

# ESTUDO DA AÇÃO DO LED E DO EXTRATO HIDROALCOOLICO DE *ECLIPTA ALBA* EM MODELO EXPERIMENTAL DE EDEMA DE PATA, INDUZIDO PELA CARRAGENINA.

**Santos, E.M.O.<sup>1</sup>, Reis, N.A.<sup>2</sup>, Barbosa, A.M.<sup>3</sup>, Giaretta, V.M.A. de<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Faculdade de Ciências da Saúde – FCS – Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova 12244-000 – São José dos Campos – SP – Brasil, [elly@directnet.com.br](mailto:elly@directnet.com.br)

<sup>2</sup> Faculdade de Ciências da Saúde – FCS – Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova 12244-000 – São José dos Campos – SP – Brasil, [elly@directnet.com.br](mailto:elly@directnet.com.br)

<sup>3</sup> Faculdade de Ciências da Saúde – FCS – Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova 12244-000 – São José dos Campos – SP – Brasil, [anabar@univap.br](mailto:anabar@univap.br)

<sup>4</sup> Faculdade de Ciências da Saúde – FCS – Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova 12244-000 – São José dos Campos – SP – Brasil, [giaretta@univap.br](mailto:giaretta@univap.br)

**Resumo** - Este estudo teve como objetivos, verificar os efeitos do LED na diminuição do edema induzido pela carragenina na pata de camundongos e investigar o efeito antiinflamatório do extrato vegetal de *Eclipta prostrata* (*Eclipta alba*) induzido pela carragenina no edema de pata de camundongos. Para tanto utilizou-se uma metodologia experimental, com camundongos swiss, machos adultos, pesando entre 25 a 30g, divididos em quatro grupos, onde o grupo A, controle, recebeu somente carragenina, o grupo B recebeu carragenina e aplicação com dexametasona, o grupo C recebeu carragenina e irradiação com LED, já o grupo D recebeu carragenina e tratamento com extrato vegetal de *Eclipta alba*. Pode -se observar que após 2 horas de aplicação, todos os tratamentos apresentaram praticamente o mesmo volume podal, já após 6 horas, observou-se que a *Eclipta prostrata* e a dexametasona apresentaram o menor volume podal e o LED além dessa redução apresentou alívio da dor.

**Palavras-chave:** LED, Inflamação, Edema, *Eclipta prostrata*, Carragenina.

**Área do Conhecimento:** Ciências da Saúde

## INTRODUÇÃO

O processo inflamatório consiste na primeira linha de defesa dos organismos vivos a estímulos lesivos exógenos (agentes infecciosos, traumas físicos ou químicos) ou endógenos (imunológicos, neurológicos) com finalidade de reconstruir a estrutura e a função do tecido ou órgão afetados. Independentes da natureza do estímulo lesivo observam-se fenômenos vasculares e celulares característicos e padronizados, de modo que os sinais clínicos da inflamação são representados por rubor, calor, formação de edema, dor e perda da função (GARCIA LEME; HARMMAURA; LEITE; ROCHA, 1993).

O edema é o acúmulo de líquido no interstício causado pelo extravasamento do líquido intracelular para o espaço extracelular, devido ao aumento da pressão hidrostática e da permeabilidade vascular. O edema inflamatório apresenta-se de forma localizada e é composto de água, eletrólitos e proteínas (GARCIA LEME; HARMMAURA; LEITE; ROCHA, 1993).

Dentre uma grande variedade de plantas medicinais que estão sendo estudadas a ***Eclipta***

***prostrata* (*Eclipta alba*)** foi a escolhida para realizar este trabalho.

A *Eclipta prostrata* (*Eclipta alba*) é conhecida popularmente como agrião do brejo ou erva botão. É uma planta nativa dos países de clima tropical e sub-tropical como Brasil, China, Ásia e Austrália. Pertence à família Asteraceae, a característica de seu nome comum se deve ao fato da planta estar, na maior parte do tempo, carregada de botões e por preferir locais úmidos e sombrios (KRISHNASWAMY, 1982; WALTER, 1989).

