



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Propriedades anti-inflamatórias e imunomodulatórias da Montanina, um alcalóide isolado da <i>Rhodophiala bifida</i> .
Autor	JULIANA STRELOW
Orientador	RICARDO MACHADO XAVIER

Introdução: Artrite reumatoide é uma doença autoimune inflamatória crônica, sistêmica e de etiologia desconhecida. Os tratamentos atuais não são curativos e novas estratégias terapêuticas devem ser investigadas ativamente. A montanina é um alcaloide isolado da *Rhodophiala bifida* (Amaryllidaceae) utilizada na medicina popular e nunca testada anteriormente para doença inflamatória.

Objetivos: Avaliar o efeito da montanina *in vitro* sobre linfócitos e fibroblastos sinoviais (FLS) e como terapia antiinflamatória *in vivo* em modelos murinos de artrite.

Métodos: *In vivo*, camundongos BALB/c (machos, 8-12 semanas) foram submetidos à artrite induzida por antígeno (AIA) com injeções subcutâneas de 500 µg de albumina bovina sérica metilada (mBSA) e adjuvante nos dias 0, 7 e 14. Os animais foram divididos em 4 grupos (n=6): veículo (salina 5mg/kg) e montanina (nas doses 0,3; 1 e 3mg/kg - 2x por dia), com tratamento iniciado um dia antes da injeção intraarticular (ia) de mBSA. No 21º dia a monoartrite foi induzida com uma injeção ia de 10µl de mBSA [30µg/ml] no joelho esquerdo, a pata contralateral do grupo veículo foi usada como controle negativo. Foram avaliados: a nocicepção articular nos tempos 0, 3, 5 e 24h e a migração de leucócitos totais para articulação do joelho após 24h da injeção ia. Camundongos DBA/1J (machos, 8-12 semanas) foram submetidos à artrite induzida por colágeno (CIA) com injeções intradérmicas na base da cauda de colágeno bovino do tipo II e adjuvante nos dias 0 e 21 (reforço). Os animais foram divididos em 3 grupos (n=7): veículo (salina 5mg/kg) e montanina (nas doses 0,5 e 1,5 mg/kg – 2x ao dia por 10 dias). Os camundongos foram monitorados diariamente para os sinais da artrite e o tratamento iniciado após o primeiro sinal clínico de doença. No 11º dia os animais foram mortos para a retirada das articulações do tornozelo e do fígado para análise histopatológica. Escore articular e nocicepção da pata foram avaliados como parâmetros clínicos. *In vitro*, linfócitos e FLS foram tratados com montanina nas doses de 0,01-100 µM para viabilidade em 24h. A dose de 1µM foi escolhida para proliferação de linfócitos estimulados por ConA e LPS, revelados com MTT (n=7). Para o teste de invasão dos FLS foi utilizado kit de invasão de matriz gel e as células foram tratadas com montanina [1µM] (n=3) num período de 24h. Diferenças entre os grupos foram comparadas por ANOVA ou teste t.

Resultados: Em AIA, a montanina inibiu o influxo de leucócitos para articulação do joelho nas doses 0,3; 1 e 3mg/kg ($8,04 \pm 1,65 \times 10^4$; $4,16 \pm 0,99 \times 10^4$, $4,15 \pm 1,46 \times 10^4$ leucócitos/cavidade, respectivamente) comparado com o veículo ($43,5 \pm 9,73 \times 10^4$ leucócitos/cavidade) (P<0,01). Nocicepção de pata foi reduzida em todas as doses nos tempos 5 e 24h após a injeção ia de mBSA (P<0,01) e na dose de 3mg/kg em 3h após injeção ia (P<0,05), todos comparados com o veículo. Em CIA, não foi observada hepatotoxicidade induzida por montanina. O tratamento de 0,5 mg/kg melhorou o escore articular a partir do dia 3 até o fim do experimento (P<0,01), reduziu a nocicepção nos dias 2 e 10 (P<0,05) e melhorou os parâmetros histopatológicos (P<0,03), exceto hiperplasia sinovial, comparado com veículo. Montanina na dose de 1,5 mg/kg não foi efetiva, não apresentando diferença com o veículo. *In vitro*, as concentrações de montanina utilizadas não foram citotóxicas, mantendo a viabilidade celular. O alcaloide inibiu a proliferação de linfócitos estimulados com ConA em 54,78% (P<0,01), embora não tenha tido efeito na proliferação estimulada com LPS. O tratamento com montanina [1µM] diminuiu a invasão dos FLS em 48,6% (P=0,006).

Conclusão: A montanina foi capaz de melhorar a artrite experimental, atenuando o dano articular e a nocicepção nos modelos de AIA e CIA. Adicionalmente, o alcaloide diminuiu a proliferação de linfócitos e a invasão de fibroblastos *in vitro*. Esses dados indicam que a montanina tem potencial como tratamento antiinflamatório para artrite imunomediada.