

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ANÁLISE ESTRUTURAL DO GALACTANO ACÍDICO DOS OVOS
DE *Pomacea lineata* E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES
PROLIFERATIVA E ANTIINFLAMATÓRIA.

ANA KATARINA MENEZES DA CRUZ

Natal

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**ANÁLISE ESTRUTURAL DO GALACTANO ACÍDICO DOS OVOS
DE *Pomacea lineata* E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES
PROLIFERATIVA E ANTIINFLAMATÓRIA**

**TESE APRESENTADA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, COMO
PARTE DOS REQUISITOS PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR**

Ana Katarina Menezes da Cruz

Orientador: Prof. Dr. Maurício Pereira Sales

Co-Orientadora: Prof. Dra. Fernanda Wanderley de Oliveira

Natal

2010

ii

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN / Biblioteca Setorial do
Centro de Biociências

Cruz, Ana Katarina Menezes da.

Análise estrutural do galactano ácido dos ovos de *Pomacea lineata* e avaliação de suas atividades proliferativa e antiinflamatória. / Ana Katarina Menezes da Cruz. – Natal, RN, 2010.

54 f.: Il.

Orientador: Maurício Pereira Sales.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

1. Galactano ácido – Tese. 2. Moluscos – Tese. 3. Peritonite – Tese. I. Sales, Maurício Pereira II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BSE-CB

CDU 594

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Coordenadora: Profa. Dra. Técia de Oliveira Maranhão

Natal

2010

iii

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ANÁLISE ESTRUTURAL DO GALACTANO ACÍDICO DOS OVOS
DE *Pomacea lineata* E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES
PROLIFERATIVA E ANTIINFLAMATÓRIA.

Banca examinadora:

Presidente da Banca: Prof. Dr. Maurício Pereira Sales

Membros da Banca

Prof. Dr. Maurício Pereira Sales – UFRN

Profa. Dra. Maria Goretti Freire de Carvalho – UnP

Profa. Dra. Rosélia Souza Leal – UnP

Prof. Dr. Elizeu Antunes dos Santos – UFRN

Prof. Dr. Luis Roberto Diz de Abreu – UFRN

Natal

2010

iv

*Ó profundidade da riqueza,
tanto da sabedoria como do conhecimento de Deus!
Quão insondáveis são os seus juízos,
e quão inescrutáveis, os seus caminhos!
Quem, pois, conheceu a mente do Senhor?
Ou quem foi o seu conselheiro?
Ou quem primeiro deu a ele para que lhe venha a ser restituído?
Porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas.
A ele, pois, a glória eternamente.
Amém!*

Romanos 11:33-36.

AGRADECIMENTOS

A *Deus*, pela fé que me mantém viva e fiel. Por me guiar, iluminar e permitir a realização deste trabalho, feito sob momentos de dificuldades, saudades e muita felicidade;

Ao Professor Dr. *Maurício Pereira Sales*, pela orientação, e exemplo de força e trabalho competente. Obrigada por tudo.

A minha querida orientadora Profa. Dra. *Fernanda Wanderley Oliveira*, pela oportunidade de estudar o tema, pela orientação, dedicação, humildade e força; sempre de forma materna encorajando-me com seu carinho nas horas mais difíceis.

A todos os professores do curso de pós-graduação em Bioquímica que muito contribuíram para minha formação, em especial as professoras *Suely Ferreira Chavante e Giulianna Paiva Viana Andrade* pelas valiosas contribuições neste trabalho.

A professora *Edda Lisboa Leite* que muito colaborou com sua valiosa experiência, tornando possível a publicação do artigo.

Ao Prof. Dr. *Hugo Alexandre de Oliveira Rocha* e a Profa. Dra. *Waléria Soraya de Farias Sales* pelas valiosas colocações na qualificação deste trabalho.

Em especial agradeço aos meus pais *José Hurley da Cruz e Maria do Socorro Menezes da Cruz*, pelo apoio a toda hora, pois sem a ajuda incondicional de vocês com certeza este trabalho não estaria pronto. Obrigada por tudo, agradeço todos os dias a Deus por serem meus pais. Amo vocês.

Ao meu esposo *José Edson Soares*, agradeço do fundo do coração em resistir ao meu lado nesta etapa de minha vida, me confortando nos momentos difíceis, enfim obrigado por tudo que você teve que renegar por causa do meu objetivo.

À minha filha *Sarah*, obrigada por entender a minha ausência, e por ser este anjinho muito alegre que sempre esta iluminando minha vida. Te amo filha.

À minha irmã *Daniela, a Tony, Sophia e Daniel*, pelo amor compartilhado, pelo apoio concedido, pela cumplicidade.

Aos meus amigos do laboratório (*Dayse, Deyse Carol, Iuri, Cecília, Débora, Raiany, Rômulo, Fernanda, Raquel, Allan e Lyanne*) pela companhia valorosa e pelos momentos intensos de alegria, mesmo nos dias difíceis.

À minha grande amiga *Elíene* (Lili) obrigada pelo apoio a toda hora e enriquecimento de nossa amizade. E a *Creuza* pela amizade.

Obrigada a todos os colegas de trabalho da salinha de cultura (*Ruth, Raniere, Rafael, Nednaldo*). E aqueles que já passaram por aqui (*Betinha, Lissandra, Daniel e Adriana*) foi muito bom ter convivido com vocês!

