



EFEITOS ANTICOAGULANTE E ANTITROMBÓTICO DE INIBIDORES PROTEOLÍTICOS VEGETAIS

Mirian Daiane de Oliveira, Bruno Salu, Luiz Gustavo Bernardes, Maria Luiza Vilela Oliva, Silvana Cristina Pando (Orientador)

e-mail: scpando@hotmail.com

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas-MS, Brasil

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

Área: Outros

Formato: Pôster

Os inibidores proteolíticos são metabólitos importantes em decorrência das múltiplas funções que exercem, destacando a sua relevância para a regulação da cascata de coagulação sanguínea e fibrinólise. A caracterização estrutural desses inibidores poderá contribuir tanto para a elucidação dos mecanismos de regulação desses processos como para a demonstração do seu potencial de aplicabilidade terapêutica. Os inibidores mais bem estudados são do tipo Kunitz e Bowman-Birk e são classificados de acordo com a especificidade pelas enzimas alvo, presença de pontes dissulfeto e número de sítios reativos. O objetivo do trabalho foi investigar o efeito de dois inibidores proteolíticos isolados de plantas, designados CfTI e DrTI, sobre o processo de coagulação sanguínea e sistema fibrinolítico. Os inibidores foram extraídos por meio de solução salina e precipitação com acetona gelada 80% e, posteriormente, purificados em colunas cromatográficas. O monitoramento do grau de pureza foi realizado por eletroforese em gel de poliacrilamida. A atividade inibitória foi realizada em condições padronizadas, na presença de substratos cromogênicos específicos. A ação dos inibidores na via extrínseca e intrínseca/comum, foi verificada pela realização dos ensaios TTPa e TP, como descrito na literatura. O efeito de DrTI em um modelo de trombose arterial carotídea foi avaliado em camundongos machos pretos C57/BL6, tratados com 0,5 mg/Kg e 2 mg/Kg de DrTI, utilizando a emissão laser até atingir 0,03 mL/min ou menos. Todos os experimentos foram realizados de acordo com as normas do COBEA e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP - CEP 0193/06. A análise estatística foi realizada pelo método não paramétrico, empregando o teste Kruskal-Wallis e comparações múltiplas Dunn's ($P < 0.05$). O tempo de oclusão arterial total foi registrado. Os resultados revelaram que ambos inibidores apresentaram massa molecular aparente de 20 kDa. CfTI e DrTI inibem tripsina mas não quimotripsina; sendo DrTI específico para calicreína plasmática humana e FXIa, mas não para FXa e plasmina. Ficou evidenciado que ambos os inibidores atuam sobre a via intrínseca e comum da coagulação sanguínea. O DrTI inibiu a agregação plaquetária e potencialmente preveniu a formação de trombos em camundongo. O CfTI e DrTI são inibidores tipo Kunitz, seletivos para serino proteases e ambos atuam na cascata de coagulação sanguínea sendo o DrTI também eficaz na formação de trombos.

Descritores: Inibidores; Serinoproteases; Coagulação Sanguínea.