

PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEOS: UM ENFOQUE NA LEVANA E OS POTENCIAIS DISPOSITIVOS DE

Leandro Freire dos Santos

Farmacêutico Industrial pela Universidade Estadual de Maringá – UEM; Mestre em Biotecnologia pela Universidade Estadual de Londrina – UEL; Doutorando em Processos biotecnológicos pela Universidade Federal do Paraná - UFPR. E-mail: leandrofreire@onda.com.br

Oswaldo Albuquerque Cavalcanti

Pós-doutor pela Universidad Navarra - Espanha; Doutor pela Universidade de São Paulo – USP; Mestre em Bases physicochimiques en innovation pharmaceutique na Faculté de Pharmacie de Montpellier - França; Docente Associado da Universidade Estadual de Maringá – UEM. E-mail: osvaldoalbuquerque@gmail.com

Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi

Mestre em Ciências Biológicas - Biologia Vegetal pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; Doutor em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; Docente associada na Universidade Estadual de Londrina – UEL; Diretora de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Londrina – UEL. E-mail: macelligoi@uel.br

RESUMO: Aspectos referentes à produção e aplicação de exopolissacarídeos serão analisados neste trabalho. Tais informações são necessárias para otimizações de produção e aplicações futuras. Neste âmbito, a revisão abordará especificamente a levana e um destacado e novo campo de atuação dos exopolissacarídeos: a liberação modificada de fármacos. Estas novas biomoléculas têm contribuído para a liberação modificada de fármacos, principalmente na modelação da liberação do ativo com benefício direto na melhora da eficiência terapêutica.

PALAVRAS-CHAVE: Exopolissacarídeos; Levana; Liberação Modificada de Fármacos.

PRODUCTION AND USE OF EXOPOLYSACCHARIDS: LEVAN POLYSACCHARIDE AND THE MODERATE PERMISSION POTENTIAL OF DRUGS

ABSTRACT: The production and use of exopolysaccharides are analyzed and the information obtained may be employed for the improvement of their production and future use. Levan polysaccharide will be discussed and a new field of exopolysaccharides will be highlighted, namely, a modified use of drugs. The new bio-molecules have contributed towards a modified use of drugs mainly according to a usage model of the active principal with direct benefits in the improvement of therapeutic efficiency.

KEYWORDS: Exopolysaccharides; Levan; Modified Drug Use.

INTRODUÇÃO

A biotecnologia tem crescido grandemente nesta última década. Biomoléculas potenciais, originadas da biodiversidade brasileira, têm se mostrado de grande valia nas mais variadas

aplicações industriais. Dentre essas aplicações estão a aplicação de exopolissacarídeos, na indústria alimentícia, como aditivos na melhora da viscosidade e elasticidade dos alimentos (DUBOC; MOLLET, 2001). Nesta última década nota-se uma potencial aplicação destas novas biomoléculas: dispositivos para liberação modificada de fármacos.

Tais sistemas para liberação modificada de fármacos oferecem ao paciente um melhor gerenciamento na liberação do medicamento. Esta possibilidade de melhor modulação da liberação do ativo poderá trazer melhorias na resposta terapêutica de substâncias farmacologicamente ativas, bem como a redução dos seus efeitos adversos (SINHA et al., 2004). Exopolissacarídeos têm se destacado, nos últimos anos, no desenvolvimento de novos sistemas de liberação modificada de fármacos. Sinha, Mittal e Kumria (2005), desenvolveram e avaliaram um processo de revestimento por compressão à base de xantana; um exopolissacarídeo produzido por fermentação da bactéria *Xanthomana campestris*.

Considerando a importância dos exopolissacarídeos na economia mundial, esta revisão objetivou uma análise crítica sobre aspectos gerais referentes à produção e aplicação destas biomoléculas. Destaque será dado à levana, um promissor exopolissacarídeo, e a aplicação deste em dispositivos de liberação modificada de fármacos pela indústria farmacêutica.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 LEVANA

Os exopolissacarídeos (EPS) são polímeros de carboidratos que podem ser amplamente produzidos por diferentes microrganismos. Os polissacarídeos extracelulares, ou exopolissacarídeos, podem ser excretados diretamente para o meio de cultura sob a forma de muco, ou então encontrar-se na forma de camada aderente à volta da parede celular a qual se denomina cápsula (SUTHERLAND, 1972).

A levana é um polissacarídeo extracelular constituída predominantemente por resíduos de D-frutose, unidos por ligações glicosídicas β -(2 \rightarrow 6); podendo ainda apresentar pontos de ramificações β -(2 \rightarrow 1) e um resíduo de glucose terminal (ARVIDSON; RINEHART; GADALA-MARIA, 2006). Pode ser classificada como fruto-oligossacarídeo quando é constituída por uma cadeia curta de resíduos de D-frutose. É encontrada

principalmente em microrganismos gram positivos, embora alguns gram negativos a produzam (SACHA et al, 2001). Há relatos da presença de levana em plantas (MALLEUX; VAN DEN ENDE, 2007).

A levana é um biopolímero com alta estabilidade. Bekers e colaboradores (2005) estudaram a estabilidade da levana, produzida pela *Zymomonas mobilis*, em diferentes pH's e temperaturas, em meio líquido. Esses autores objetivaram avaliar a integridade do EPS em culturas líquidas sob diferentes condições, bem como estudar o comportamento hidrolítico da levana. A levana não foi degradada quando estocada por 120 h a 25 ou 30°C, porém a 55 ou 60°C sua degradação foi inversamente proporcional ao pH. A hidrólise com ácidos orgânicos (lático, acético e glucônico) asseguraram maior formação de monômeros de frutose; enquanto que a hidrólise da levana por HCl assegurou altas quantidades de fruto-oligossacarídeos e levana de baixa massa molar. A produção metabólica da levana acompanha a curva de crescimento da biomassa (SHIH et al., 2005).

A levana apresenta-se como prebiótico. Os prebióticos são alimentos não digeríveis e que estimulam o crescimento e a atividade metabólica das bactérias colônicas, presentes no intestino grosso. A levana é produzida pelos microrganismos, como forma de reserva energética e defesa. Apresenta ainda baixa viscosidade e alta solubilidade em água (BORSARI et al., 2006; PAULA et al., 2008).

A levana é formada através das reações de transfrutossilacção catalisadas pela levanasacarase (sacarose: 2,6 – β D frutana: 6 β D frutossil transferase: EC. 2.4.1.10). Os resíduos frutofuranosil, da sacarose, são transferidos para uma frutose como acceptador. Esta transferência ocorre por meio da formação de ligações entre o carbono 2 do resíduo frutofuranosil e o carbono 6 da frutose (YAMAMOTO et al., 1985). Neste estudo, ainda, um parâmetro foi essencial para a determinação da massa molar da levana: a força iônica. A supressão da força iônica foi observada como condição para a síntese de levana de alta massa molar. Gorrec e colaboradores (2002) atribuíram três atividades para a levanasacarase; frutossiltransferase, sacarase e fruto-polimerase. Abdel-Fattah, Mahmoud e Esawy (2005) verificaram que a levanasacarase é produzida de modo induzível e era constitutiva, no *Bacillus subtilis* NRC 33a, quando usado sacarose e glucose como fontes de carbono respectivamente.

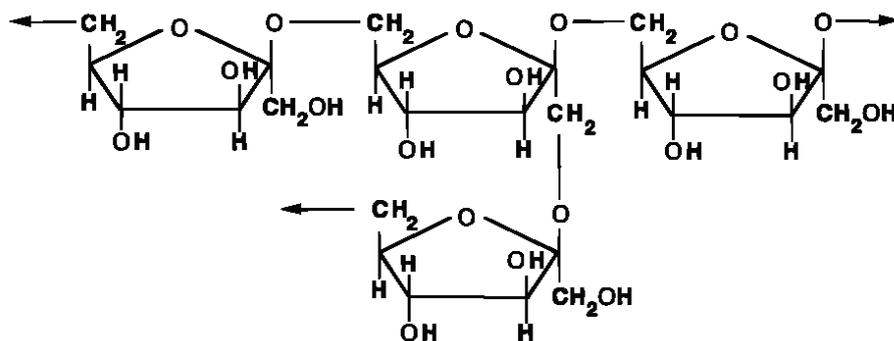


Figura 1 Estrutura linear da levana e suas ramificações. Ligações principais do tipo β (2-6) e ramificações (β 2-1)
Fonte: Simms, Bokyó e Edwards (1990)

Diversos microrganismos se destacam pela produção de levana, dentre eles *Erwinia herbicola*, *Erwinia amylovora*, *Acetobacter suboxydans*, *Gluconobacter oxydans*, *Rhanelia aquatilis*, *Bacillus subtilis* NATTO, *Actinomyces viscous*, *Zymomonas mobilis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus polymyia*, *Aerobacter levanicum*, *Streptococcus* sp., *Pseudomonas* sp. e *Corynebacterium laevaniformans* (BATISTA, 2006).

Euzenat, Guilbert e Combes (1996) destacaram um bom rendimento, na produção de levana, pelo *B. subtilis*. A bactéria *B. subtilis* é um bacilo encontrado naturalmente no solo e é considerado um modelo de estudos, para bactérias gram-positivas, devido ao grande conhecimento das suas características genéticas e fisiológicas. Apresenta ainda as vantagens de não apresentar patogenicidade, não colonizar tecidos e possui boa capacidade de formação de esporos (HARWOOD, 1992). O *B. subtilis* tem sido aplicado em diversas abordagens na indústria farmacêutica como a produção de antígenos de interesse na fabricação de vacinas (PACCEZ, 2007).

3 PRODUÇÃO DE LEVANA

A quantidade de EPS, produzido pelos microrganismos está intimamente relacionada com as condições específicas de crescimento celular e com a composição do meio de cultura. Singh e Fett (1995) afirmaram que o aumento da osmolaridade e a desidratação são importantes fatores na produção de EPS; em especial o alginato e a levana. A adição de NaCl e etanol, visando ao aumento da osmolaridade e desidratação no meio de cultura, aumentaram a capacidade de produção de levana na *Pseudomonas* pv. *phaseolicola*. Fungos também podem produzir EPS, embora em quantidades muito menores (WU; MAU; LIANG, 2008).