A *Margarita*, pelo trabalho sempre competente e ajuda incondicional nas horas da necessidade burocrática.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho: professores, funcionários e colaboradores do departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

LISTA DE ABREVIATURAS/ SIGLAS

AH	Ácido hialurônico
FGF-β	Fator de crescimento derivado de fibroblastos
C4S	Condroitim 4-sulfato
C6S	Condroitim 6-sulfato
DS	Dermatam sulfato
GA	Galactano ácido
GAGs	Glicosaminoglicanos Sulfatados
HEP	Heparina (de mamíferos)
HS	Heparam sulfato
IL -1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
MEC	Matriz extracelular
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio)
PG	Proteoglicanos
PBS	Tampão fosfato salino
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PMNS	Leucócitos polimorfonucleares
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TNF-α	Fator de necrose tumoral
TGF-β	Fator de transformação do crescimento beta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Unidades dissacarídicas constituintes dos glicosaminoglicanos.. 07

Figura 2. A - Ovoposições e B - Molusco *Pomacea lineata* 41

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	xi
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
2.1 Polissacarídeos	03
2.1.1 Polissacarídeos de Algas	04
2.1.2 Polissacarídeos Animais	05
3 ANEXAÇÃO DE ARTIGOS	10
3.1 Artigo I.....	10
3.2 Artigo II	16
4 COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E SUGESTÕES	39
5 APENDICE	45
6 ANEXO	47
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
8 ABSTRACT	54

RESUMO

O Galactano ácido (GA) foi obtido através de extração por proteólise e precipitação com acetona das ovas do molusco *Pomacea lineata*. Sua estrutura foi elucidada através de uma combinação de análises químicas, da viscosidade intrínseca e de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, mono e bidimensionais. Os aspectos biológicos do GA foram avaliados através de ensaios *in vivo* de cicatrização e de peritonite induzida (atividade antiinflamatória); e ensaios *in vitro* da atividade citotóxica (MTT). Este polissacarídeo apresentou uma estrutura simples, sem presença de sulfato e ácidos urônicos. Suas viscosidades intrínseca e relativa foram avaliadas em $0,44 \pm 0,05$ e $1,744 \pm 0,07$ dL.g⁻¹. A espectroscopia mostrou que o GA possui uma constituição formada predominantemente por β -D-galactoses, além de β -D-NAcetil-glucosamina que surge em menor proporção na cadeia. O caráter ácido deste polissacarídeo é dado pela presença de piruvato na molécula, formando um acetal cíclico de 6-membros, localizados nas β -D-galactoses. A participação do GA na cicatrização foi avaliada e as análises histológicas revelaram que houve, de forma precoce ao processo de cicatrização, uma grande estimulação de macrófagos, com formação de granulomas. Sugerindo que o GA pode ter promovido a antecipação de eventos biológicos necessários à cicatrização do tecido. No ensaio de peritonite induzida o GA se mostrou dose dependente, demonstrando uma ação antiinflamatória em concentrações acima de 20mg/kg, e comprovando seu caráter inflamatório na concentração de 1mg/Kg. Em ensaios *in vitro* o GA utilizado na concentração de 1000 μ g/mL apresentou atividade proliferativa estimulando o crescimento de células 3T3, corroborando os achados *in vivo* e demonstrando ausência de atividade citotóxica.

Palavras Chave: Galactano ácido, RMN, Peritonite, MTT

1 - INTRODUÇÃO

Os polissacarídeos são um grupo complexo de macromoléculas com grandes variedades estruturais. Eles são naturalmente encontrados em animais e vegetais. As funções atribuídas a esses polímeros vão desde funções mais simples como estruturais e de reserva energética, até complexas participações em vários processos biológicos, como por exemplo, homeostasia, inflamação, cicatrização, tumorigênese entre outros¹.

Desde o início da década de 80, o Departamento de Bioquímica da UFRN vem se dedicando ao estudo de glicoconjugados, principalmente glicosaminoglicanos sulfatados (GAGs), fucanas e galactanos de organismos aquáticos, que representam uma das mais ricas fontes de matérias primas, principalmente por serem recursos renováveis e apresentarem características peculiares. Atualmente essas moléculas vêm se destacando pelo seu amplo espectro de utilizações farmacológicas^{2,3}.

Estudos realizados durante a embriogênese do molusco *Pomacea sp* mostram a presença de GAGs e galactanos neutros e ácidos. Analisando-se, a seqüência de aparecimento dos polissacarídeos com os achados histológicos, pode-se relacionar a presença do GA com o estágio de morfogênese e dos GAGs com a diferenciação celular. Por volta do 5º dia, início da morfogênese, surge o GA, composto não sulfatado, que decresce lentamente, com o concomitante aparecimento do condroitim sulfato e do heparam sulfato. O AH não foi encontrado nos ovos deste molusco⁴.

Estudos preliminares utilizando esse GA, por uso tópico, em ensaios biológicos na cicatrização de feridas por segunda intenção, revelaram

resultados promissores à ação do GA, como a ativação de macrófagos resultando na formação de células gigantes, granulomas e neovascularização intensa⁵.

Sendo assim, com o intuito de aprofundar os estudos sobre o GA, sugerindo uma análise de sua estrutura química, bem como avaliando sua atuação em processos biológicos, foi apresentado no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – PPgCSA, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, o pré-projeto para o curso de Doutorado, intitulado: “Análise Estrutural do Galactano Acídico do Molusco *Pomacea sp* e De Suas Atividades Adesiva, Migratória e Proliferativa”, sob a orientação do Prof. Dr. Mauricio Pereira Sales, e co-orientação do Profa. Dra. Fernanda Wanderley Oliveira.

Este projeto mostra-se relevante por explorar, de forma pioneira, aspectos das características estruturais e das atividades biológicas do GA extraído do molusco, contribuindo de modo efetivo à ciência.

Os principais resultados obtidos foram apresentados nas produções anexadas nesta dissertação: “Structural elucidation of an acidic galactan from the eggs of mollusc *Pomacea lineata*. Publicado em 2010 na revista Carbohydrate Polymers e “Evaluation of acidic galactan extracted from the eggs of the mollusc *Pomacea lineata* in wound healing and inflammation events”.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Polissacarídeos

Polissacarídeos são macromoléculas naturais encontradas em todos os organismos vivos, sendo classificados como homopolímeros ou heteropolímeros⁶.

Os homopolissacarídeos constituem um grupo de compostos dos mais abundantes e importantes da biosfera como, por exemplo, a celulose e o amido nas plantas e o glicogênio nos animais⁷. Estes polímeros são constituídos de unidades monossacarídicas idênticas unidas por ligações glicosídicas diferindo entre si no grau de ramificação, no tipo de ligações que as unem e no comprimento de suas cadeias, apresentando diferentes funções.

