



ESTUDO DOS PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS DE RATOS LDLr KO TRATADOS COM DIETA HIPERCOLESTEROLÊMICA: COMPARAÇÃO ENTRE O USO DE *Campomanesia xanthocarpa* E ÁCIDO ACETILSALICÍLICO.

SCHMIDT, Aline¹; VIECILI, Paulo Ricardo Nazário²; PEREIRA, Roberta Lélis Dias²; RUBIN, Fabiane Horbach³; PORTO, Fernando Garcez²; ALMEIDA, Amanda Spring de²; Sabrina Nascimento³; DUARTE, Martha Maria Medeiros Frescura⁴; KLAFKE, Jonatas Zeni².

Palavras-Chave: *Campomanesia xanthocarpa*. Etnofarmacologia. Ácido acetilsalicílico. Plantas medicinais.

INTRODUÇÃO

A *C. xanthocarpa* Berg. (Mirtaceae), popularmente conhecida como guavirova, tem mostrado possuir atividade antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica em camundongos, sem demonstrar, entretanto, atividade ulcerogênica, quando comparado ao ácido acetilsalicílico (AAS) (KLAFKE *et al.*, 2012). O AAS, por sua vez, promove a acetilação da cicloxigenase-2 (COX-2), modificando seu sítio ativo e, assim, permitindo a produção final de lipoxinas, as quais desenvolvem papel anti-inflamatório, estimulando a resolução da inflamação (SPITE, SERHAN, 2010). Logo, uma vez que a planta parece desenvolver atividades semelhantes às do AAS, a investigação de possíveis efeitos anti-inflamatórios deste produto natural no processo aterosclerótico torna-se um importante alvo de pesquisa terapêutica. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes da *C. xanthocarpa* e do AAS em camundongos knockout para o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLr-KO) (ZADELAAR *et al.* 2007).

¹ Discente do Curso de Biomedicina, Universidade de Cruz Alta, Cruz Alta, RS, Brasil. E-mail: alineschmidt2009@hotmail.com

² Programa de Pós-graduação em Atenção Integral a Saúde, Universidade de Cruz Alta, Cruz Alta, RS, Brasil. E-mail: vieciliprn@uol.com.br; roberta_ld@hotmail.com; fernandoportors@hotmail.com; amandaspring_@hotmail.com; jonzeni@hotmail.com

³ Grupo Multidisciplinar de Saúde, Universidade de Cruz Alta, Cruz Alta, RS, Brasil. E-mail: fabihrubin@hotmail.com; sasanascimento8@hotmail.com

⁴ Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Luterana do Brasil, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: duartmm@hotmail.com



METODOLOGIA

As folhas da planta *C. xanthocarpa* foram coletadas a partir de uma árvore da cidade de Cruz Alta, RS - Brasil (RS; 28°38'19" S, 53°36'23" W, 452 m) e foram identificadas pelo Herbário da Universidade de Cruz Alta (n° 1088). As folhas e o extrato foram preparados como descrito anteriormente por Klafke et al. (2012). Para os testes anti-inflamatórios e antioxidantes, foram utilizados 28 camundongos machos homocigotos deficientes para o receptor de LDL (camundongos LDLr-KO, C57BL/6), hipercolesterolêmicos, pesando entre 25-29 g (4,0 - 4,5 meses de idade), que foram divididos aleatoriamente em 3 grupos distintos submetidos aos seguintes tratamentos (via gavagem, 1 vez/dia durante 5 dias consecutivos): (1) grupo controle (água purificada), (2) 100 mg/kg do extrato aquoso de *C. xanthocarpa*, ou (3) 100 mg/kg de AAS. Todos os grupos foram alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica por 30 dias antes do estudo. Os animais foram eutanasiados com injeção intraperitoneal de tiopental sódico (100 mg/kg) e lidocaína (10 mg/mL). Para a análise de capacidade ulcerogênica, os estômagos foram abertos por incisão ao longo da maior curvatura e lavados com solução salina, o desenvolvimento das lesões foi imediatamente avaliado com o auxílio de uma lupa. A quantificação de lesões na mucosa gástrica foi pontuada de acordo com o número e tamanho numa escala de 0 a 8 pontos, de acordo com o método de Walker *et al.*, (2013). O sangue dos animais foi coletado por punção cardíaca. As amostras de sangue foram colhidas em tubos sem anticoagulante e, subsequentemente, centrifugadas a 3.000 rpm durante 10 minutos para obtenção do soro, o qual foi utilizado nas análises de interleucina-1 (IL-1), interleucina (IL-6), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), interferon gama (INF- γ), interleucina-10 (IL-10), LDL oxidada (LDLox) e anti-LDLox. Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido de teste Post-hoc de Student-Newman-Keuls, com intervalo de confiança de 95% ($p \leq 0.05$). Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Cruz Alta (n001/13°).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Somente foi possível observar redução significativa nos níveis séricos de IL-1 ($82 \pm 8,94$ pg/mL), IL-6 (94 ± 10 pg/mL), TNF- α (110 ± 13 pg/mL) e INF- γ (123 ± 12 μ g/mL) (19,2 \pm 3%, 20,4 \pm 1,3%, 24,7 \pm 1,2% e 20,8 \pm 1,7%, respectivamente) no grupo tratado com *C. xanthocarpa*, quando comparado ao grupo veículo (F(2,25)=7,379, P=0,003; F(2,25)=10,81