Alguns fatores podem prejudicar negativamente a

produção de EPS, como a presença de açúcares redutores e contaminações. A presença de glicose e frutose, no meio de cultivo, podem reduzir a obtenção de EPS na faixa de 50-80% (ANANTHALAKSHMY; GUNASEKARAN, 1999). As corretas técnicas de manipulação microbiana também devem ser observadas para se obter melhores rendimentos de EPS. A falta de técnicas apropriadas de manipulação microbiana pode promover a produção de metabólitos indesejáveis, bem como o crescimento de microrganismos contaminantes, que são capazes de degradar o EPS produzido. Microrganismos contaminantes, como o *Arthrobacter ureafaciens*, podem degradar a levana através da expressão de frutotransferases; reduzindo o rendimento da levana (TANAKA, 1989).

A produção enzimática da levana foi inicialmente descrita por Hestrin, Shapiro e Aschner (1943) em cepas de *B. subtilis*, *B. polymyxa* N.C.T.C. 4744 e *Aerobacter levanicum* (característica de Jerusalém). A produção de levana foi analisada após precipitação do EPS com etanol a 72% seguida de hidrólise ácida; a estimativa da frutose foi realizada colorimetricamente. As três espécies estudadas produziram levana a partir de sacarose e rafinose. A levanasacarase, produzida pelo *B. subtilis*, foi produzida de modo adaptativo (exocelular) a um meio saturado com o açúcar. Os outros microrganismos estudados apresentaram esta enzima de modo constitutivo. A produção de levana foi realizada em meio com 10% de sacarose por 4 dias a 30°C; atingindo a concentração de 12,5%.

Em 1945, Avineri-Shapiro e Hestrin avaliaram a produção de diferentes polissacarídeos a partir da sacarose, por *Aerobacter levanicum*. O principal objetivo deste trabalho foi estudar as variáveis que foram mais significativas para se obter um bom rendimento de levana. O primeiro parâmetro estudado foi o pH onde se constatou uma curva de pH-atividade regular e simétrica, na faixa de 5,0-5,8, para a levanasacarase. Nesta

mesma faixa de máxima atividade enzimática da levanasacarase, obteve-se também máximo rendimento de levana; em torno de 250 mg/100 mL/5 h. O pH ideal, para a produção do EPS, deve ser aquele que permite o melhor crescimento do microrganismo e melhor atividade da enzima envolvida (PRASERTSAN et al., 2008).

A concentração de sacarose também influenciou no rendimento da levana. Verificou-se que a atividade enzimática da levanasacarase crescia exponencialmente até 3 % de sacarose. A partir de 3%, a atividade enzimática entraria numa fase estacionária atingindo o rendimento máximo de 300 mg/100mL. A concentração enzimática também apresentou efeito na atividade específica da levanasacarase. A partir de 0,5 mL da enzima, em 3 mL da mistura reacional, a obtenção da levana passou a ser constante em 300 mg/100mL. Tal fato ocorreu pela perda da especificidade enzimática.

Em 1955, Mattoon e colaboradores estudaram a síntese de levana bacteriana de massa molar intermediária (25.000 a 200.000 Da), para aplicação como extensores plasmáticos. Inicialmente, realizou-se uma seleção dentre 850 espécies de culturas isoladas. Sete apresentaram as condições ideais para serem usados para aumentar o volume plasmático. O *B. subtilis* foi um grande candidato, dentre as sete espécies selecionadas. Verificaram-se então algumas condições que influenciaram no rendimento da levana. A porcentagem do inóculo foi um parâmetro importante para se obter melhores rendimentos de levana. A quantidade de inóculo ideal foi de 2% com 24 h de fermentação a 30°C. Obtiveram quantidades em torno de 8,4 mg/mL de levana.

A temperatura também demonstra ser um parâmetro importante para se obter maior rendimento de levana. O comportamento da fermentação diferenciou consideravelmente quando a temperatura de incubação foi variada em apenas 5°C. Foram testadas duas temperaturas para a incubação: 25 e 30°C. Os dados indicaram que a produção de levana, a temperaturas baixas, é muito mais favoráveis para o *B. subtilis*; 9,3 mg/mL à 25°C/ 24 h e 6,8 mg/mL à 30°C/24 h. O pH também influenciou na obtenção da levana; a melhor faixa da ação enzimática estava entre 5,3-5,5, obtendo-se aproximadamente até 27 mg/mL.

Em 1983, Park, Mortatti e Sato estudaram a produção da levana, a partir de sacarose, utilizando a *Zymomonas mobilis*. Observaram que a variação de apenas 5°C na temperatura de incubação foi o suficiente para reduzir significativamente

a produção de levana; pode-se afirmar que a levanasacarase apresenta uma expressão termo-responsiva (LI et al., 2006).

As condições de produção podem influenciar na solubilidade da levana; parâmetro observado no processo produtivo e aplicação industrial. *Bacillus licheniformis* podem produzir uma levana, insolúvel em água, com potencial aplicação na recuperação de óleo. Este EPS auxilia na obstrução dos poros do solo, durante o processo de recuperação do óleo. A insolubilidade é essencial para que o fluxo de água, presente no solo, não remova o EPS. Os parâmetros observados para a produção da levana, insolúvel em água, foram em temperaturas menores que 55°C, pH entre 6 e 9, pressão menor que 500 atm e concentração de sais a 4% (RAMSAY; COOPER; NEUFIELD, 1989; GHALY et al., 2007).

Em 1991, Takahama, Kuze e Okano caracterizaram a levanasacarase do *Bacillus natto*. A condição otimizada enzimática observada foi no pH 6,2 a 35°C, na produção de lactosacarase. A enzima permaneceu estável na faixa de pH 5,5-7,0 até 35°C.

Em 1992, Han e Watson verificaram diferentes fontes de carbono na produção da levana microbiana. Os autores utilizaram a sacarose, caldo de cana e melão de beterraba; utilizando o *Bacillus polymyxa*. O microrganismo converteu aproximadamente 46% da frutose, no meio contendo sacarose, em levana. Entretanto, o rendimento da levana foi muito menor nos meios que continham caldo de cana e melão de beterraba.

Em 1996, Euzenat, Guilbert e Combes estudaram a produção de fruto-oligossacarídeos, pela levanasacarase obtida de *B. subtilis*. Duas variáveis foram avaliadas quanto à produção de levana; a temperatura e a concentração de sacarose. Foram testadas duas temperaturas, 37°C e 60°C e as seguintes concentrações de sacarose, 1; 1,3; 1,8; 2,25 e 2,6 molar. Os melhores rendimentos da produção de levana (31,7%) foram obtidos nos valores 1,8 molar de sacarose, a 37°C, com 9,5 h de fermentação. As análises de HPLC também demonstraram que a levanasacarase produziu simultaneamente tanto a levana quanto fruto-oligossacarídeos (GP<50).

Choi, Sung e Choi (2001) verificaram a produção de uma substância viscosa numa comida típica coreana, o chungkookjang ou soja fermentada; também conhecida como Natto no Japão. Através de estudos de filogenia descobriu-se que o produtor dessa substância era o *Bacillus subtilis* BS62. Extratos da soja fermentada foram precipitados com etanol, hidrolisadas com

HCl 0,1 N ou invertase; em seguida o hidrolisado foi analisado em cromatografia de camada delgada e troca-iônica. Verificou-se que esta substância viscosa se tratava da levana. Os extratos da soja fermentada foram obtidos fermentando-se a soja a 37°C com um dia de cultivo.

Shih e colaboradores (2005) estudaram a produção e caracterização de levana, produzida pelo *B. subtilis*, isolada do Natto. Foram utilizados 20% (p/p) de sacarose com 21 h de fermentação. O rendimento da levana foi entre 40-50 mg/mL. O produto consistiu em duas frações com diferentes massas molares (1794 e 11 KDa); a quantidade da levana de maior massa molar declinava com o aumento do tempo de fermentação. Porém, ambas as levanas, de maior e menor massa molar, eram produzidas simultaneamente.

Recentemente tem-se usado o planejamento fatorial e a metodologia de superfície de resposta para a otimização da produção de metabólitos de interesse. Um planejamento fatorial permite avaliar as contribuições de múltiplos fatores em uma ou mais respostas. Pode-se realizar um delineamento fatorial completo ou fracionado com vários fatores em diferentes níveis. A superfície de resposta modela os fatores com a resposta obtida; o objetivo é otimizar esta resposta. Rahulan e colaboradores (2009) otimizaram a produção de uma peptidase de *Streptomyces gedanensis* modulando os fatores concentração do substrato, NaCl e pH inicial.

Oliveira e colaboradores (2007) realizaram um planejamento fatorial para a produção de levana, a partir de *Zymomonas mobilis*, utilizando fontes de baixo custo e regionais de carboidratos. Os autores utilizaram a sacarose comercial, caldo e melão de cana de açúcar como fontes de carbono. Os resultados indicaram a obtenção de 21,7; 15,5 e 2,6 g/L de levana para a sacarose comercial, melão e caldo de cana de açúcar, respectivamente. O crescimento da biomassa, no caldo de cana de açúcar, foi 2,76 vezes maior em sacarose; justifica-se sua escolha mesmo com o rendimento menor. Segundo os autores, a avaliação de certas variáveis, numa resposta independente, torna-se necessária para não ocorrer uma suplementação desnecessária dos meios de culturas; minimizando custos.

Melo; Pimentel e Calazans (2007) otimizaram a produção de levana por um planejamento fatorial 2^{4+1} variando as condições de fermentação. Todos os fatores testados: concentração de sacarose, temperatura e agitação, influenciaram a produção de levana.

Borsari e colaboradores (2006) estudaram a influência das fontes de carbono na produção de levana por *Zymomonas mobilis*. Os autores utilizaram um modelo fatorial 2^3 com um total de 8 experimentos. Os fatores estudados foram o processo de fermentação e a concentração de caldo de cana de açúcar e de sacarose em g/L; as suas interações também foram consideradas. Os resultados demonstraram que o fator caldo de cana teve um efeito positivo nas variáveis respostas. A melhor produção foi de 40,14 g/L em 150 g/L de sacarose em fermentação batelada.