Enquanto os heteropolissacarídeos apresentam diferentes unidades monossacarídicas constituintes, além das outras possíveis variações como as citadas anteriormente. A maioria possui estrutura sulfatada, e os de origem animal encontram-se ligados a moléculas de outra natureza formando os glicoconjugados como, por exemplo, os proteoglicanos.

Os polissacarídeos sulfatados (PS) são macromoléculas complexas formadas por unidades repetitivas de açúcares e carregadas negativamente devido à presença de radicais sulfatos. Nas últimas décadas, estes polissacarídeos vêm chamando a atenção de vários pesquisadores por apresentarem diversas atividades farmacológicas^{8,9}. Aqueles com aplicações

industriais são extraídos principalmente de algas, de animais e fungos ou podem ser obtidos através de fermentação microbiológica¹⁰.

Esses compostos são encontrados em tecidos animais (vertebrados e invertebrados)^{11,12} e vegetais (algas e gramíneas marinhas)^{13,14}, formando, em sua maioria, agregados complexos denominados glicoconjugados¹⁵.

2.1.1 Polissacarídeos de Algas

As algas marinhas exibem uma grande variedade de polissacarídeos, que podem ser representados pelas galactanas e fucanas sulfatadas.

As galactanas são polissacarídeos que apresentam uma estrutura básica constituída por uma cadeia linear alternada de (\rightarrow 3)- β -D-Galp, denominada unidade A, e unidades de (\rightarrow 4)- α -Galp, chamada unidade B¹⁶. De acordo com a estereoquímica da unidade B, as galactanas podem ser classificadas como: agaranas, carragenanas e ainda galactanas híbridas^{17,18}.

As galactanas de algas vermelhas são alvo de atenção devido ao seu valor econômico. As agaranas são utilizadas amplamente pela indústria. A agarose purificada é utilizada em eletroforese, na experimentação bioquímica, e como meio de cultura para bactérias e outros microorganismos¹⁹. Na indústria alimentícia, as carragenanas são utilizadas como estabilizante de emulsão, espessante e geleificante, sendo uma fonte importante de renda, representando cerca de 310 milhões de euros/ano (dados referentes a 2001). O mercado das carragenanas tem apresentado, durante os últimos anos, um crescimento anual de 3%^{20, 21}.

Estudos com algas verdes do gênero *Codium*, mostram a possível presença de piruvato na estrutura de galactanas revelando sua heterogeneidade e complexidade estrutural, além de atividade anticoagulante^{22, 23}.

Outros polissacarídeos de alga relevantes são as fucanas, que possuem como característica estrutural a presença de L-fucose sulfata, e são facilmente extraídos da parede celular de algas marrom (família Phaeophyceae). Sua estrutura é bastante complexa, exibindo resíduos de 3- e 4-fucose ligados, com presença de sulfatação nas posições 2- e 4-^{24, 25, 26}.

Vários autores têm reportado diferentes atividades desempenhadas pelas fucanas, como: atividade angiogênica²⁷, anticoagulante, antitrombótica^{28, 29}, antimigratória³⁰, antiadesiva³¹, antioxidante³², inibidora *in vitro* de vários vírus importantes como o vírus da imunodeficiência humana, herpes e dengue, entre outras^{33, 34, 35, 36}.

2.1.2 Polissacarídeos animais

Os tecidos de espécies de vertebrados e invertebrados apresentam abundantes polissacarídeos representados pelos glicosaminoglicanos (GAGs), que correspondem à grande maioria dos heteropolissacarídeos presente nos organismos³⁷.

Os GAGs são grandes e complexas moléculas de carboidratos que interagem com várias proteínas, atuando em muitos processos fisiológicos e patológicos^{38, 39}. Também já foram denominados de mucopolissacarídeos, por Meyer⁴⁰ devido às suas propriedades viscosas e lubrificantes. Atualmente, são definidos como um grupo estruturalmente complexo de

heteropolissacarídeos lineares formados por unidades dissacarídicas repetitivas, constituídas por uma hexosamina (D-glucosamina ou D-galactosamina) unida por uma ligação glicosídica a um açúcar não nitrogenado (ácido D-glucurônico, ácido L-idurônico ou galactose). A maioria desses polissacarídeos apresenta-se sulfatado, que juntamente com as carboxilas dos ácidos urônicos conferem uma alta densidade aniônica a esses compostos⁴¹.

Os diversos GAGs têm pesos moleculares que variam de 5 a 100 kDa e comprimentos de 10 a 200nm, sendo que, o ácido hialurônico pode atingir peso molecular da ordem de 10^4 kDa¹². A identidade de um GAGs é fornecida pelo tipo de hexosamina e açúcar não nitrogenado que o compõe, o grau e a posição dos grupos sulfatos, bem como, as ligações glicosídicas inter e intra dissacarídeos. A variação das combinações observadas resultaram nos seguintes GAGs : ácido hialurônico (AH), dermatam sulfato (DS), condroitim 4-sulfato (C4S), condroitim 6-sulfato (C6S), heparina (HEP), heparam sulfato (HS) e queratam sulfato (QS)⁴², representados na Figura 1.

Essas moléculas são encontradas em superfícies de todas as células animais, na matriz extracelular, em grânulos intracelulares de específicos tipos celulares e alguns são conhecidos por ligar e regular uma variedade distinta de proteínas, incluindo citocinas, enzimas, fatores de crescimento e moléculas de adesão^{43, 44}.

Os GAGs podem exercer várias propriedades biológicas importantes⁴⁵, algumas atribuídas à sua habilidade de criar e preencher espaços pela organização e modificação da MEC⁴⁶, outros papéis são relacionados à

habilidade de resposta à sinais proliferativos e/ou migratórios através de mais de um receptor de superfície celular, participando em processos de migração celular⁴⁷. Observa-se que membros da família de fatores de crescimento interagem com cadeias de heparina/ heparano sulfato a fim de que seus receptores ativem toda sua sinalização^{48, 49}.

Figura 1: Principais unidades dissacarídicas constituintes dos glicosaminoglicanos sulfatados. Adaptada de Volpi e Maccari⁵⁰.

