



# MECANISMO DE LIBERAÇÃO DE ENZIMAS DE ÁCINOS PANCREÁTICOS INDUZIDA POR FOSFOLIPASES A<sub>2</sub> SECRETÓRIAS.

Ruzon, M C; Antunes, E;

Departamento de Farmacologia, Faculdade de Ciências Médicas

Email: monikaruzon@gmail.com

Apoio: Pibic/CNPq

Palavras chaves: Pancreatite Aguda – Fosfolipase A<sub>2</sub> – Amilase

## INTRODUÇÃO

❖ A pancreatite aguda (PA) é definida como um processo inflamatório agudo do pâncreas. Esta doença é benigna na maioria dos pacientes, mas em alguns casos pode levar a complicações fatais como insuficiência pulmonar, renal e circulatória levando à morte dos pacientes (BHATIA, 2005). Nos ácidos pancreáticos ocorrem os eventos iniciais e críticos da pancreatite aguda; por isso, foram desenvolvidas técnicas para o estudo dos ácidos, ou mesmo de células acinares isoladas.

❖ Há evidências de que as fosfolipases A<sub>2</sub> secretórias (sPLA<sub>2</sub>) exercem uma importante função no desencadeamento da pancreatite aguda. A atividade catalítica da PLA<sub>2</sub> no soro de pacientes com pancreatite aguda relaciona-se diretamente com a gravidade da doença, estando muito aumentada nas formas mais graves (FORMELA, 1995).

❖ As fosfolipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>s) são enzimas envolvidas na produção de mediadores pró-inflamatórios, como prostaglandinas, prostaciclina, tromboxano, leucotrienos, e fator de agregação plaquetária (PAF). As sPLA<sub>2</sub>s podem induzir efeitos pró-inflamatórios por, ao menos, três mecanismos diferentes: atividade enzimática, quantidade de sítios positivos e presença de um sítio farmacológico com participação de resíduos positivos (FRIESS, 2001).

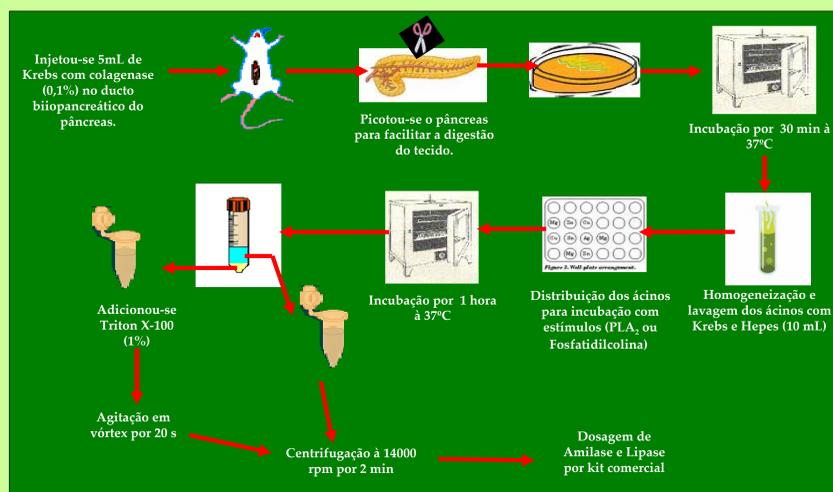
❖ Estudos prévios mostraram que, quando injetadas no ducto biliopancreático de ratos, sPLA<sub>2</sub> promove pancreatite aguda, acompanhada de hiperamilasemia e infiltrado neutrofílico pulmonar (CAMARGO et al., 2005, 2008). Porém, mecanismo de ação pelo qual as sPLA<sub>2</sub> causam pancreatite aguda precisa ser melhor esclarecido.

❖ O objetivo do presente trabalho foi investigar o efeito das sPLA<sub>2</sub> sobre os ácidos pancreáticos *in vitro*, analisando-se também o efeito da fosfatidilcolina, um subproduto das PLA<sub>2</sub>s, na estimulação dos ácidos pancreáticos. Visto que sPLA<sub>2</sub>s são capazes de interagir com sítios aniônicos nas membranas celulares (GAMBERO et al., 2002), testamos a hipótese de que as sPLA<sub>2</sub>s liberam amilase por interações eletrostáticas nos ácidos, usando-se a heparina (molécula polianiônica).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### ❖ Obtenção dos ácidos pancreáticos isolados e estimulação

Foram utilizados ratos machos Wistar, entre 150 – 200g. Os animais foram anestesiados com isoflurano e em seguida foram exsanguinados. Realizou-se uma laparotomia, cateterizando-se a porção hepática e clampeando a porção duodenal. O método de injeção no ducto biliopancreático de sPLA<sub>2</sub> de pâncreas porcino (ou HEPES) encontra-se mostrado no diagrama abaixo.



### ❖ Análise Estatística

Os dados foram expressos em percentagem como média ± E.P.M. para n experimentos. Os resultados serão analisados por análise da variância (ANOVA) seguido pelo teste modificado de Bonferroni. Valores de P<0.05 foram considerados significativos.