4 APLICAÇÃO DOS EXOPOLISSACARÍDEOS

Os exopolissacarídeos, produzidos por microrganismos, apresentam ampla aplicabilidade em diferentes setores da economia. Estes polissacarídeos bacterianos e fúngicos tornam-se vantajosos para o emprego industrial; pois apresentam propriedades semelhantes às do agar e características reológicas que os tornam desejáveis na indústria. Grande aplicação pode ser observada na indústria alimentícia; contribuem principalmente para o aumento da textura, viscosidade e elasticidade dos alimentos (DUBOC; MOLLET, 2001).

Viñarta e colaboradores (2006) determinaram a capacidade dos exopolissacarídeos, produzidos pelo *Sclerotium rolfsii*, na redução da sinerese experimentada por massas cozidas durante o processo de refrigeração. Houve completa inibição ou redução de 91% da sinerese com o uso dos EPS. Tais habilidades permitem que o produto alimentício seja conservado por mais tempo sem comprometimento das suas propriedades funcionais e sensoriais. Esses autores ainda avaliaram a viscosidade oferecida pelos EPS a diversos solventes. Houve um aumento da viscosidade em solventes como a água, leite integral e desnatado, além da caracterização de um comportamento pseudoplástico. Estas propriedades podem ser interessantes na melhora sensorial dos alimentos.

A indústria oleífera também se beneficia do uso de EPS. Shah e Ashtaputre (1999) avaliaram as propriedades reológicas dos EPS, produzidos pelo *Sphingomonas paucimobilis* GS1, na exploração de óleo. Verificaram que os EPS podem melhorar as propriedades do fluxo do fluido, utilizado na perfuração, durante o processo de extração do óleo. Os exopolissacarídeos aumentaram a habilidade de suspensão do sedimento, perfuração e tixotropia do fluido de perfuração. Tais propriedades permitem que a exploração de óleo seja mais eficiente. O processo de recuperação do óleo também pode

ser aumentado com a aplicação de EPS. *Bacillus licheniformis* podem produzir uma levana, insolúvel em água, com potencial aplicação na recuperação de óleo. Este EPS auxilia na obstrução dos poros do solo durante o processo de recuperação do óleo. A insolubilidade é essencial para que o fluxo de água, presente no solo, não remova o EPS (RAMSAY; COOPER; NEUFIELD, 1989; GHALY et al., 2007).

Exopolissacarídeos microbianos podem, ainda, ser aplicados em técnicas de imobilização enzimática. Cavalcante, Carvalho e Cunha (2006) imobilizaram covalentemente a tripsina sobre uma membrana produzida pela *Zoogloea sp.*, em melão de cana. Os resultados fornecidos pelos filmes de EPS, obtidos da *Zoogloea sp.*, na imobilização da tripsina foram satisfatórios. As enzimas apresentaram maior estabilidade térmica quando comparada com a enzima nativa e não demonstraram diminuição da atividade após sete ciclos de reutilização.

O uso destes filmes, obtidos a partir de EPS, vão além da sua aplicação na enzimologia. Estas películas podem ser incorporadas em camadas protetoras e em embalagens de alimentos devido à sua potencialidade em aumentar a vida de prateleira de alimentos. Um prazo de validade maior significa maiores chances de lucro para as indústrias. Nesta perspectiva, pesquisadores aplicaram o EPS Kefirana na fabricação de biofilmes e avaliaram as variáveis que influenciam nas características reológicas dos filmes (PIERMARIA et al., 2009).

A preocupação ambiental tem crescido enormemente, na última década, com o objetivo do desenvolvimento sustentável. Para tal, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas eficientes de descontaminação. Destaca-se a biorremediação que consiste na utilização de seres vivos, ou seus componentes, na recuperação de áreas contaminadas (KALOGERAKIS; PSILLAKIS; ALVAREZ, 2005; JÖRDENING; WINTER, 2005). Shah e colaboradores (2000) produziram e caracterizaram um exopolissacarídeo produzido por uma cianobactéria marinha, a *Cyanothece sp.*. Concluiu-se que o fenômeno de gelificação, produzido pelo EPS, tem potencial aplicação na remoção de metais de soluções. Mais de 90% do níquel, cobre e cobalto puderam ser removidos de soluções contendo, respectivamente, 22,5, 17,5 e 5,0 mg destes metais. Os exopolissacarídeos, produzidos pela *Cyanothece sp.*, constituem então uma alternativa para descontaminação de soluções contendo estes metais.

Yim e colaboradores (2007) caracterizaram o modelo de biofloculação do EPS p-KG03 da *Gyrodinium impudicum*.

Floculantes microbianos são uma alternativa para a solução de problemas ambientais, pois promovem a agregação de partículas e células em sua malha polimérica e neutralizam a carga das suas moléculas. Podem se beneficiar, para o tratamento de resíduos, as indústrias do campo químico, alimentício, processamento de minerais, bem como o tratamento da água. O EPS p-KG03 apresentou, como agente biofloculante, mais de 90% de atividade floculante em suspensões de Kaolin 0,5 mg/L – 1,0 mg/L, mesmo em baixas concentrações. Além de apresentar estabilidade química em pH ácido (3,0-6,0), ampla faixa de temperatura (4-90°C) e na presença de agentes catiônicos.

A levana apresenta ampla aplicação industrial e tecnológica. Tem grande destaque para indústria alimentícia, onde ela é utilizada como estabilizante e fixador de sabores e cores e como espessante para vários alimentos, inclusive pode ser usada na elaboração de produtos dietéticos por ser um polímero de frutana (HARRINGTON; HEYL, 1999).

A aplicação clínica da levana remonta desde a década de 50. Mattoon e colaboradores (1955) realizaram a síntese bacteriana de levana de massa molar intermediária, para aplicação como extensores plasmáticos. Sete cepas apresentaram polissacarídeos com taxas adequadas de pressão osmótica e quociente de viscosidade para aumentar o volume plasmático. A sua aplicação clínica tem sido cogitada diante das características funcionais no organismo humano. Pode ser aplicada como agente anticarcinogênico e hipocolesterolemizante; auxiliando assim tratamentos terapêuticos convencionais (OLIVEIRA et al., 2007).

Calazans e colaboradores (2000) relacionaram a atividade antitumoral da levana com a massa molar do EPS. Ocorreu uma faixa de massa molar com máxima atividade contra o tumor. Nenhuma explicação satisfatória foi encontrada para relacionar a massa molar com a atividade antitumoral.

Maciel (2008) realizou a síntese e caracterização de partículas de levana-magnetita. Neste estudo, a levana foi utilizada como revestimento de partículas de magnetita e caracterizada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), magnetometria, difração de raios-X (DRX) e espectroscopia na região do infravermelho (IV). Partículas magnéticas como a magnetita, revestida com polissacarídeos, estão sendo usadas em número crescente de aplicações médicas (meios de contraste, para imagem de ressonância magnética ou o tratamento de câncer). O revestimento da magnetita, com polímeros, confere estabilidade às partículas magnéticas, principalmente em meio

fisiológico.

EPS têm se destacado também em aplicações em dispositivos de liberação modificada de fármacos, na indústria farmacêutica. Estes polímeros naturais são preferidos, em detrimento de polímeros sintéticos, devido ao baixo custo, alta disponibilidade e ausência de toxicidade (BRESOLIN et al., 2003). Os polímeros microbianos apresentam propriedades desejáveis para a indústria farmacêutica. Podem atingir altas produções em condições adequadas, obter EPS específicos através de técnicas genéticas, produção pode ser controlada e não dependem de condições climáticas etc. Dentre os polissacarídeos microbianos, a gelana, xantana e escleroglucana têm sido empregadas com resultados promissores no controle da liberação de fármacos.

A gelana é um polímero aniônico, secretado por *Pseudomonas elodea*, comercialmente disponível (Gelrite® e Kelcogel®) (BRESOLIN et al., 2003). Kumar, Satish e Shivakumar (2008) elaboraram um implante para a liberação do fármaco metotrexato baseado na gelana. Este medicamento é um antagonista do ácido fólico interferindo na síntese de DNA; é usado para tratamentos de câncer e doenças autoimunes. O implante era formado de múltiplas camadas de álcool polivinílico, quitosana e gelana. Os resultados in vivo demonstraram que o metotrexato foi liberado vagarosamente por um período de trinta dias, bem como não houve a formação de cápsula fibrosa ao redor do implante.

A xantana é um exopolissacarídeo produzido por fermentação da bactéria *Xanthomana campetris*. Sua estrutura primária é composta de uma cadeia principal de unidades de glucose unidas por ligações β (1 à 6). Pode ocorrer a formação, em unidades alternadas, de uma cadeia lateral composta de um trissacarídeo formado por unidades de β -D-manose, β -D-ácido glucurônico e α -D-ácido manurônico (BRESOLIN et al., 2003). Sankalia, Sankalia e Mashru (2008) estudaram a liberação modificada da glipizida, através de uma matriz de comprimido constituída do EPS xantana. A glipizida é um hipoglicemiante oral utilizado para pacientes que possuem diabetes. Os resultados sugeriram que a matriz do comprimido, constituída de xantana, promoveu uma liberação in vitro sustentada e constante da glipizida por 12 h.

A escleroglucana é um polissacarídeo exocelular secretado pelo *Slerotium rolsii* e apresenta uma cadeia principal formada por unidades de glucose, unidas por ligações β (1 à 6) (BRESOLIN et al., 2003). Casadei e colaboradores (2007),

sintetizaram e caracterizaram um gel derivado da escleroglucana. Este gel objetivava a liberação modificada do Aciclovir. O aciclovir é um agente antiviral altamente ativo in vitro contra o vírus Herpes simplex (VHS), tipos 1 e 2, e o vírus Varicela zoster (VVZ). Os resultados sugeriram que este gel poderá ser usado para formulações de uso tópico e implantes in situ.

5 LIBERAÇÃO MODIFICADA DE FÁRMACOS

A liberação modificada de fármacos é a área do conhecimento que estuda dispositivos que possuem uma liberação sustentada e/ou uma liberação controlada do fármaco. O objetivo da liberação sustentada é manter a concentração plasmática do fármaco a níveis constantes, bem como por tempos prolongados. A liberação do fármaco, nestes sistemas de liberação sustentada, pode demorar dias até anos (JANTZEN; ROBINSON, 1996).