Os glicosaminoglicanos são encontrados nas superfícies celulares e matrizes extracelulares durante o curso das reações imunes e inflamação⁵¹. Possuem um papel importante na sinalização celular e desenvolvimento de angiogênese⁵², crescimento axonal⁵³ e ação anticoagulante^{54, 55}.

Em tecidos de invertebrados, além dos GAGs outros polissacarídeos sulfatados foram descritos, como por exemplo, em ouriços do mar foram achadas fucanas e galactanas sulfatadas, sendo esses polissacarídeos

relacionados com a ativação da reação acrossômica durante o processo de fecundação⁵⁶. Ao contrário das fucanas de algas, os polissacarídeos de equinodermos possuem estruturas mais simples, sendo compostas por unidades repetitivas de oligossacarídeos com diferentes padrões de sulfatação nos resíduos de suas unidades^{57, 58}. Há também, alguns relatos sobre fucanas encontradas em pepinos do mar, contudo elas são descritas como participantes da constituição do tecido muscular do animal⁵⁹.

No molusco *Pomacea sp*, foi identificada a presença, em todos os tecidos e órgãos dos animais adultos analisados, do condroitim sulfato e heparim sulfato e em determinado estágio de desenvolvimento a presença do GA, um polissacarídeo não sulfatado^{60,61}.

Este GA foi utilizado em um estudo comparativo com o AH na cicatrização de feridas intestinais, por segunda intenção, proposto por Cruz et al⁵, onde os resultados obtidos mostraram que o GA intensificou a ativação celular e a neovascularização do tecido, promovendo o reparo.

O processo de cicatrização é muito complexo e ocorre com inúmeros passos, sendo essencial para a sobrevivência dos organismos vivos. O reparo tecidual é caracterizado segundo Clark⁶² em três fases: (1) inflamação, (2) formação de tecido de granulação com deposição de matriz extracelular e (3) remodelação. Na primeira etapa, a inflamação apresenta-se como uma resposta complexa do tecido conjuntivo vascularizado ao agente agressor, caracterizando-se por extravasamento de líquidos e células⁶³. Durante a evolução do processo cicatricial, a matriz extracelular, passa por modificações em sua composição, caracterizando uma matriz

provisória rica em substâncias bioativas, como fatores de crescimento, as citocinas, moléculas de adesão, interleucina-1(IL-1), IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- α) entre outros, formando um gradiente quimiotático que orienta a migração das células envolvidas com a instalação da resposta inflamatória⁶⁴. A migração e ativação de macrófagos e fibroblastos para a região permitem que os componentes da nova matriz extracelular passem a ser localmente produzidos por estas células. Neste estágio observa-se a presença do AH, um GAGs que auxilia na resistência do tecido à compressão. Logo após surgem os outros GAGs ocorrendo a diferenciação celular. As células endoteliais dos vasos neoformados se diferenciam e os vasos assumem as características de capilares. Os fibroblastos passam a secretar grandes quantidades de colágeno que se torna o principal componente da cicatriz em formação, e aos poucos o tecido de granulação vai sendo enriquecido com mais fibras de colágeno e começa a adquirir a aparência de massa fibrótica, característica da cicatriz, sendo seguido pela maturação e remodelamento da matriz concluindo o processo de reparo⁶⁵.

3 - ANEXAÇÃO DOS ARTIGOS

3.1. ARTIGO I

4 - COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E SUGESTÕES

Conforme o pré requisito, foi apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – PPgCSA, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, o pré projeto de pesquisa para o curso de Doutorado, intitulado: “Análise Estrutural do Galactano Acídico do Molusco *Pomacea sp* e de Suas Atividades Adesiva, Migratória e Proliferativa”, para ser desenvolvido por mim, Ana Katarina Menezes da Cruz, sob a orientação do Prof. Dr. Mauricio Pereira Sales e co-orientação do Profa. Dra. Fernanda Wanderley Oliveira.

A pesquisa em consideração tem natureza exploratória e descritiva, versando sobre o polímero denominado galactano acídico (GA), extraído de ovos do molusco *Pomacea lineata*. O processo foi motivado pela necessidade de aprofundar as investigações sobre o composto e, por apresentar um caráter pioneiro, visto que na literatura não há referências sobre a estrutura deste polímero e de suas possíveis atividades biológicas.

No decorrer dos estudos algumas modificações do projeto inicial foram necessárias diante de certas circunstâncias vivenciadas. Assim, novos enfoques capazes de alavancar os estudos foram abordados.

Cruz e colaboradores mostraram anteriormente que o processo de cicatrização por segunda intenção foi favorecido pelo uso tópico do GA em ensaio *in vivo*. Desta forma procurou-se testar a eficiência do GA em atividades que, de alguma forma, viessem favorecer o processo de cicatrização, corroborando aos achados descritos anteriormente⁵.

Com relação às análises do GA nos processos de adesão e migração celular *in vitro* os resultados dos ensaios pilotos não foram favoráveis.

Considerou-se vários pontos que podem ter contribuído com este resultado, como o tipo celular utilizado no experimento, a concentração do GA ser testada, entre outros fatores.

Seguindo o mesmo propósito, foram realizados os ensaios de proliferação e viabilidade celular, onde o GA pode ser testado na proliferação de células 3T3 (fibroblastos de ratos) *in vitro* e verificado a sua viabilidade através do teste de MTT. De acordo com os resultados *in vitro* confirmou-se que o GA não era citotóxico nas condições utilizadas nos experimentos *in vivo*.

Considerando a importância do processo de inflamação para a cicatrização, bem como o fato do GA ter apresentado potencial satisfatório no reparo de feridas intestinais, criou-se a expectativa de verificar a atividade antiinflamatória deste composto *in vivo*. Foram realizados ensaios de peritonite induzidas por tioglicolato de sódio, seguidos de dosagem de óxido nítrico. Os resultados sugerem um efeito inflamatório do GA em concentrações menores, apoiando mais uma vez os achados de Cruz⁵.