Os seguintes compostos foram isolados da planta *Eclipta prostrata*: wedelolactone, wedelic acid, demethylwedelolactone e seu glucosídeo terthienylcarbinol, apigenin e seu 7-O – glucosídeo, luteolin e seu 7-O – glucosídeo, beta-amiryn, sitosterol e stigmasterol (KRISHNASWAMY, 1982; WALTER, 1989).

A carragenina é um agente lesivo que estimula o desencadeamento dos fenômenos de transformações nos tecidos (GARCIA LEME; HARMMAURA; LEITE; ROCHA, 1993; RANG; DALE; RITTER, 2000).

Durante a década de 60, passou a ser utilizada, experimentalmente, por induzir uma

reação inflamatória aguda em animais experimentais, liberando diferentes mediadores inflamatórios como: histamina, prostaglandina e bradicinina (GARCIA LEME; HARMMAURA; LEITE; ROCHA, 1993; RANG; DALE; RITTER, 2000).

A dexametasona pertence à classe dos corticoesteróides, atua controlando a velocidade de síntese de proteína. Seu principal efeito se refere a uma profunda alteração na resposta imune linfocitária, representada pela ação antiinflamatória e imunossupressora, podendo prevenir ou suprimir processos inflamatórios de várias naturezas (RANG; DALE; RITTER, 2000).

A terapia com laser de baixa potência (TLBP), ocorre por meio de reações atômicas da luz com o tecido ocasionando efeitos fotoquímicos (SCHAFFER et al., 2000; HONMURA, et al., 1993). Age principalmente sobre as organelas celulares (mitocôndrias e membranas), gerando aumento de ATP (Trifosfato de Adenosina) e modificando o transporte iônico, seu principal efeito nos tecidos tem natureza estimulatória, causando aumento do metabolismo celular, quimiotaxia e vascularização (LOPES, et al., 1998), ainda, a TLBP favorece a produção de ácido araquidônico e a transformação de prostaglandina em prostaciclina, justificando sua ação antiedematosa e antiinflamatória; promove aumento da endorfina circulante (beta endorfina) proporcionando o efeito analgésico na dor não inflamatória (PETRACHI et al., 1990; COLLS, 1984).

Este estudo tem como objetivos: verificar os efeitos do LED na diminuição do edema induzido pela carragenina na pata de camundongos; e investigar o efeito anti-inflamatório do extrato vegetal de *Eclipta prostrata* (*Eclipta alba*) induzido pela carragenina no edema de pata de camundongos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se uma metodologia experimental, com abordagem quantitativa.

### 1. Protocolo de Ética

A condução científica desta pesquisa seguiu as normas e registros da resolução CNS 196/96 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e foi realizada após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIVAP. Foi utilizado modelo *in vivo*, pois o edema não possibilita utilizar outros meios como modelos matemáticos, necessitando circulação sanguínea no local.

### 2. Local e período de realização do experimento

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Fisiologia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento(IP&D) da UNIVAP, no 2º semestre de 2006.

### 3. Animais

Os experimentos foram realizados com camundongos *Swiss*, machos adultos, pesando entre 25 a 30g, provenientes do Biotério da Anilab (Animais de Laboratório) de Paulínia, São Paulo. Inicialmente os animais foram pré-tratados com anti-parasitários e mantidos com água e alimentação *ad libitum*, em sala com temperatura e umidade relativa constante (24°C – 60%), com ciclo claro/escuro (12/12 horas).

### 4. Procedimento experimental

Foram utilizados 20 animais divididos aleatoriamente em 4 grupos: A, B, C e D.

Todos os grupos receberão inoculação subcutânea (SC), de 500 µg de carragenina no coxim plantar da pata D e o mesmo volume de solução salina (SF 0,9%), na pata contra-lateral E, em volume constante de 50µl.

O grupo A (controle) recebeu somente carragenina diluída com solução salina estéril (SF 0,9%), no coxim plantar da pata D e o mesmo volume de solução salina (SF 0,9%), na pata contra-lateral E.

O grupo B recebeu a mesma solução de carragenina do grupo A associado à aplicação de dexametasona, por via intra peritoneal, na dose 0,5 mg/kg, 1 h. antes da injeção de solução de carragenina (veneno), no coxim plantar da pata D e o mesmo volume de solução salina(SF 0,9%), na pata contra-lateral E.