Nesta perspectiva, Ughini e colaboradores (2004) desenvolveram e avaliaram uma matriz de liberação sustentada composta de xantana e galactomanana substituída, originárias, respectivamente, do *Xanthomonas campestris* e *Mimosa scabrella*. O fármaco utilizado para a avaliação da liberação sustentada foi o diclofenaco de sódio. O sistema matricial hidrofílico formado foi testado em comprimidos e cápsulas; contém 50 e 100 mg de diclofenaco de sódio com os seguintes valores de pH, 1,4; 4,0; 6,8. Os autores encontraram valores interessantes para este sistema matricial à base de EPS; 78,6% e 35,1% do fármaco, respectivamente, foram liberadas depois de 24h para comprimidos e cápsulas. Os autores concluíram ainda que o mecanismo de erosão exercia um papel determinante para liberação do fármaco, bem como a influência da quantidade de biopolímeros nestas formulações. A quantidade do fármaco e o pH também foram variáveis importantes; os meios ácidos promoveram uma cristalização intramolecular do diclofenaco de sódio, prejudicando sua expulsão do dispositivo de liberação modificada.

A liberação controlada objetiva definir a concentração do fármaco num tecido específico; ou seja, a liberação é sítio-específica (JANTZEN; ROBINSON, 1996). Liberações sítio-específicas oferecem ao paciente um melhor gerenciamento na liberação do fármaco com redução da dose, menos efeitos adversos ao medicamento (RAM), melhores respostas terapêuticas, maior flexibilidade posológica e melhor estabilidade química (OLIVEIRA, 2006). Colinet e colaboradores (2007) desenvolveram e avaliaram a estabilidade de géis

pH-dependente formados de escleroglucana e borato, para liberação controlada. A escleroglucana é um exopolissacarídeo produzido principalmente por microrganismos do gênero *Sclerotium*. A estabilidade do gel foi verificada em função do pH, concentração do EPS e borato. Os autores encontraram que o gel apenas se dissolvia em meios alcalinos, dada a conformação que a escleroglucana adquiria nesta faixa de pH. Ainda, segundo os autores, a erosão, um importante mecanismo na liberação controlada, foi facilmente modulada através da densidade da rede polimérica e pH.

Há uma ampla variedade de sistemas de liberação modificada de fármacos utilizados na indústria farmacêutica. Nestes sistemas incluem-se os lipossomas, nano e micropartículas, microesferas biodegradáveis, bombas osmóticas, filmes cólon-específicos, sistemas transdérmicos, pró-fármacos, sistemas poliméricos matriciais, entre outros (DELUCIA, 2007).

Pitarresi e colaboradores (2007) prepararam e caracterizaram um modelo de hidrogel com dextrana, proveniente de *Leuconostoc spp.*, e derivados de poliaspartamida para a liberação cólon-específica de fármacos. Dextranas são polímeros de glucose unidas por ligação glicosídicas α (1 \rightarrow 6) e que podem ser degradadas por dextranases produzidas pela microbiota do cólon. Para reticulação destes polímeros e consequente formação do hidrogel, foi preparada uma solução aquosa que foi exposta a uma irradiação com o comprimento de onda de 313 nm. A reticulação foi confirmada por análises de espectroscopia no infravermelho. Os autores utilizaram o dipropionato de beclometasona, usado no tratamento de doenças inflamatórias do cólon, para estudar o perfil de liberação do sistema; a droga foi liberada por até 24 h, bem como apresentou sítio-específica.

Coviello e colaboradores (2005) desenvolveram e caracterizaram uma matriz gélica contendo escleroglucana carboxilada e cálcio, para liberação de fármacos. A escleroglucana modificada foi capaz de formar gel na presença do íon, pois o cálcio agiu como agente reticulante entre os grupos carregados negativamente (grupos carboxilas) presentes nas cadeias vicinais; formando zonas de junção. Foram utilizadas duas substâncias modelo para a determinação do perfil de liberação: a teofilina e mioglobina. A teofilina é um potente broncodilatador amplamente utilizado em doenças pulmonares; a mioglobina é uma proteína globular transportadora de oxigênio. Os autores, através do uso dessas substâncias modelo, determinaram que a modulação da liberação está intimamente relacionada com as

dimensões moleculares.

Ringe e Randuz (2006) estudaram as nanopartículas, contendo dextrana, para liberação modificada de fármacos. Os autores objetivaram criar um sistema de distribuição para o tratamento da transfecção celular, processo pelo qual células eucarióticas são infectadas por DNA ou RNA viral. As nanopartículas foram obtidas por um processo de microemulsão óleo/água. As microemulsões são sistemas constituídos por dois líquidos imiscíveis, um disperso formando a fase contínua e o outro na forma de microgotículas. Os autores obtiveram maior estabilidade do sistema, contendo dextrana, para o acondicionamento da daunorubicina; um quimioterápico utilizado na redução de tumores.

Dentre os dispositivos de liberação usados na atualidade, tem se destacado o uso de filmes cólon-específicos (WEI et al., 2008). Estes filmes de liberação cólon-específica apresentam em sua composição um polímero pH - dependente ou tempo dependente aditivado com algum substrato que é biodegradado especificamente pela microflora colônica. A garantia que o substrato será atacado, apenas na região colônica, é que este é constituído de uma microflora única e complexa, abrigando mais de 500 espécies bacterianas, com crescimento ostensivo de microrganismos anaeróbicos (QUINTANILHA et al., 2007).

Mundargi e colaboradores (2007) desenvolveram um sistema cólon-específico para o tratamento da amebíase, uma doença que pode afetar o intestino, causada pela *Entamoeba histolytica*. Os autores utilizaram o Eudragit-L 100 e diversos substratos, com destaque a goma xantana, um heteropolissacarídeo obtido por fermentação aeróbica do *Xanthomonas campestris*. O fármaco estudado neste estudo foi o metronidazol, principal terapia em casos de amebíase. Os autores encontram que o perfil de liberação estava relacionado com a natureza e concentração dos biopolímeros usados nas formulações. O dispositivo composto de xantana, revestido com o copolímero goma guar-ácido metacrilato, mostrou uma liberação do fármaco em torno de 30-40% durante as primeiras 4-5 h; o revestimento entérico possibilitou uma diminuição de 18-24% no perfil de liberação.

Alguns biopolímeros podem trazer vantagens para os filmes. Tong, Xiao e Lim (2008) estudaram as propriedades de filmes contendo pululano, alginato e carboximetilcelulose. O pululano é um homopolissacarídeo exocelular produzido pelo microrganismo *Aureobasidium pullulans*. Os resultados sugerem que os filmes contendo pululana foram mais

fortes do que os filmes constituídos apenas de alginato e carboximetilcelulose, principalmente na força tensil e quebra por alongação. A permeabilidade ao vapor de água foi baixa para o filme puro de pululano ($4,4 \cdot 10^{-7}$ g m/ Pa h m²) quando comparado à blenda polimérica contendo plastificante glicerol ($4,2 \cdot 10^{-6}$ g m/ Pa h m²).

As condições ideais, inerentes à fisiologia do ambiente colônico, que o tornam uma região propícia à liberação de fármacos são: pH próximo do neutro, tempo lento de trânsito intestinal, baixa atividade enzimática proteolítica, bem como a presença de substratos anabólicos ao metabolismo bacteriano, que fazem com que o ambiente colônico seja amplamente diversificado, único e complexo, abrigando mais de 500 tipos de espécies bacterianas, com crescimento ostensivo de microrganismos anaeróbicos (TUOHY et al., 2003; MANNING; GIBSON, 2004; QUINTANILHA, 2007). O ambiente colônico está situado no intestino grosso e é responsável pela absorção de água e eletrólitos das fezes (MOORE; DALLEY, 2001).

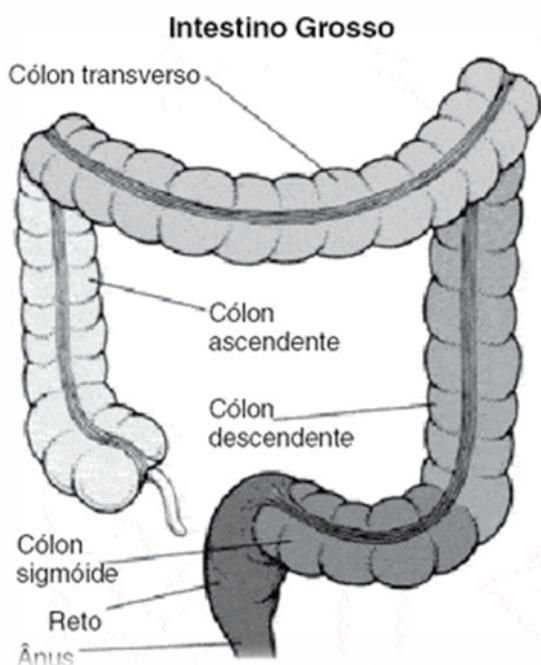


Figura 2 Diagrama representativo do cólon
Fonte: Merck (1996)

Considerando as características fisiológicas do ambiente colônico, Singh, Trombetta e Kim (2004) investigaram um dispositivo à base de gelana, para liberação sítio-específica da Azatioprina. A gelana consiste em unidades repetidas de β -(1 \rightarrow 3) glucose, β -(1 \rightarrow 4) – D – ácido glucurônico, β -(1 \rightarrow 3) ramnose

com resíduos de acetato, acetil e glicerato ligados a resíduos de glucose adjacentes ao ácido glucurônico. É produzida pelo *Sphingomonas paucimobilis* e é colón-específica, pois é susceptível às galactomanases produzidas pelas bactérias do ambiente colônico. O sistema era constituído de um polímero pH-dependente (Eudragit (R) S-100) e pela gelana, substrato susceptível ao ataque enzimático da microflora colônica. Os dispositivos foram caracterizados quanto à morfologia, através da microscopia eletrônica de varredura, e quanto ao comportamento ante a um fluido de simulação colônica (FSC), na presença e ausência das galactomanases.