Com relação ao molusco *Pomacea sp*, utilizado nos diversos trabalhos anteriormente elaborados pelo grupo de pesquisa do Departamento de Bioquímica - UFRN, sempre havia uma crítica pelo fato da classificação filogenética deste animal ainda não ter sido feita. Assim, atendendo a recomendação, exemplares do animal e suas ovoposições em estudo foram submetidos à análise de classificação filogenética. Esta classificação foi realizada no Departamento de Zoologia da UFRN sendo executado por Newton Filho, aluno da Prof^a Rosângela Gondin. Mostrando a seguinte classificação:

Reino : *Animalia*
Filo : *Mollusca*
Classe : *Gastropoda*
Subclasse : Prosobranchia
Ordem : Mesogastropoda
Super-familia: *Ampullarioidea*
Família : *Ampullariidae*
Genero : *Pomacea*
Espécie : *Pomacea lineata*

Feito isto vale lembrar que, o molusco referido no trabalho de Cruz como *Pomacea sp* é o mesmo citado como *Pomacea lineata* nos dois artigos apresentados nesta dissertação e nos trabalhos vindouros.

No que diz respeito à coleta deste molusco, para obtenção das ovas e desenvolvimento do projeto, foi um dos motivos mais preocupantes no decorrer dos trabalhos. Normalmente os animais eram capturados na lagoa de Extremoz-RN e trazidos para tanques experimentais na universidade onde as ovas, por eles depositadas, eram coletadas e estocadas. Mesmo que em determinados períodos do ano houvesse uma redução na captura dos animais, havia garantia de obtenção de ovas pelos animais do tanque experimental. Porém, com a possibilidade de uma epidemia de dengue na cidade, a UFRN teve que vedar os tanques experimentais com areia, impossibilitando a coleta e o cultivo dos animais por vários meses, chegando a mais de 2 anos. Por este motivo algumas

análises que haviam sido propostas tiveram que ser adiadas e apenas o estoque de ovos feito durante alguns meses foi usado na execução do trabalho.

Diante dessa realidade procurou-se rever a metodologia utilizada na extração e purificação do GA para tentar otimizá-la e evitar desperdícios de material. Afortunadamente, foi testado um método de purificação através da extração por precipitação com acetona que possibilitou um melhor rendimento do polissacarídeo purificado. O GA assim obtido foi submetido a várias análises químicas, apresentando um ótimo grau de purificação. Como todas as outras, esta nova metodologia empregada apresenta fidedignidade e reprodutibilidade.

Conhecer as características estruturais de compostos bioativos é uma etapa fundamental quando se deseja ampliar o entendimento de seu mecanismo de ação. Utilizar-se dos dados da literatura para estudos comparativos, é ferramenta comumente utilizada por pesquisadores. Embora os estudos deste projeto revelassem informações sobre algumas atividades biológicas do GA, faltava explorar o conhecimento a cerca de suas características estruturais. A ausência de relatos sobre a estrutura do GA tornou este ponto um dos objetivos essenciais aos estudos deste polissacarídeo.

Com a colaboração da Professora Ana Paula Valente do Centro Nacional de Ressonância de Macromoléculas da UFRJ, os espectros do GA foram obtidos. Vale salientar que o alto grau de purificação do GA foi motivo de elogios por parte dos pesquisadores. De posse dos experimentos de RMN iniciou-se então uma extenuante e enriquecedora busca pelo entendimento dos sinais ali revelados. Para tanto foi considerado, sobretudo, dados semelhantes relatados na literatura para outros polissacarídeos. Neste ponto foi fundamental a participação das Profas Dras Suely Ferreira Chavante e Giulianna Paiva Viana

de Andrade; na elucidação da estrutura do galactano e elaboração do artigo científico: “Structural elucidation of an acidic galactan from the eggs of mollusc *Pomacea lineata*.” Aceito em 2009 e publicado em 2010 na revista “Carbohydrate Polymers” - Qualis Internacional B1 (Ciências Biológicas II e Fator de Impacto 2,64).

As outras informações relevantes, que discorrem sobre as atividades biológicas desempenhadas pelo GA, foram reunidas em um artigo que será enviado, para publicação em revista internacional e leva como sugestão de título: “Evaluation of acidic galactan extracted from the eggs of the mollusc *Pomacea lineata* in wound healing and inflammation events”.

Os prazos propostos no cronograma do pré-projeto foram ampliados devido aos pormenores existentes no decorrer do estudo. No entanto, a viabilidade da pesquisa, o apropriado delineamento metodológico, a obtenção de materiais, o envolvimento do grupo de pesquisa e o apoio físico e técnico encontrado dentro da instituição e fora dela, contribuíram para o cumprimento das atividades propostas e conclusão do trabalho.

Por abordar um tema sobre um polissacarídeo pouco conhecido, acreditamos que oferecemos, com os nossos resultados, uma colaboração enriquecedora à ciência e aos pesquisadores que estudam temas semelhantes ou relacionados.

Perspectivas inovadoras de ampliar as investigações sobre o galactano do molusco *Pomacea lineata*, podem ser consideradas, principalmente porque apenas um dos tipos de galactanos produzidos na embriogênese do molusco, foi utilizado nos ensaios aqui apresentados. A existência de outra população de galactano, obtido durante a purificação dos polissacarídeos, denominada de

galactano neutro e que tem uma concentração de cerca de duas vezes maior que os demais polissacarídeos, é bem promissora para os estudos que envolvem modificações estruturais deste composto. Possibilitando a sua utilização como modelos para elucidar mecanismos de ação destes polissacarídeos.

Além de autora da presente dissertação, minha atuação enquanto aluna de doutorado, também abrange a participação como integrante de outros trabalhos executados pelo grupo de pesquisa Glicoconjugados Bioativos.

Em adição, enquanto técnica do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte acredito que, exercendo minhas atividades como técnica na cultura de células, amplio as possibilidades de crescimento profissional pela colaboração em outros projetos de interesse e em trabalhos de pesquisa desenvolvidos no Departamento pelos seus diversos grupos de pesquisas.

5 - APÊNDICES

A temática do nosso anteprojeto inicial gerou os seguintes trabalhos publicados em revista e anais de congressos:

5.1 - Publicação em Revista Internacional:

CRUZ, A. K. M., Andrade, Julianna Paiva Viana, Chavante, Suely Ferreira, de Vasconcelos, Cláudio L., Garcia, Rosângela Balaban, LEITE, Edda Lisboa, Valente, Ana Paula, Sales, Mauricio Pereira, Oliveira, Fernanda Wanderley. Structural elucidation of an acidic galactan from the eggs of mollusc *Pomacea lineata*. *Carbohydrate Polymers.* , v.79, p.975 - 980, 2010.