O grupo C recebeu a mesma solução de carragenina do grupo A e irradiação no coxim plantar da pata D e o mesmo volume de solução salina (SF 0,9%), na pata contra-lateral E, com densidade de energia (DE) de 4 J/cm<sup>2</sup> com diâmetro de 0,8 cm e área de 0,5 cm<sup>2</sup> e tempo de irradiação de 17 segundos, nos seguintes períodos de tempos: imediatamente, 2, 4, 5:30 min após a injeção de Carragenina.

Irradiava-se diretamente no local da injeção da carragenina ou salina com técnica pontual, de contato em 90°.

O grupo D recebeu a mesma solução de carragenina do grupo A e aplicação do extrato vegetal de *Eclipta prostrata* (*Eclipta alba*) via subcutânea (SC), no coxim plantar na dose 500 mg/kg, 1 h. antes da injeção do veneno e o mesmo volume de solução salina(SF 0,9%), na pata contra-lateral E.

Decorrido o tempo experimental de 6 horas, todos os grupos foram sacrificados, de acordo com o protocolo de Eutanásia.

## 5. Drogas utilizadas:

Utilizou-se Carrageenan Lambda Sigma Chemical CO. Box14508 St Louis, MO 63178 USA. Lote: 10K0775. C-3889. A carragenina foi diluída com solução salina estéril (SF 0,9%), no momento do uso.

Também foi aplicada dexametasona por via intra peritoneal na dose 0,5 mg/kg., 1 h. antes da injeção de carragenina (veneno). O **Extrato de Eclipta prostrata (Eclipta alba)**, foi aplicado por via subcutânea (SC), no coxim plantar na dose 500 mg/kg, 1 h. antes da injeção do veneno.

## 6. Aplicação da terapia com LED

Para cumprir este procedimento experimental foi utilizado um aparelho LED, operando em 640 nm com potência de 116 mW e densidade de energia (DE) de 4 J/cm<sup>2</sup>, sendo o mesmo para todos animais irradiados. A irradiação era controlada automaticamente pelo aparelho. Os animais foram posicionados em uma mesa em decúbito ventral e a perna traseira direita foi imobilizada manualmente para a aplicação do LED.

## 7. Avaliação do edema de pata

O volume das patas foi medido até articulação tíbio társica, nos intervalos de tempo de 2, 4 e 6 h., mediante um pletismógrafo, de acordo com o método descrito por VAN ARMAN *et al.*, (1965). A medida do edema foi expresso em porcentagem (aumento do volume da pata em relação ao volume da pata injetada inicial. O resultado final foi determinado pela razão entre os volumes da pata experimental (injetada com carragenina) e o da pata controle (injetada com solução salina estéril), como demonstra a fórmula abaixo:

% do aumento de volume podal = (Vol. Final – Vol. Inicial) x 100 / Vol. Inicial.

## 8. Protocolo de Eutanásia

Os animais foram anestesiados com 10mg/Kg de Xilazina (Virbaxyl 2% injetável; 0,1mg/Kg i.p.) + 100mg/Kg de Ketamina (Dopalen injetável; 1 ml/Kg i.p.). Em seguida, sob o efeito do anestésico, foi administrada overdose de Cloreto de Potássio a 10% (intracardiaco) (FLECKNELL, 2000).

## RESULTADOS

Pode-se observar na figura 1 que após 2 h. de aplicação, todos os tratamentos apresentaram praticamente o mesmo volume podal.

Após 4 horas de aplicação do tratamento a dexametasona apresentou o menor volume podal; enquanto a Eclipta prostata e o LED ficaram em segundo lugar.

Após 6 horas, observou-se que a Eclipta prostata e a dexametasona apresentaram o menor volume podal; o LED apresentou menor redução.