Neste estudo os autores constaram que, num período de 2 h de liberação, houve 10% maior quantidade da droga no meio FSC, contendo galactomanases, mostrando a contribuição da gelana para o cólon, especificidade do sistema. A Azatioprina tem suas propriedades antileucêmicas e antiinflamatórias melhoradas quando liberadas no ambiente colônico.

Outra diferença significativa que faz do cólon uma região ideal para a liberação de fármacos está no sistema venoso. A drenagem da região distal do TGI é realizada predominantemente pelo sistema linfático, enquanto, na região proximal, é feito pela veia porta – hepática e sistema linfático. Sendo assim, fármacos lipofílicos introduzidos na região distal do TGI sofrerão menos biotransformação hepática (efeito de primeira passagem) e melhorarão sua biodisponibilidade em caso de algum tratamento sistêmico (GERSHKOVICH et al., 2007).

Biotransformação ou metabolismo de fármacos, segundo conceito moderno, é toda alteração química que os fármacos sofrem no organismo, geralmente por processos enzimáticos. O principal local de biotransformação, sem dúvida, é o fígado, um órgão que encerra numerosas enzimas. Durante a biotransformação, de regra, aparecem metabólitos mais polares e mais hidrossolúveis, os quais são facilmente excretados pelos rins. Assim, fisiologicamente pode-se dizer que a biotransformação é um mecanismo de defesa do organismo que acelera a eliminação de substâncias estranhas. Quando se pode diminuir o processo de biotransformação de um determinado fármaco, pode-se aumentar o seu efeito terapêutico. O cólon, pelas características fisiológicas da sua drenagem venosa, é ideal para diminuir o processo de biotransformação e assim minimizar a inativação do fármaco pelo organismo (DELUCIA; PLANETA; FILHO 2004).

A microflora colônica é constituída principalmente pelas

bifidobactérias e lactobacilos. São responsáveis principalmente pela proteção do cólon, pois impedem a proliferação de bactérias consideradas patogênicas, dentre elas: Salmonella, Clostridium e algumas cepas de Eubactérias. A microflora colônica apresenta um papel essencial para que um filme seja denominado cólon-específico; pois estas bactérias são produtoras de enzimas redutoras e hidrolíticas que participam do processo de degradação fermentativa de algum componente presente no filme.

Dentre as substâncias que são susceptíveis às enzimas redutoras e hidrolíticas, da microflora colônica, estão os inúmeros grupos de nutrientes como o amido resistente, alguns oligossacarídeos e polissacarídeos não-amiláceos (JAIN; GUPTA; JAIN, 2007; VARDAKOU et al., 2007). Nesta degradação fermentativa enzimática são produzidas grandes quantidades de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Estes AGCC podem ser absorvidos pelo epitélio do cólon e serem usados como fonte de energia (MANNING; GIBSON, 2004; OUWEHAND et al., 2005). Outros benefícios, dos AGCC, estão o controle do trânsito intestinal (volume e frequência), aumento da biodisponibilidade de minerais, controle da motilidade da mucosa, aumento da proliferação celular epitelial, modulação das funções endócrinas e imunes (ROBERFROID et al., 2002).

Basan, Gümüsderelioglu e Orbey (2007) avaliaram as características de liberação de um hidrogel à base de dextrana, sensível à degradação fermentativa colônica. O fármaco utilizado foi a calcitonina, hormônio polipeptídico composto de 32 aminoácidos. Os autores encontraram que o sistema foi conveniente para liberação cólon-específica da calcitonina, pois a dextrana apresentou biodegradabilidade no ambiente colônico. O agente reticulante utilizado foi o epiclorohidrina, que forma o complexo dextrana-epiclorohidrina. A reticulação foi estudada em diferentes temperaturas, bem como na presença ou não de etanol. As melhores condições para a reticulação foram encontradas a 10°C na presença de etanol; pois a epiclorohidrina foi melhor dissolvida em etanol. As propriedades de hidratação foram de grande importância para embebedar o hidrogel com uma solução aquosa de calcitonina.

Algumas patologias e respectivos tratamentos farmacológicos, que podem se beneficiar pelo uso de filmes para liberação modificada de fármacos, estão apresentados no Quadro 1. Dentre estas patologias citam-se: síndrome do intestino irritável (SII), câncer colo-retal, doença de Crohn e

colite ulcerativa (FRIEND, 2005).

Estas várias afecções podem comprometer o cólon com quadros de inflamações crônicas (edemas, fístulas e formação de úlceras). São acompanhadas muitas vezes de cólicas abdominais recorrentes e diarreias. A SII é uma perturbação da motilidade de todo o trato gastrointestinal que provoca dor abdominal, prisão de ventre e diarreia. Esta doença tem três vezes mais incidência em mulheres do que homens. O trato intestinal fica sensível a muitos estímulos (estresse, alimentação, fármacos, hormônios, etc). A doença de Crohn é uma inflamação crônica da parede intestinal. Nas últimas décadas, a incidência desta doença aumentou tanto nos países ocidentais como nos orientais. As causas da doença centram-se em três possibilidades: disfunção do sistema imunitário, infecção ou dieta alimentar. A colite ulcerativa é uma doença crônica pela qual o intestino se inflama e forma úlceras. Provocam diarreias com sangue, cólicas e febre. As complicações incluem hemorragia maciça, perfuração intestinal e infecção generalizada (MERCK, 1996). As formulações farmacêuticas disponíveis atualmente, para tratamento destas doenças são: formulações orais de liberação lenta ou enemas de uso retal (Tabela 1). Estes tratamentos tradicionais não são normalmente sítio-específicos e têm alta frequência de efeitos colaterais (JAIN; GUPTA; JAIN, 2007).

Quadro 1 Principais doenças colônicas, sintomas e tratamento farmacológico utilizado.

Doenças	Sintomas	Fármacos e agentes ativos
Doença de Crohn	Diarreia, dor e distensão abdominal, úlcera, fezes sanguinolentas, perda de apetite e peso	Hidrocortisona, Budenosida, Prednisolona, Sulfasalazina, Olsalazina, Mesalazina, Balsalazida, Infiximab
Colite ulcerativa	Inflamação e hemorragia retal	5 – Ácido Amino Salicílico, Sulfasalazina, Balsalazida, Infiximab, Azatioprina, Mercaptopurina
Síndrome do intestino irritável (SII)	Dor e distensão abdominal, constipação, diarreia, flatulência, sensação de inchaço – pessoas com SII podem apresentar períodos de alternância entre constipação e diarreia	Diciclomina, Hioscina, Propantelina, Cimetrópio, Mebeverina, Trimebutina, Escopolamina, Alosetron, Tegaserod
Câncer colo-retal	Mudança nos hábitos intestinais, fezes estreitas ou sanguinolentas, hemorragia retal, inexplicável perda de peso, distensões e gases abdominais, dores abdominais acompanhadas de peristaltismo	5 – Fluoruracil, Leucovorin, Oxaliplatino, Irinotecano, Bevacizumabe, Cetuximabe
Diverticulite	Formação do divertículo no cólon devido à infecção bacteriana	Sulfametoxazol + Trimetoprima, Metronidazol
Doença de Hirschsprung	Formas severas de constipações – peristaltismo ocorrem em torno de 1 a 2 vezes por semana	Metronidazol, Vancomicina, Loperamida, Toxina botulínica

Fonte: Jain, Gupta e Jain (2006).

Visando ao tratamento da colite ulcerativa, Varshosaz e colaboradores (2009) desenvolveram um dispositivo de liberação cólon-específica. Os autores desenvolveram um pró-fármaco à base de dextrana. Pró-fármacos são fármacos que se encontram na sua forma inativa quando administrados, porém são ativados quando sofrem alguma biotransformação

in vivo. A budesonida, um potente glicocorticóide usado no tratamento da colite ulcerativa, foi conjugada com a dextrana, susceptível ao ataque hidrolítico pela microflora colônica. Os autores avaliaram que a dextrana foi altamente eficaz na promoção da cólon-especificidade promovida à budesonida; tais fármacos apresentam baixa eficiência quando administrados

isoladamente. A massa molar do EPS contribuiu para o sucesso do sistema. Dentre as massas molares testados para a dextrana (10.000, 70.000, 500.000), a dextrana de massa 70.000 mostrou-se com melhores características de solubilidade e melhor perfil de liberação. Os conjugados foram estáveis nos tampões HCl 0,1N e tampão fosfato pH 6,8; a degradação se deu, em início, em condições colônicas, tampão fosfato pH 7,4, 37°C com 6 h de incubação.

Os filmes são formados a partir de dispersões poliméricas aquosas. As partículas permanecem separadas no início da dispersão polimérica, no entanto, durante o processo de evaporação, as partículas dos constituintes sólidos das dispersões coalescem; formando o filme. Para o processo de evaporação, leva-se em conta a TMF (temperatura mínima para formação do filme polimérico), que é responsável pela coalescência individual e gradual dessas partículas.

Filmes moldados em temperaturas diferentes da TMF podem apresentar características indesejáveis (friabilidade, opacidade, ...). A coalescência das partículas poliméricas é essencial para se obter filmes homogêneos. Os filmes podem ser obtidos por espalhamento sobre várias superfícies: teflon, vidro e folha de alumínio (LAMIM, 2006). Além da adição de substratos cólon-específicos, filmes poliméricos podem ser aditivados com plastificantes trazendo uma melhora na termodinâmica do material, assim como na diminuição da força tensil, aumento do alongamento, flexibilidade dos filmes e coalescência (SATURWAR et al., 2003). A escolha do plastificante ideal é primordial para o desempenho eficiente do processo de revestimento. Sua escolha depende da capacidade de solvatar o polímero e alterar as interações de suas cadeias. Para otimização das características desejadas, pode-se alterar o tipo e a concentração dos plastificantes usados na fabricação do biofilme. O plastificante, quando não escolhido de forma adequada, pode diminuir a temperatura de degradação das amostras; diminuindo a estabilidade térmica do material formado (LAMIM, 2006).