5.2 - Resumos em Anais de Congresso:

Cruz, A.K M., Lima, M. A., Brito, A. S., Queiroz, L. S., Arimateia, D. S., Valente, A.P., Nader, H.B., Chavante, S.F., Andrade, G. P. V., Sales, M.P. e Oliveira, F.W. STRUCTURE AND INFLAMMATORY ACTIVITY OF ACIDIC GALACTAN FROM *Pomacea sp* In: XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq e XI Congresso da PABMB, 2008, São Paulo.

Cruz, A. K. M., Albuquerque, E.M.M., Evangelista, I.W.V., Santos, V.O., Brito, A.S., Vasconcelos, C. L., Torri, G., Chavante, S.F., Sales, M. P., Oliveira, F. W. STRUCTURE STUDIES OF ACIDIC GALACTAN FROM POMACEA SP In: XXXV Reunião Anual da SBBq, 2006, Águas de Lindóia-SP.

Cruz, A. K. M., Albuquerque, E.M.M., Evangelista, I.W.V., Brito, A.S., Andrade, G.P.V., Torri, G., Chavante, S. F., Sales, M. P., Oliveira, F.W. THE STRUCTURE OF ACIDIC GALACTAN FROM THE EGGS OF MOLUSC POMACEA SP In: VIII Reunião Regional da SBBq e 3rd International Symposium in Biochemistry of Macromolecules and Biotechnology-SBBq, 2006, Natal. Programas e Resumos da VIII Reunião Regional da SBBq 3rd International Symposium in Biochemistry of Macromolecules and Biothechnology. São Paulo: Adaltec Soluções para Eventos, 2006. v.1.

Cruz, a. K. M., Albuquerque, E.M.M., Souza, L.M., Brito, A.S. Bisio, A., Torri, G., Chavante, S.F., Leite, E.L. Sales, M.P., Oliveira, F.W. ESTRUTURAL ASPECTS OF THE ACIDIC GALACTAN FROM THE MOLLUSC POMACEA SP In: XXXIV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR, 2005, Águas de Lindóia, SP. XXXIV REUNIÃO ANUAL PROGRAMAS E RESUMOS. São Paulo: Adaltech Soluções para Eventos, 2005. v.1.

6 - ANEXOS

A análise de HPLC do galactano ácido mostrou uma relação molar na ordem de 5 moléculas de galactose para 1 molécula de glicosamina. Esta análise foi realizada em triplicata nas mesmas condições de solvente e concentração.

RELAÇÃO MOLAR	GLICOSAMINA	GALACTOSE
Extrato Galactano ácido	0,2015	1,0000

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alban S, Schauerte A, Franz G. Anticoagulant sulfated polysaccharides: Part I. Synthesis and structure-activity relationships of new pullulan sulfates. *Carb Pol.* 2002; 47(3): 267-276.
2. Leite EL, { HYPERLINK "http://lattes.cnpq.br/6466300269003304" \t "blank" } PM ; Oliveira GB. Sulfated fucan as support for antibiotic immobilization. *Braz J Med Biol Res.* 2004; 37: 301–305.
3. Nader HB, Ferreira TMPC, Paiva JF, Medeiros MGL, Jeronimo SMB, Paiva VMPP, Dietrich CP. Isolation and structural studies of heparan sulfates and chondroitin sulfates from three species of molluscs. *J Biol Chem.* 1984; 259:1431–5.
4. Nader HB, Oliveira FW, Jerônimo SMB, Chavante SF, Sampaio LO, Dietrich CP. Synchronized order of ppearance of hyaluronic acid (or acidic galactan) → chondroitin C-6 sulfate → chondroitin C-4/C-6 sulfate → heparan sulfate → dermatan sulfate → heparin during morphogenesis, differentiation and development. *Braz J Med Biol Res.* 1996; 29:1221-1226.
5. Cruz AKM, Pereira WO, et al. Comparative study between the effects of hyaluronic acid and acid galactan purified from eggs of the mollusk *Pomacea sp* in wound healing. *Acta Cirurg Bras.* 2004; 19(1): 13-17.
6. Pazur JH. Neutral polysaccharides. In: CHAPLIN, M. F.; KENNEDY, J. F. *Carbohydrate Analysis: A Practical Approach.* 2. ed. New York: Oxford University Press. 1994; 73-124.
7. Glazer NA, Nikaido H. Microbial Polysaccharides and Polyesters. In:_____. *Microbial Biotechnology: fundamentals of applied microbiology.* New York: W. H. Freeman. 1995; 265-272.
8. Boisson-Vidal C, Haroun-Bouhedja F, Ellouali M, Blondin C, Fischer AM, Agostini A, et al. Biological activities of polysaccharides from marine algae. *Drugs of the Fut* 1995; 20:1237–1249.
9. Farias WRL, Valente AP, Pereira MS, and Mourao PAS. Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans - Isolation of a unique sulfated galactan from the red algae *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans from invertebrates. *J Biol Chem.* 2000; 275: 29299–29307.
10. Cunha PLR, Paula RCM & Feitosa JPA. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunaidade de transformar conhecimento em valor econômico. *Quím Nova* [online]. 2009; 32(3): 649-660.