## RESULTADOS

### ❖ Liberação de amilase e lipase de ácidos pancreáticos pela associação entre a PLA<sub>2</sub> e a heparina.

Os ácidos pancreáticos estimulados com PLA<sub>2</sub> (0,01 – 0,3 µg/mL, 1 h) foram capazes de liberar quantidades significativas de amilase e de lipase (Fig. 01). A pré-incubação com heparina (10 – 300 U/mL, 10 min) promoveu diminuição significativa na liberação de amilase induzida pela sPLA<sub>2</sub>, sem modificar a liberação de lipase.

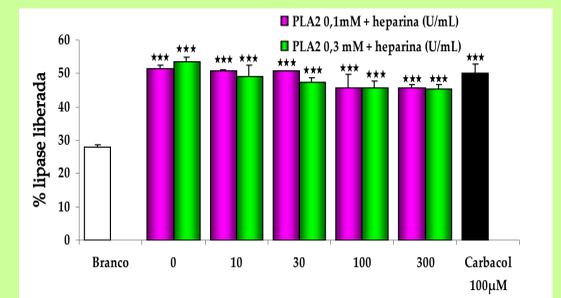
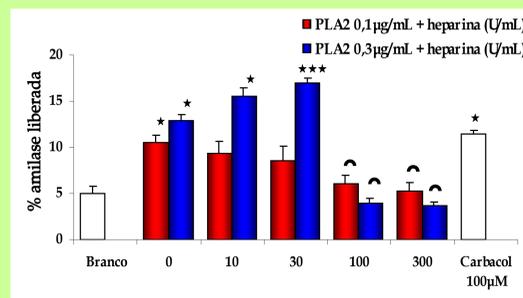


Fig. 01: Liberação de amilase e lipase de ácidos pancreáticos pela associação entre a PLA<sub>2</sub> e a heparina. Cada barra representa a média de 3 experimentos realizados em triplicata. \*P<0.05 em relação ao controle. ΩP<0,05 em relação à PLA<sub>2</sub> sem associação com heparina.

### ❖ Liberação de amilase e lipase de ácidos pancreáticos pela fosfatidilcolina

Os ácidos pancreáticos estimulados com fosfatidilcolina (0,01 – 30 µg/mL, 1 h) não produziram liberação significativa de amilase e de lipase (Fig. 02). O controle positivo, carbacol 100 (µM), induziu liberação significativa de ambas enzimas.

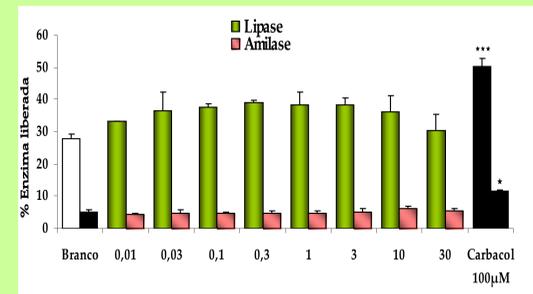


Fig. 02: Liberação de amilase e lipase de ácidos pancreáticos estimulados com fosfatidilcolina. Cada barra representa a média de 3 experimentos realizados em triplicata. \*P<0.05 em relação ao controle.

## CONCLUSÃO

❖ A sPLA<sub>2</sub> (mas não a fosfatidilcolina) foi capaz de induzir liberação de amilase e de lipase de ácidos isolados de ratos.

❖ A heparina, nas concentrações 10 e 30 U/mL, não alterou significativamente a liberação de amilase, mas promoveu diminuição significativa da liberação de amilase nas concentrações de 100 e 300 U/mL.

❖ A heparina não alterou a liberação de lipase induzida pela sPLA<sub>2</sub>.

❖ Os resultados sugerem que a interação eletrostática entre as sPLA<sub>2</sub> e a membrana celular dos ácidos pancreáticos é importante para a liberação de amilase, que podem levar à lesão do pâncreas, culminando com a pancreatite aguda.

## REFERÊNCIAS

- ❖ BHATIA M.; Pathophysiology of acute pancreatitis. *Pancreatology.*; 2005; 5(2-3):132-44
- ❖ CAMARGO E A, Characterization of the acute pancreatitis induced by secretory phospholipases A<sub>2</sub> in rats. *Toxicol*, 2005 Dec 15;46(8):921-6
- ❖ CAMARGO E A Role of substance p and bradykinin in acute pancreatitis induced by secretory phospholipase A<sub>2</sub>. *Pancreas*. 2008, Jul;37(1):50-5.
- ❖ FORMELA L J; Inflammatory mediators in acute pancreatitis. *Br J Surg*; 1995; 82:6 13.
- ❖ FRIESS H; Phospholipase A<sub>2</sub> Isoforms in Acute Pancreatitis. *Ann Surg*. 2001, February; 233(2), 204-212.
- ❖ GAMBERO A, Human neutrophil migration in vitro induced by secretory phospholipases A<sub>2</sub>; a role for cell surface glycosaminoglycans. *Biochem Pharmacol*; 2002 63(1):65-72.