Ensaio podem ser feitos, respaldados na literatura, para avaliação dos filmes cólon-específicos. Tem sido feito o índice de intumescimento (I_i), em diferentes meios de simulação das condições fisiológicas do trato gastrintestinal, juntamente com o ensaio de transmissão do vapor de água (TVA). Estas metodologias são consideradas de baixo custo e de grande valor analítico (OLIVEIRA, 2006). Tais metodologias são empregadas eficientemente na caracterização de filmes

aditivados com substratos susceptíveis à microflora colônica. Os resultados destes estudos podem verificar um aumento de potencial cólon-específico do filme aditivado (AKHGARI et al., 2006).

O intumescimento ou hidratação constitui característica imprescindível ao acesso e conseqüente favorecimento ao ataque do filme pela microflora colônica. Pode variar conforme densidade da reticulação, caráter iônico do polímero e osmolaridade (HUANG; YU; XIAO, 2007). O intumescimento ou hidratação dos filmes podem ser avaliados em diferentes meios do TGI. Filmes cólon-específicos devem possuir baixa hidratação em fluidos de simulação gástrica (FSG) e fluidos de simulação intestinal (FSI). Porém, devem ter um aumento significativo da hidratação quando presentes em fluidos de simulação do cólon (FSC) (AKHGARI et al., 2006).

Hirsch e colaboradores (1999) investigaram a degradação microbiológica de uma dextrana modificada, a laurildextrana, e de uma galactomanana reticulada para revestimento de substâncias destinadas à liberação cólon-específica. Os autores encontraram que o revestimento reticulado obteve um índice de intumescimento entre 309-520%, enquanto o revestimento, contendo apenas a laurildextrana com grau de substituição 0,12 e 0,40, apresentou um índice de intumescimento de 50-195%. Os autores encontraram ainda que a laurildextrana, com baixo índice de intumescimento, exibiu baixa taxa de dissolução do fármaco testado, bem como a degradabilidade cólon-específica. Os autores verificaram que a dissolução segue as leis de difusão que o sistema possui em ambientes aquosos; a solubilidade do fármaco é um fator também a ser considerado.

O ensaio TVA determina a permeabilidade do filme à água, avalia a efetiva mobilidade na matriz polimérica. Oferece um índice no qual é possível avaliar a mobilidade da membrana relacionando o espaço de volume livre com as moléculas de vapor de água (MONDAL; YONG, 2006). A TVA está intimamente relacionada com a hidrofiliabilidade dos polímeros presentes no filme. Filmes aditivados com polímeros, contendo altas proporções de grupos hidroxilas (OH), podem aumentar a TVA; estes polímeros polihidroxilados formam pontes de hidrogênio com a água. O uso de plastificantes pode influenciar o índice de TVA de um filme. Os plastificantes podem diminuir a TVA de uma película por originar estruturas mais compactas nas cadeias poliméricas, pois possibilitam a coalescência maior das partículas poliméricas. Filmes contendo alta resistência à transmissão de vapor de água (TVA) são incapazes da liberação

prematura de um fármaco revestido com uma película colôn-específica. Sendo assim, os valores do ensaio de TVA nos dão valores valiosos para inferir o comportamento do filme contra a umidade do ambiente fisiológico (AKHGARI et al., 2006).

Zenkiewicz e Richert (2008) aplicaram a metodologia de TVA para filmes nanocompósitos à base de polilactato. Polilactatos são biopolímeros obtidos da fermentação do ácido láctico, obtido por fermentação bacteriana da glicose. Os autores concluíram que a TVA está ligado à hidrofiliabilidade, estrutura e tamanho molecular dos biopolímeros.

Outras áreas do conhecimento aplicam exopolissacarídeos em filmes. O campo de tecidos modificados tem se desenvolvido rapidamente desde a década passada, e muitas pesquisas caminham para criar uma vasta variedade de tecidos vivos de substituição, trazendo novas alternativas de aplicação clínica. Estes tecidos são baseados na associação de polímeros sintéticos condutores e exopolissacarídeos. O compósito resultante apresentará a habilidade de estimulação elétrica, conferida pelo polímero sintético, com a atividade biológica, conferida pelo EPS. Dentre as atividades biológicas desejadas estão o aumento da angiogênese (desenvolvimento de vasos sanguíneos). Neste sentido, França (2007) estudou a produção de filmes automontados, constituídos por polianilina, aditivados com o exopolissacarídeo botriosferana; uma glucana caracterizada como (1 α 3; 1 α 6)- β -D-glucana (BARBOSA et al., 2003). O autor obteve resultados satisfatórios na produção do filme, constatando uma boa associação do polímero ao exopolissacarídeo.

Filmes aditivados com exopolissacarídeos também são usados na indústria alimentícia; constituem uma alternativa para o acondicionamento de alimentos. Estes biomateriais contribuem para o aumento da vida de prateleira dos alimentos, bem como minimizam as consequências ambientais. Nesta perspectiva, Piermaria e colaboradores (2009) desenvolveram e caracterizaram um filme baseado na kefirana. A kefirana é uma glucogalactana obtida a partir da fermentação de grãos de kefir. A kefirana foi apta para formar filmes nas concentrações de 5 a 10 g/Kg. Os filmes foram caracterizados quanto às suas características reológicas, físico-químicas (umidade, atividade de água, espessura e transparência), caracterização da microestrutura (microscopia eletrônica de varredura e grau de cristalinidade), permeabilidade do vapor de água e propriedades mecânicas. Os filmes também apresentaram comportamento pseudoplástico.

Além de EPS, filmes têm sido aditivados com peptídeos denominados de pediocinas, provenientes do *Pediococcus* sp.; tais filmes podem apresentar atividade antimicrobiana e trazer assim melhores perspectivas no acondicionamento de frios (SANTIAGO-SILVA et al., 2009).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A biotecnologia apresenta um grande campo de atuação para pesquisadores acadêmicos e industriais. As pesquisas de novas biomoléculas, dentre elas os exopolissacarídeos, provenientes da biodiversidade brasileira, apresentam grande potencial de aplicação nos mais diversos segmentos industriais. Os segmentos tradicionalmente utilizadores destes produtores biotecnológicos são principalmente a indústria alimentícia. Entretanto, percebe-se, nesta revisão, um mercado extremamente abrangente e pungente para utilização dos exopolissacarídeos na indústria farmacêutica.

Estudos adicionais, enfocando principalmente aspectos de isolamento e purificação destes novos compostos ativos, serão de grande valia para a comunidade científica.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-FATTAH, A. F.; MAHMOUD, D. A. R.; ESAWY, M. A. T. Production of levansucrase from *Bacillus subtilis* NRC 33a and enzymic synthesis of levan and fructo-oligosaccharides. *Current Microbiology*, v. 51, p. 402-407, 2005.
- AKHGARI, A. et al.. Permeability and swelling studies on free films containing inulin in combination with different polymethacrylates aimed for colonic drug delivery. *European journal of pharmaceutical sciences*, v. 28, p. 307-314, 2006.
- ANANTHALAKSHMY, V. K.; GUNASEKARAN, P. Optimization of levan production by *Zymomonas mobilis*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 42, n. 3, p. 291-297, 1999.
- ARVIDSON, S. A.; RINEHART, B. T.; GADALA-MARIA, F. Concentration regimes of solutions of levan polysaccharide from *Bacillus* sp. *Carbohydrate Polymers*, v. 65, p. 144-149, 2006.
- AVINERI-SHAPIRO, S.; HESTRIM, S. The Mechanism of Polysaccharide Production from Sucrose. *Biochemical Journal*, v. 39, n. 2, p. 167-172, 1945.

- BARBOSA, A. M. et al.. Structural characterization of Botryosphaeran: a (1 α 3; 1 α 6)- β -D-glucan produced by ascomyceteous fungus, *Botryosphaeria* sp. **Carbohydrate Research**, v. 338, p. 1691-1698, 2003.
- BASAN, H.; GÖMÜŞDERELİOĞLU, M.; ORBEY, M. T.. Release characteristics of salmon calcitonin from dextran hydrogels for colon-specific delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, p. 39-46, 2007.
- BATISTA, M. C. T.. **Efeito das condições de cultivo na produção de levana de alta massa molar por *Zymomonas mobilis* em meio de caldo de cana de açúcar**. Londrina, 2006. 82p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, PR: UEL, 2006.
- BEKERS, M. et al.. Stability of levan produced by *Zymomonas mobilis*. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1535-1539, 2005.
- BORSARI, R. R. J. et al.. Influence of carbon source and the fermentation process on levan production by *Zymomonas mobilis* analyzed by the surface response method. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 604-609, 2006.
- BRESOLIN, T. M. B. et al.. Sistemas de Liberação de Fármacos. In: BRESOLIN, T. M.; FILHO, V. C. (Org). **Ciências farmacêuticas: uma Contribuição ao estudo de novos fármacos e medicamentos**. Itajaí: Editora da universidade do Vale do Itajaí, 2003. cap. 4, p.169-227.
- CALAZANS, G. M. T. et al.. Molecular weight and antimour activity of *Zymomonas mobilis* levans. **Biological Macromolecules**, v. 27, p. 245-247, 2000.
- CASADEI, M. A. et al.. Physical gels of a carboxymethyl derivative of scleroglucan: Synthesis and characterization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 682-689, 2007.
- CAVALCANTE, A. H. M.; CARVALHO, L. B.; CUNHA, M. G. C.. Cellulosic exopolysaccharide produced by *Zoogloea* sp. as a film support for trypsin immobilization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 29, p. 258-261, 2006.
- CHOI, S. H.; SUNG, C.; CHOI, W. Y.. Levan-producing *Bacillus subtilis* BS 62 and its phylogeny based on its 16S rDNA sequence. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 11, n. 3, p. 428-434, 2001.
- COLINET, I. et al.. pH-dependent stability of scleroglucan borate gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, p. 65-71, 2007.
- COVIELLO, T. et al.. A new polysaccharidic gel matrix for drug delivery: preparation and mechanical properties. **Journal of Controlled Release**, v. 102, p. 643-656, 2005.
- DELUCIA, R.; PLANETA, C. S.; OLIVEIRA FILHO, R. M.. Biotransformação de fármacos. In: DELUCIA, R.; OLIVEIRA FILHO, R. M.. **Farmacologia integrada**. Rio de Janeiro, RJ: Revinter, 2004. cap 8. p. 56-57.
- DELUCIA, R.. Vias de administração de fármacos. In: DELUCIA, R. et al.. **Farmacologia integrada**. Rio de Janeiro, RJ: Revinter, 2007. cap 4. p. 39-44.
- DUBOC, P.; MOLLET, B.. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 759-768, 2001.
- EUZENAT, O.; GUILBERT, A.; COMBES, D.. Production of fructo-oligosaccharides by levansucrase from *Bacillus subtilis* C4. **Process Biochemistry**, v. 32, n. 3, p. 237-243, 1996.
- FRANÇA, E.. **Produção de filmes automontados constituídos por polianilina associados ao exopolissacarídeo fúngico botriosferana**. 2007. 73fls. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biotecnologia) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, PR: UEL, 2007.
- FRIEND, D. R.. New oral delivery systems for treatment of inflammatory bowel disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, p. 247-265, 2005.
- GHALY, A. E. et al.. Production of Levan by *Bacillus licheniformis* for Use as a Soil Sealant in Earthen Manure Storage Structures. **American Journal of Biotechnology and Biochemistry**, v. 3, n. 2, p. 47-54, 2007.
- GERSHKOVICH, P. et al.. Different impacts of intestinal lymphatic transport on the oral bioavailability of structurally similar synthetic lipophilic cannabinoids: Dexamabinol and PRS-211,220. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 31, p. 298-305, 2007.
- GORREC, K. L. et al.. Identification of three inducible and extracellular enzymatic activities working on sucrose in *Bacillus subtilis* NCIMB 11871 and 11872 supernatant. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 44-52, 2002.
- HAN, Y. W.; WATSON, M. A.. Production of microbial levan from sucrose, sugarcane juice and beet molasses. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 9, p. 257-260, 1992.
- HARRINGTON, P. A.; HEYL, F. Carboidratos. In:

- CAMPBELL, M. K.. **Bioquímica**. Porto Alegre, RS: Artmed, 1999. cap. 16. p. 426-427.
- HARWOOD, C. R.. Bacillus subtilis and its relatives: molecular biological and industrial workhorses. **Trends in Biotechnol**, v. 10, p. 247-256, 1992.
- HESTRIN, S.; SHAPIRO, S. A.; ASCHNER, M. The Enzymic Production of Levan. **Biochemical journal**, v. 37, n. 4, p. 450-456, 1943.
- HIRSCH, S. et al.. Lauroyldextran and crosslinked galactomannan as coating materials for site-specific drug delivery to the colon. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 47, p. 61-71, 1999.
- HUANG, Y.; YU, H.; XIAO, C.. pH-sensitive cationic guar gum/poly (acrylic acid) polyelectrolyte hydrogels: Swelling and in vitro drug release. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, p. 774-783, 2007.
- JAIN, A.; GUPTA, Y.; JAIN, S. K. Azo Chemistry and Its Potential for Colonic Delivery. **Drug Carrier Systems**, v. 23, p. 349-399, 2006.
- JAIN, A.; GUPTA, Y.; JAIN, S. K. Perspectives of Biodegradable Natural Polysaccharides for Site-Specific Drug Delivery to the Colon. **J. Pharm. Pharmaceut. Sci.**, v. 10, p. 86-128, 2007.
- JANTZEN, G. M.; ROBINSON, J. R.. Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems. In: BANKER, G. S.; RHODES, C. T. **Modern Pharmaceutics**. New York; Hong Kong: Marcel Dekker, 1996. cap.15. p. 575-592.
- JÖRDENING, H. J.; WINTER, J.. Bioremediation - Keeping the Earth clean. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 371-372, 2005.
- KALOGERAKIS, N.; PSILLAKIS, E.; ALVAREZ, P. Special issue: recent advances in bioremediation. **Environment International**, v. 31, p. 147, 2005.
- KUMAR, S. C.; SATISH, C. S.; SHIVAKUMAR, H. G. Formulation and evaluation of chitosan-gellan based methotrexate implants. **Journal of Macromolecular Science Part A-Pure and Applied Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 643-649, 2008.
- LAMIM, L.. **Quitosana e N – Carboximetilquitosana: Desenvolvimento de biofilmes para aplicações farmacêuticas**. 2006. 78p. Dissertação (Mestrado de Ciências da Saúde) – Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, SC: UNIVALI, 2006.
- LI, H. Q. et al.. Thermo- responsive expression and differential secretion of the extracellular enzyme levansucrase in the plant pathogenic bacterium *Pseudomonas syringae* pv. glycinea. **FEMS Microbiology Letters**, v. 265, n. 2, p. 178-185, 2006.
- MACIEL, J. C.. **Síntese e caracterização de partículas de levana-magnetita e sua utilização como matriz para imobilização de tripsina**. 2008. 94p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2008.
- MALLEUX, K.; VAN DEN ENDE, W.. Levans in excised leaves of *Dactylis glomerata*: Effects of light, sugars, temperature and senescence. **Journal of Plant Biology**, v. 50, p. 871-680, 2007.
- MANNING, T. S.; GIBSON, G. R.. Prebiotics. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 18, p. 287-298, 2004.
- MATTOON, J. R. et al.. Bacterial Levans of Intermediate Molecular Weight. **Applied Microbiology**, v. 3, n. 6, p. 321-333, 1955.
- MELO, I. R.; PIMENTEL, M. F.; CALAZANS, G. M. T.. Application of fractional factorial design to levan production by *Zymomonas mobilis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 45-51, 2007.
- MERCK INDEX. 12. ed. [S. l.]: **Witthehouse Station**, 1996.
- MONDAL, S.; YONG, J. L. H. Z.. Free volume and water vapor permeability of dense segmented polyurethane membrane. **Journal of Membrane Science**, v. 208, p. 427-432, 2006.
- MOORE, K. L.; DALLEY, A. F. **Anatomia orientada para a clínica**. 4. ed.. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2001.
- MUNDARGI, R. C. et al.. Development of polysaccharide-based colon targeted drug delivery systems for the treatment of amoebiasis. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, n. 3, p. 255-264, 2007.
- OLIVEIRA, F. M. **Pré-biótico na pesquisa e desenvolvimento de novos materiais para liberação modificada de fármacos**. 2006. 34fls. Dissertação (Mestrado em Farmácia e Farmacologia) – Universidade Estadual de Maringá. Maringá, PR: UEM, 2006.
- OLIVEIRA, M. R. et al.. Study of levan production by

- Zymomonas mobilis using regional low-cost carbohydrate sources. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, p. 177–183, 2007.
- OUWEHAND, A. C. et al. Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 16, p. 212-217, 2005.
- PACCEZ, J. D. **Aplicação de linhagens geneticamente modificadas de Bacillus subtilis no desenvolvimento de vacinas de mucosas contra patógenos entéricos**. 2007. 91fs. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) – Universidade de São Paulo. São Paulo, SP: USP, 2007.
- PARK, Y. K.; MORTATTI, M. P. L.; SATO, H. H.. Study of levan formation during fermentation on Zymomonas mobilis on sucrose. **Biotechnology Letters**, v. 5, n. 8, p. 515-518, 1983.
- PAULA, V. C. et al. Microwave-assisted hydrolysis of Zymomonas mobilis levan envisaging oligofructan production. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 2466–2470, 2008.
- PIERMARIA, J. A. et al. Films Based on Kefiran, an Polysaccharide Obtained From Kefir Grains: Development and Characterization. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 684-690, 2009.
- PITARRESI, G. et al. Photocrosslinking of dextran and polyaspartamide derivatives: A combination suitable for colon-specific drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 119, p. 328–338, 2007.
- PRASERTSAN, P. et al. Optimization for biopolymer production by Enterobacter cloacae WD7. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, p. 468-475, 2008.
- QUINTANILHA, A. G. et al. A novel sampling method for the investigation of gut microbiota. **World J. Gastroenterol**, v. 13, p. 3990-3995, 2007.
- RAHULAN, R. et al. Statistical optimization of L-leucine amino peptidase production from Streptomyces gedanensis IFO 13427 under submerged fermentation using response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal**, v. 43, p. 64-71, 2009.
- RAMSAY, A.; COOPER, D. G.; NEUFIELD, R. J.. Effects of oil reservoir conditions on the production of water-insoluble levan by Bacillus licheniformis. **Geomicrobiology Journal**, v. 7, n. 3, p. 115-165, 1989.
- RINGE, K.; RADUNZ, H.. **Producing a delivery vehicle for transfection of cells, involves forming oil/water type miniemulsion, polymerizing the monomers to form nanoparticles, and adding pharmaceutical agents capable of being bound to the nanoparticles**. Pat. WO2006056362-A2, 1 jun. 2006. [Patente].
- ROBERFROID, M.. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digest Liver**, v. 34, p. 185-190, 2002.
- SACHA, A. F. T. et al. Purification of a novel fructosyltransferase from Lactobacillus reuteri strain 121 and characterization of the levan produced. **FEMS Microbiology Letters**, v. 205, p. 323-328, 2001.
- SANKALIA, J. M.; SANKALIA, M. G.; MASHRU, R. C.. Drug release and swelling kinetics of directly compressed glipizide sustained-release matrices: Establishment of level A IVIVC. **Journal of Controlled Release**, v. 129, p. 49–58, 2008.
- SANTIAGO-SILVA, P. et al. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA® 2351) on preservation of sliced ham. **Food Control**, v. 20, p. 85-89, 2009.
- SATTURWAR, P. M. et al. Evaluation of the Film-Forming Property of Hydrogenated Rosin. **Drug Dev. Ind. Pharm**, v. 29, p. 877-844, 2003.
- SHAH, A. K.; ASHTAPUTRE, A. A.. Evaluation of rheological properties of the exopolysaccharide of Sphingomonas paucimobilis GS-1 for application in oil exploration. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 23, p. 442–445, 1999.
- SHAH, V. et al. Characterization of the Extracellular Polysaccharide Produced by a Marine Cyanobacterium, Cyanothece sp. ATCC 51142, and Its Exploitation Toward Metal Removal from Solutions. **Current Microbiology**, v. 40, p. 274–278, 2000.
- SHIH, I. L. et al. Selective production and characterization of levan by Bacillus subtilis (natto) Takahashi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 8211-8215, 2005.
- SIMMS, P. J.; BOYKO, W. J.; EDWARDS, J. R.. The structural analysis of a levan produced by Streptococcus salivarius SS2. **Carbohydrate Reseach**, v. 208, p. 193-198, 1990.
- SINGH, S.; FETT, W. F. Stimulation of exopolysaccharide production by fluorescent pseudomonads in sucrose media due to dehydration and increased osmolarity. **FEMS Microbiology Letters**, v. 130, n. 2/3, p. 301-306, 1995.