11. Cássaro CMF & Dietrich cp. The distribution of sulfated mucopolysaccharides in invertebrates. *J Biol Chem.* 1977; 252: 2254-2261.
12. Mathews MB. *Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics of Connective Tissue. Macromolar Structure and Evolution.* Germany. *Mol Biol Biochem and Biophys.* 1975; 19: 1-318.
13. Aquino RS, Landeira-Fernandes AM, Valente AP, Andrade LR, Mourão P AS. Occurrence of sulfated galactans in marine angiosperms: evolutionary implications. *Glycob.* 2005; 15(1): 11-20.
14. Percival EGV & Mac Dowell RH. *Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides.* London: Academic Press. 1967; 219.
15. Rodrigues JAG, Vanderlei ESO, Queiroz INL, Quinderé ALG & Benevides NMB. Purificação e atividade anticoagulante de glicosaminoglicanos isolados da pele da carpa comum, *Cyprinus carpio*. *Rev Ciênc Agron.* 2009; 40(3): 381-387.
16. Lahaye M. Development on gelling algal galactans, their structure and physico-chemistry. *J of App Phyc.* 2001; 13: 173–184.
17. Painter T. Algal polysaccharides. In: G.O. Aspinall, Editor, *The Polysaccharides 2*, Academic Press, New York .1983; 195–285.
18. Stortz CA and. Cerezo AS. Novel findings in carrageenans, agaroids and “hybrid” red seaweed galactans. *Curt Top Phyt.* 2000; 121–133.
19. Raven PH et al. *Biologia Vegetal.* 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001.
20. Van de Velde F & Ruitter GA. Carrageenan in E.J. Vandamme, S.D. Baets & A. Steinbèuchel (eds.) – *Biopolymers v. 6. Polysaccharides II, polysaccharides from eukaryotes*, Wiley, Chichester. 2002; 245-274.
21. McHugh DJ. A guide to the seaweed industry, *FAO Fisheries Technical Paper.* 2003; (44) 52-72.
22. Bilan MI, Vinogradova EV, Shashkov AS & Usov AI. Structure of a highly pyruvylated galactan sulfate from the Pacific green alga *Codium yezoense* (Bryopsidales, Chlorophyta). *Carb Res.* 2007; 342: 586–596.
23. Farias EHC, Pomin VH, Valente AP, Nader HB, Rocha H AO & Mourão PAS. A preponderantly 4-sulfated, 3-linked galactan from the green alga *Codium isthmocladum*. *Glycob.* 2008; 18: 250–259.
24. Rocha HAO, Franco CRC, Trindade ES, Carvalho LCM, Veiga SS, Leite EL, Dietrich CP and Nader HB. A fucan from the brown seaweed *Spatoglossum schröderi* inhibits Chinese hamster ovary cell adhesion to

- several extracellular matrix proteins. *Braz J Med Biol Res.* 2001; 34: 621–626.
25. Leite EL, Medeiros MGL, Rocha HAO, Farias GGM, Silva LF, Chavante SF, Dietrich CP and Nader HB. Structure and pharmacological activities of sulfated xylofucoglucuronan from the alga *Spatoglossum schröderi*. *Plant Sci.* 1998; 132: 215–228.
 26. Pereira MS, Mulloy B, Mourão PAS. Structure and anticoagulant activity of sulfated fucans. *J Biol Chem.* 1999; 274: 7656-7667.
 27. Soeda S, Kozako K, Iwata K and Shimeno H. Oversulfated fucoidan inhibits the basic fibro- blast growth factor-induced tube formation by human umbilical vein endothelial cells: its possible mechanism of action, *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1497: 127-134.
 28. Mauray S, Raucourt E, Chaubet F, Maiga-ravel O, Sternberg H, Fisher M. Comparative anticoagulant activity and influence on thrombin generation of dextran derivatives and of fucoidan fraction. *J. Biomater Sci Polymer Edn.* 1998; 9: 373-387.
 29. Rocha HA, Moraes FA, Trindade ES, Franco CR, Torquato RJ, Veiga SS, Valente AP, Mourao PA, Leite EL, Nader HB, Dietrich CP. Structural and haemostatic activities of a sulfated galactofucan from the brown alga *Spatoglossum schroederi*. An ideal antithrombotic agent? *J Biol Chem.* 2006; 280: 41278-41288.
 30. Giroux J, Matou S, Bros A, Tapon-bretonnière J, Letourneur D, Fischer A. Modulation of human endothelial cell proliferation and migration by fucoidan and heparin. *Eur. J. Cell Biol.* 1998; 77: 352-359.
 31. Rocha HAO. Caracterização de uma fucana da alga *Spatoglossum schroederi* e análise de suas atividades anti adesiva, anti migratória, anti proliferativa e antitrombótica. Tese Doutorado em Biologia Molecular–Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo. Natal 2002.
 32. Ruperez P, Ahrazem O, Leal JA. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 840-845.
 33. Gonzalez M, Alarcon B, Carrasco L. Polysaccharides as antiviral agents: antiviral activity of carrageenan. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987; 31:1388-93.
 34. Marchetti M, Pisani S, Pietropaolo V, Seganti L, Nicoletti R, O. Inhibition of Herpes simplex virus infection by negatively charged and neutral carbohydrate polymers. *J Chemother.* 1995; 7:90-6.

35. Witvrouw M, Declercq E. Sulfated polysaccharides extracted from sea algae as potential antiviral drugs. *Gen Pharmacol.* 1997; 29:497-511.
36. Kakuda TN. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity. *Clin Ther.* 2000; 22:685-708.
37. Jeanloz RW. The nomenclature of mucopolysaccharides. *Arthritis Rheum.* 1960; 3: 323-337.
38. Rademacher TW, Parekh RB, Dwek RA. Glycobiology. *Annu Rev Biochem.* 1988; 57:785–838.
39. Jackson RL, Busch SJ, Cardin AD. Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. *Physiol Rev.* 1991; 71:481–539.
40. Meyer, K. The chemistry and biology of mucopolysaccharides and glycoproteins. *Quant Biol.* 1938; 6:91-102.
41. Dietrich CP. A model for cell-cell recognition and control of cell growth mediated by sulfated glycosaminoglycans. *Braz J Med Biol Res.* 1984;17: 5-15.
42. Sugahara K and Kitagawa H. Recent advances in the study of the biosynthesis and functions of sulfated glycosaminoglycans. *Curr Opin Struct Biol.* 2000; 10: 518-527.
43. Jackson RL, Busch SJ, Cardin AD. Glycosaminoglycans: molecular properties, protein interactions, and role in physiological processes. *Physiol Rev.* 1991; 71:481–539.
44. Conrad HE. Heparin-Binding Proteins. San Diego, CA: Academic Press, 1998.
45. Volpi N & Maccari F. Purification and characterization of hyaluronic acid from the mollusc bivalve *Mytilus galloprovincialis*. *Biochimie.* 2003; 85(6), 619-625.
46. Heinegård D. Proteoglycans and more--from molecules to biology. *Intern J of Exper Pathol.* 2009; 90(6):575-86.
47. Lee JY, Spider AP. Hyaluronan: A multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Curt Op in Cell Biol.* 2000; 12(5), 581-586.
48. Iozzo RV, San Antonio JD. Heparan sulfate proteoglycans: heavy hitters in the angiogenesis arena. *J Clin Invest.* 2001; 108:349–355.

