92±1,65; 41,17±1,71 respectivamente). Quando os animais receberam suplementação diária com vitamina D (1 mg/Kg) por 30 dias, o desenvolvimento do edema também foi inibido (12,89±1,83; 32,22±1,45; 45,78±1,94 respectivamente). O tratamento com o naproxeno reduziu significativamente o edema de pata apenas na 4ª hora (56%) (Figura 1).

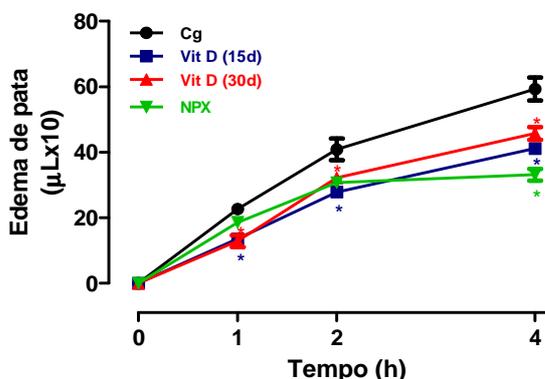


Figura 1 – Efeito da administração repetida de vitamina D (Vit D – VO) por 15 e 30 dias no desenvolvimento do edema de pata induzido por carragenina (Cg- 200 µg/pata) em ratos Wistar. Foram utilizados 6 animais por grupo, e naproxeno (NPX- 3 mg/Kg - VO) foi empregado como controle positivo. Cada ponto representa o volume médio da pata ± erro padrão da média (E.P.M.), 1, 2 e 4 horas após injeção de Cg. Os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA seguida pelo teste de Tukey (* p≤ 0,05 foi considerado como nível de significância).

Efeito da vitamina D sobre a atividade da Mieloperoxidase (MPO)

A injeção de carragenina aumentou significativamente a atividade da enzima MPO e a suplementação com vitamina D (1 mg/Kg) por 15 ou 30 dias não modificou significativamente a atividade da mesma (Figura 2).

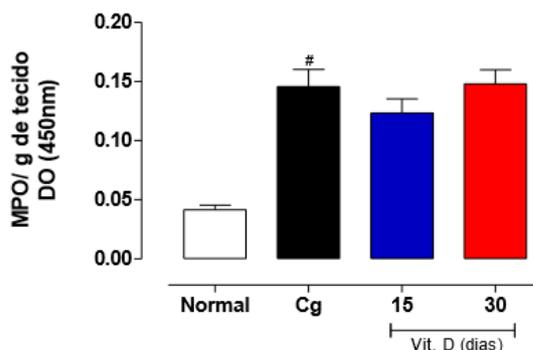


Figura 2. Efeito da suplementação com vitamina D (1 mg/Kg) na atividade da enzima mieloperoxidase em amostras do tecido plantar de ratos Wistar. Os resultados representam a média da absorbância ± E.P.M. (MPO/mg de tecido), 4 horas após a injeção de carragenina. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA seguida pelo teste de Tukey, # p < 0,05 quando comparado ao grupo normal

Efeito da vitamina D sobre a concentração de Óxido Nítrico

A injeção de carragenina aumentou significativamente a concentração de NO nas amostras do tecido plantar e a suplementação com vitamina D (1 mg/Kg) por 15 ou 30 dias não modificou significativamente a produção deste mediador inflamatório em relação ao grupo controle (Fig. 3).

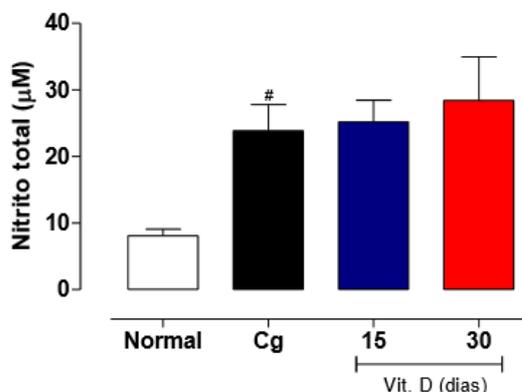


Figura 3. Efeito da suplementação com vitamina D (1 mg/Kg) por 15 e 30 dias na concentração de nitrito total no tecido plantar de ratos Wistar. Cada ponto representa a média da concentração de nitrito \pm E.P.M., 4 horas após a injeção de carragenina. Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA seguida pelo teste de Tukey, # $p < 0,05$ quando comparado ao grupo normal.

Conclusões

Este estudo mostrou que a suplementação com vitamina D (1 mg/Kg) apresenta efeito inibitório sobre o desenvolvimento da resposta inflamatória aguda induzida por carragenina. No entanto, não foi observada modificação na concentração de NO, bem como na atividade da enzima MPO, sugerindo que estes mediadores não estão envolvidos na ação anti-inflamatória da vitamina D.

Agradecimentos

Ao CNPq - Fundação Araucária - UEM pelo apoio financeiro.

Referências

BANI, D. et al. Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. *The American journal of pathology*, v. 152, n. 5, p. 1367, 1998.

DE CASTRO, L. C. O sistema endocrinológico vitamina D. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 55, n. 8, p. 566-75, 2011.

GREEN, L.C. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Analytical biochemistry*, v. 126, n. 1, p. 131-138, 1982.