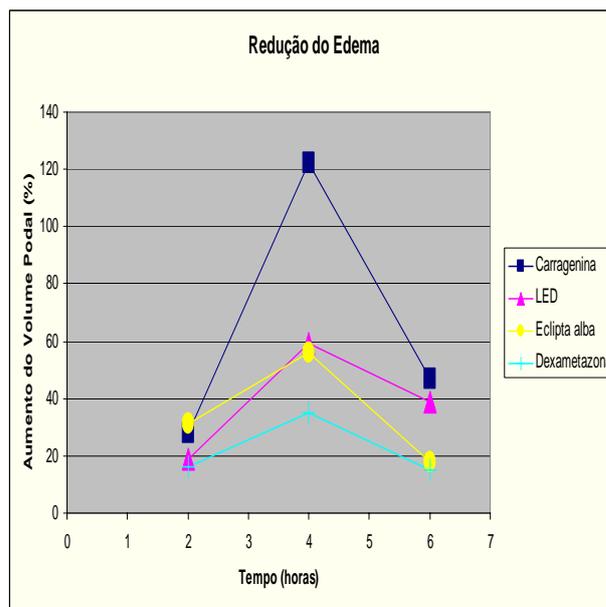


Figura 1: Redução do edema de pata induzido pela carragenina, em camundongo. O edema foi avaliado por pletismografia e expresso como aumento do volume percentual em relação à pata controle. Os dados representam a média E.P.M. (n=5) p<0,05 (ANOVA).

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos encontram amparo na literatura nacional e internacional ao focar as ações terapêuticas das drogas estudadas (COLLS, 1984; GARCIA; HARMMAURA; LEITE; ROCHA; SILVA, 1993).

Particularmente em relação à terapia do LED observou-se uma ação antiflogística efetiva assim como uma analgésica, pela maior redução do edema e da dor, esta comprovada pela maior atividade motora dos ratos, em comparação com as outras terapias dos demais grupos.

Este trabalho permite futuros estudos avaliativos em que terapias combinadas favoreçam um processo sinérgico com maior alívio dos sinais causados pela carragenina e demonstrando a efetividade dessa associação.

## CONCLUSÃO

Todos os procedimentos terapêuticos mostram-se eficientes na redução do edema, porém o LED além dessa redução apresentou alívio da dor e possui a vantagem de não apresentar efeitos colaterais indesejáveis.

VAN ARMAN, C. G., BEGANY, A. J. MILLER, L. M., PRESS, H. H. Some details of inflammations caused by uest and carrageenan. **J. Pharmac. Exp. Ther.** V. 150, p.328-334, 1965.

## REFERÊNCIAS

, J. **La Terapia Laser Roy.** Barcelona, Centro de Documentación Láser de Meditec, 1984.

FLECKNELL, P. Animal Anesthesia, 2ª ed. Ed. **Academic Press.** 2000.

GARCIA LEME, L.; HARMMAURA, L.; LEITE, M. P.; ROCHA; SILVA, M. pharmacological analysis of local the acute inflammatory process induced in the rat's paw by localinjection of carrageeni and by heating. **Br. J. Pharmacological.** v. 48, p. 88-96, 1993.

HONMURA, A.; ISHII, A.; YANASE, M.; OBATA,J.; HARUKI, E. Analgesic effect of Ga-Al-As diode laser irradiation on hyperalgesia in carrageenin-induced inflammation. **Lasers Surg Med.**;13 (4):463-9, 1993.

KRISHNASWAMY et al., 1966; BRARFAGA et al., 1972; SARG et al., 1981; WAGNER et al., 1986a; A. F. HALIM, S. I. BALBAS, A. T. KHALIL, em um simpósio da Gesellschaft für Arzneimittelforschung ocorrido em Graz, Áustria,12-17 de julho de 1982.

LOPES, L.A.; BRUGNERA, A. J. Aplicações clínicas do laser não-cirúrgico. In: BRUGNERA, A. J.; PINHEIRO, A. L. B. **Laseres na odontologia moderna.** São Paulo: pancast. P. 100-120, 1998.

PETRACHI F, MATZUZZI G. Applicazione Del laser "freddo" (I.R. a semiconduttori) come antalgico ed antiflogistico nelle patologie osteo-articolari e muscolo-tendinee. **Clin Terap** 133: 219-22, 1990.

RANG H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J . M. **Farmacologia.** 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 703, 2000.

SCHAFFER, M.; BONEL, H.; SROKA, R.; ACHAFFER, P. M.; BUSCH, M.; REISER, M.; DÜHMKE, E.;Effect of 780 nm diode laser irradiation on blood microcirculation preliminary findings on time-dependent T1-weighted contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). **Journal Photochem. Photobiol. B: Biology,** v.54, 55-60, 2000.