49. Dreyfuss JL, {HYPERLINK "http://lattes.cnpq.br/3274977342997227" \t "blank"}, Jarrouge TR, Cavalheiro RP, Sampaio, LO, {HYPERLINK "http://lattes.cnpq.br/7175631659428994" \t "blank"} Heparan sulfate proteoglycans: structure, protein interactions and cell signaling. *An Acad Bras Ciên.* 2009, 81: 409-429.
50. Volpi N, Maccari F. Electrophoretic approaches to the analysis of complex polysaccharides. *J Chromat B.* 2006; 834: 1-13.
51. Geller RL, Ihrcke NS, Maines J, Lindman BJ, Platt JL. Loss of heparan sulfate proteoglycans as a manifestation of cellular immunity in vivo and in vitro. *Transplant. Proc.* 1993; 25:144-145.
52. Kisilevsky R, Ancsin JB, Szarek WA, Petanceska S. Heparan sulfate as a therapeutic target in amyloidogenesis: prospects and possible complications. *Amyloid.* 2007; 14:21-32.
53. Holt CE, Dickson BJ. Sugar codes for axons? *Neuron.* 2005; 46:169-172.
54. Fareed J, Hoppensteadt DA, Bick RL. An update on heparins at the beginning of the new millennium. *Semin Thromb Hemost.* 2000; 26:5-18.
55. Casu B, Guerrini M, Torri G. Structural and conformational aspects of the anticoagulant and anti-thrombotic activity of heparin and dermatan sulfate. *Curr Pharm Des.* 2004; 10:939-949.
56. Alves AP, Mulloy B, Diniz JA and Mourao PAS. Sulfated polysaccharides from the egg jelly layer are species-specific inducers of acrosomal reaction in sperms of sea urchins. *J Biol Chem.* 1997; 272: 6965-6971.
57. Vilela-Silva ACES, Castro MO, Valente AP, Biermann CH and Mourão PAS. Sulfated fucans from the egg jellies of the closely related sea urchins *Strongylocentrotus droebachiensis* and *Strongylocentrotus pallidus* ensure species-specific fertilization. *J Biol Chem.* 2002; 277: 379-387.
58. Vilela-silva AC, Alves AP and Valente AP. Structure of the sulfated α -L-fucan from the egg jelly coat of the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*: patterns of preferential 2-O- and 4-O-sulfation determine sperm cell recognition. *Glycobiol.* 1999; 9: 927-933.
59. Ribeiro AC, Vieira RP, Mourão PA and Mulloy B. A sulfated α -L-fucan from sea cucumber. *Carboh Res.* 1994; 255: 225-240.
60. Jeronimo SMB, Dietrich CP, Nader HB. Structure of sulfated glycosaminoglycans synthesized during the ontogeny of the mollusc *Pomacea sp.* *Comp Biochem and Physiol- Part B: Biochem.* 1989; 93 (4): 899-903.
61. Dietrich CP, Paiva VMP, Jeronimo SMB, Ferreira TMPC, Medeiros MGL, Paiva JF and Nader HB. Characteristic distribution of heparin sulfates and
Cruz, AKM

chondroitin sulfates in tissues and organs of the Ampularidae *Pomacea* sp. Comp Biochem Physiol. 1983; 76(B): 695-698.

62. Clark RAF. Biology of dermal wound repair dermatological clinics. Invest. Dermatol. 1993; 11: 647- 661.
63. Schweigerer L. Basic fibroblast growth factor as a wound healing hormone. Trends Pharmacol Sci. 1988; 9:427-428.
64. Kondo T, Ohshima T, Mori R, Guan DW, Ohshima K, Eisenmenger W. Immunohistochemical detection of chemokines in human skin wounds and its application to wound age determination. Int J Legal Med. 2002; 116: 87–91.
65. Balbino CA, Pereira LM, Curi R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. Braz J Pharm Sci. 2005; 41(1): 27-51.

8 - ABSTRACT

The acidic galactan (AG) was obtained by extraction and proteolysis by acetone precipitation of the eggs of the mollusc *Pomacea lineata*. Its structure was elucidated by a combination of chemical analysis, the intrinsic viscosity and NMR spectroscopy 1D and 2D. Biological aspects of AG were evaluated by in vivo testing of healing and peritonitis induced (anti-inflammatory activity) and in vitro assays of cytotoxicity (MTT). This polymer showed a simple structure without the presence of sulfate and uronic acids in its structure. Its intrinsic viscosity and relative were evaluated at 0.44 ± 0.05 and 1.744 ± 0.07 dl.g⁻¹. Spectroscopy showed that the AG has a constitution composed predominantly of β -D-galactosis, and β -D-glucosamine-NAcetil that comes in a smaller proportion in chain. The character of this acidic polysaccharide is given by the presence of pyruvate in the molecule, forming a cyclic acetal of six states, located in β -D-galactosis. The involvement of AG in the healing process was evaluated and the histological analysis revealed that there was so early in the process of healing, a great stimulation of macrophages with granuloma formation. Suggesting that AG may have promoted the advance of biological events required for tissue healing. In the trial of the GA-induced peritonitis showed dose dependent, demonstrating the anti-inflammatory effect at concentrations above 20 mg/kg, and confirming its inflammatory character and the concentration of 1mg/kg. In vitro tests used in the GA concentration of 1000 μ g/mL showed proliferative activity by stimulating the growth of 3T3 cells, corroborating the findings in vivo and demonstrating the absence of cytotoxic activity.

Key words: Acidic Galactan, NMR, Peritonity, MTT.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)