$P=0,0004$; $F(2,25)=16,48$, $P<0,0001$; $F(2,25)=17,96$, $P<0,0001$, respectivamente) Porém, o tratamento com AAS não demonstrou efeito significativo quando comparado com o veículo para as citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF α e INF γ). Ainda, um aumento significativo nos níveis séricos de IL-10 foi observado nos grupos tratados com AAS (35 ± 3 pg/mL) e *C. xanthocarpa* (41 ± 6 pg/mL), respectivamente, quando comparado com o grupo veículo (32 ± 4 pg/mL) nos camundongos hipercolesterolêmicos, porém esse aumento foi mais evidente no grupo tratado com a planta ($27,3\pm 5,9\%$) do que no ASS ($8,6\pm 3,5\%$) ($F(2, 25)=8,088$, $P=0,002$). Os tratamentos com *C. xanthocarpa* e AAS também causaram reduções significativas de $26,4 \pm 3\%$ e $38,4 \pm 6\%$ ($F(2,25) = 6,688$; $p = 0,0047$) nos níveis séricos de LDL-ox, respectivamente. No entanto, apenas o tratamento com *C. xanthocarpa* reduziu os níveis de anticorpos anti-LDLox quando comparado ao controle ($25,8 \pm 6\%$, ($F[2,25] = 5,573$, $P = 0,0106$)). Resultados anteriores de um estudo conduzido por Klafke et al. (2012) demonstram que a *C. xanthocarpa* teve habilidade de causar efeitos semelhantes aos de agentes hipolipemiantes como o das estatinas, uma vez que foi capaz de inibir o enzima HMG-CoA redutase, em camundongos LDLr KO (Klafke et al., 2012). Da mesma forma, um estudo que utilizou cápsulas de *C. xanthocarpa* mostrou que a planta teve capacidade de reduzir os níveis de colesterol total e LDL sanguíneos em indivíduos hipercolesterolêmicos, além de reduzir o estresse oxidativo e melhorar os níveis de óxido nítrico (Viecili et al., 2014). Portanto, de acordo com essas evidências, sugeriu-se que o processo inflamatório poderia estar envolvido na mediação do desenvolvimento e progressão da aterosclerose. Nesse sentido, sugere-se que a redução dos marcadores pró-inflamatórios pela planta podem estar envolvidos com a redução dos níveis de colesterol LDL e LDLox, associados aos seus efeitos antioxidantes e hipolipemiantes, semelhante ao de estatinas. Ainda, é importante salientar que o tratamento com *C. xanthocarpa* não induziu atividade ulcerogênica nos camundongos tratados com a planta, ao contrário do ASS (0 (0-1) e 4 (3-4), respectivamente; escala de 0-8 segundo Walker et al. (2013)).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, este estudo demonstrou que a *C. xanthocarpa* apresentou atividade anti-inflamatória superior a do AAS e que tanto a *C. xanthocarpa* quanto o AAS apresentaram efeito antioxidante, o qual foi detectado a partir da redução da LDLox. Neste sentido, este estudo foi importante, uma vez que, demonstrou que a *C. xanthocarpa* exerceu ações anti-



inflamatórias e antioxidantes melhores dos que às do AAS, sem causar atividade ulcerogênica, um dos principais efeitos colaterais desse medicamento. Baseado nesses resultados, este estudo abre novas possibilidades de pesquisas que visam comprovar os mecanismos envolvidos na ação da *C. xanthocarpa*, como a melhora do estresse oxidativo e da inflamação vascular no processo da aterosclerose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KLAFKE, J. Z.; DA SILVA, M. A.; ROSSATO, M. F.; *et al.* Antiplatelet, Antithrombotic, and Fibrinolytic Activities of *Campomanesia xanthocarpa*. **Evidence-based complementary and alternative medicine**. v. 2012, p. 1-8. 2012.

SPITE, M.; SERHAN, C. N. Novel lipid mediators promote resolution of acute inflammation: impact of aspirin and statins. **Circulation research**. v.107, p. 1170–84. 2010.

VIECILI, P. R. N.; BORGES, D. O.; KIRSTEN, K. *et al.* Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals. **Atherosclerosis**. v. 234, p. 85–92. 2014.

WALKER, C. I. B., TREVISAN, G., ROSSATO, M. F., *et al.* Antinociceptive effect of *Mirabilis jalapa* on acute and chronic pain models in mice. **Journal of ethnopharmacology**. 149, 685–93. 2013.

ZADELAAR, S.; KLEEMANN, R.; VERSCHUREN, L. *et al.* Mouse models for atherosclerosis and pharmaceutical modifiers. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**. v.27, p. 1706–21. 2007.