- SINGH, B. N.; TROMBETTA, L. D.; KIM, K. H.. Biodegradation behavior of gellan gum in simulated colonic media. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 9, n. 4, p. 399-407, 2004.
- SINHA, V. R. et al.. Colonic drug delivery of 5-fluorouracil: an in vitro evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 101-108, 2004.
- SINHA, V. R.; MITTAL, B. R.; KUMRIA, R.. In vivo evaluation of time and site of disintegration of polysaccharide tablet prepared for colon-specific drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 289, p. 79-85, 2005.
- SUTHERLAND, I. W.. Bacterial exopolysaccharides. **Advances in Microbiology and Physiology**, v. 8, p.143-213, 1972.
- TANAKA, K.. Production of a Non-reducing Fructotrisaccharide from Levan in the Culture of *Arthrobacter ureafaciens*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.53(8), p.2275-2276, 1989.
- TAKAHAMA, A.; KUZE, J.; OKANO, S. Production of Lactosucrose by *Bacillus natto* levansucrase and some properties of the enzyme. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology-Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, v. 38, n. 9, p. 789-796, 1991.
- TONG, Q.; XIAO, Q.; LIM, L. T.. Preparation and properties of pullulan-alginate-carboxymethylcellulose blend films. **Food Research International**, v. 41, p. 1007-1014, 2008.
- TUOHY, K. M. et al.. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Drug Discovery Today**, v. 8, p. 692-700, 2003.
- UGHINI, F. et al.. Evaluation of xanthan and highly substituted galactomannan from *M. scabrella* as a sustained release matrix. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 271 p. 197-205, 2004.
- VARDAKOU, M. et al.. In vitro three-stage continuous fermentation of wheat arabinoxylan fractions and induction of hydrolase activity by the gut microflora. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 41, n. 5, p. 584-589, dez. 2007.
- VARSHOSAZ, J. et al.. Synthesis and evaluation of dextran-budesonide conjugates as colon specific prodrugs for treatment of ulcerative colitis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 365, n. 1/2, p. 69-76, jan. 2009.
- VINÑARTA, S. C. et al.. A further insight into the practical applications of exopolysaccharides from *Sclerotium rolfsii*. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 619-629, 2006.
- WEI, H. et al.. Study on colon-specific pectin/ethylcellulose film-coated 5-fluorouracil pellets in rats. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 348, p. 35-45, 2008.
- WU, C. Y.; MAU, J. L.; LIANG, Z. C.. The influence of cultivation conditions on mycelial growth and exopolysaccharide production of culinary-medicinal mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* Singer (Agaricomycetidae). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 10, n. 3, p. 279-292, 2008.
- YAMAMOTO, S. et al.. The mode of synthesis of levan by *Bacillus subtilis* levansucrase. **Agric. Biol. Chem.**, v. 49, n. 2, p. 343-349, 1985.
- YIM, J. H. et al.. Characterization of a novel bioflocculant, p-KG03, from a marine dinoflagellate, *Gyrodinium impudicum* KG03. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 361-367, 2007.
- ZENKIEWICZ, M.; RICHERT, J.. Permeability of polylactide nanocomposite films for water vapour, oxygen and carbon dioxide. **Polymer Testing**, v. 27, p. 835-840, 2008.

Recebido em: 28 Outubro 2010

Accito em: 26 Junho 2011

RELAÇÕES FISIOLÓGICAS ENTRE O SONO E A LIBERAÇÃO DE HORMÔNIOS QUE REGULAM O APETITE

Giovana Andreia Gibbert

Docente do Departamento de Morfologia e Ciências Fisiológicas da Universidade do Estado do Pará - UEPA.
E-mail: giovanaandrea@hotmail.com

Márcia do Nascimento Brito

Docente do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM. E-mail: mnbrito@uem.br

RESUMO: A redução do tempo de dormir tornou-se um hábito comum na atualidade, guiada pelas exigências e oportunidades da sociedade moderna. Uma relação entre sono e ingestão alimentar vem sendo postulada pela literatura atual. Isso é amplamente demonstrado em modelos animais, que se mostram hiperfágicos após a privação de sono. Em seres humanos, o trabalho por turno e as mudanças no fuso horário, situações que comumente alteram o padrão habitual de sono, estão claramente associadas com as alterações no padrão de ingestão alimentar. Vários estudos epidemiológicos recentes correlacionam a curta duração do tempo de sono com o aumento do índice da massa corporal, devido às alterações fisiológicas na liberação dos hormônios reguladores do apetite grelina e leptina. O objetivo desta revisão é discutir as relações entre os hormônios reguladores do apetite e o aumento do índice de massa corporal em indivíduos privados de sono.

PALAVRAS-CHAVE: Leptina; Grelina; Sono; Apetite.

PHYSIOLOGICAL RELATIONSHIPS BETWEEN SLEEP AND APPETITE- REGULATING HORMONE RELEASE

ABSTRACT: Sleep time decrease, caused by the demands and opportunities of modern society, has currently become a common habit. A relationship between sleep and food intake has been postulated by current literature. This fact is widely demonstrated in animal models that become hyperphagic after sleep deprivation. Shift work and time zones changes which normally affect the usual sleep pattern in humans are also associated with changes in food intake. Recent epidemiologic studies relate short duration of sleep time with increase in body mass index, due to the physiological changes in the release of the appetite-regulating hormones ghrelin and leptin. Current essay discusses the relationship between appetite regulating hormones and the increase in body mass index on sleep-deprived subjects.

KEYWORDS: Leptin; Ghrelin; Sleep; Appetite.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença multifatorial que vem atingindo proporções epidêmicas, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento. O aumento de sua prevalência

é de grande importância, pois se tornou um problema de saúde pública. Tal fato deve-se à grande associação existente entre o excesso de gordura corporal e o aumento da morbimortalidade, pois essa condição aumenta o risco de se desenvolver doença arterial coronariana, hipertensão arterial, diabetes tipo II, doença pulmonar obstrutiva, osteoartrite e certos tipos de câncer (HALPERN; RODRIGUES; COSTA, 2004).

O sistema fisiológico que regula a massa corporal envolve tanto componentes centrais como periféricos, os quais interagem com os aspectos ambientais, tais como a disponibilidade e a composição da dieta e a atividade física, influenciando, assim, a massa corporal. Embora a genética desempenhe um papel importante na determinação da massa corporal, a aumentada prevalência da obesidade nas últimas décadas tem sido fortemente relacionada com as mudanças no ambiente em que se vive (CRISPIM et al., 2007).

Segundo Halpern, Rodrigues e Costa (2004), o peso corporal é uma função do balanço de energia e de nutrientes ao longo de um período de tempo. O balanço energético é determinado pela ingestão de macronutrientes, pelo gasto energético e pela termogênese dos alimentos. Assim, se a ingestão alimentar for superior ao gasto energético do organismo (balanço energético positivo) resultará em ganho de peso corporal na forma de gordura, enquanto o balanço energético negativo resultará no efeito oposto.

Dentre os principais fatores envolvidos no processo de desenvolvimento da obesidade, os mais citados são: sedentarismo, fatores ambientais e genéticos, problemas de saúde e doenças endócrino-metabólicas, medicamentos, fatores emocionais, idade, gravidez e problemas relacionados ao sono (BARSH; FARROQI; O'RAHILY, 2000; SPIEGELMAN; FLIER, 2001; SPIEGEL et al., 2004; PATEL et al., 2006; ZHENG; BERTHOUD, 2007). Segundo Patel e Hu (2008), o sono é um dos fatores modificáveis de grande relevância no desenvolvimento da obesidade.

Nesta revisão nós apresentamos informações que demonstram que a privação de sono pode desencadear alterações nas relações entre os hormônios reguladores do apetite, leptina e grelina, resultando em aumento do índice de massa corporal e, portanto, na obesidade.

2 DESENVOLVIMENTO

Os mecanismos pelos quais a privação ou alterações no sono levam ao desenvolvimento da obesidade são bastante complexos e precisam ser mais aprofundados. Sabe-se,

porém, que os distúrbios provocados pelas alterações nos horários de sono/vigília influenciam o apetite, a saciedade e, conseqüentemente, a ingestão alimentar, o que parece favorecer o aumento da obesidade (CRISPIM et al., 2007). Existe uma relação direta entre a curta duração de sono e o desenvolvimento da obesidade (KNUTSON; VAN CAUTER, 2008). Podemos considerar um sono de curta duração aquele que fica abaixo de sete horas por noite. Essa evidência não garante que pessoas que durmam por um período maior que sete horas por noite, e que não mantêm um estilo de vida com hábitos saudáveis, estejam livres de se tornarem obesas.

Taheri e colaboradores (2004) mostraram que a diminuição na duração do sono está relacionada com a redução da concentração plasmática de leptina, elevação da concentração plasmática de grelina e aumento na massa corporal. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos realizados em crianças, adolescentes e adultos. A influência da duração do sono sobre a secreção da leptina e grelina independe da massa corporal adquirida, idade, sexo ou outros fatores possíveis. A restrição de sono associada a concentrações plasmáticas alteradas de leptina e grelina impulsionam a teoria de que a diminuição do sono pode romper a regulação endócrina do balanço energético, promovendo aumento de peso corporal (MOTIVALA et al., 2009).

A diminuição do sono promove maior tempo de vigília que, além de promover as alterações hormonais já citadas, também possibilita uma maior oportunidade para a ingestão alimentar. A perda de sono pode também resultar em cansaço, que tende a diminuir a atividade física (Figura 1).