



AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE *CAMPOMANESIA XANTHOCARPA* EM PARÂMETROS PRÓ- E ANTI-INFLAMATÓRIOS EM CAMUNDONGOS HIPERCOLESTEROLÊMICOS, SEGUIDA DO RECONHECIMENTO DOS SEUS COMPONENTES FITOQUÍMICOS PARA ANÁLISE DOS ISOLADOS SOBRE A ATIVIDADE DA ENZIMA 3-HIDROXI-3-METHIL-GLUTARIL-COA REDUTASE

RUBIN, Fabiane H.¹; ALMEIDA, Amanda S.¹; SCHIMIDT, Aline¹; PORTO, Fernando¹; PEREIRA, Roberta L. D.²; OTERO, Juliana²; VIECILI, Paulo R. N.³; KLAFKE, Jonatas Z.⁴

Palavras-Chave: Aterosclerose. *Campomanesia xanthocarpa*. Estatinas. Inflamação.

Introdução

A inflamação desempenha um papel importante no processo de aterogênese, participando desde o desenvolvimento das camadas de gordura até a ruptura da placa aterosclerótica (LIBBY, 2002). A inflamação aterogênica é iniciada como resposta à lesão vascular e é normalmente seguida de peroxidação e consequente acumulação lipídica (GLASS; WITZTUM, 2001). Em resposta a esta lesão ocorre o recrutamento de monócitos para espaço subendotelial, os quais liberam mediadores inflamatórios, incluindo citocinas e moléculas de adesão (RYAN *et al.*, 2009).

As estatinas (inibidores da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase/ HMG COA-redutase) são utilizadas para diminuir os níveis de colesterol sanguíneo, sendo cada vez mais reconhecidas como agentes anti-inflamatórios, por seu efeito pleiotrópico de classe, com isso participando da reversão da aterogênese e consequentemente diminui o nº de óbitos cardiovasculares (JAIN; RIDKER, 2005). Os efeitos benéficos das estatinas podem se estender além de sua ação hipolipemiante (WANG *et al.*, 2008), pois são consideradas como agentes terapêuticos para o tratamento de doenças inflamatórias e auto-imunes (TRISTANO; FULLER, 2006).

¹ Alunos de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta, que participam do Grupo Multidisciplinar em Saúde.

² Alunas do Programa de Pós Graduação: Atenção Integral à Saúde pela Universidade de Cruz Alta.

³ Professor Co-orientador do projeto.

⁴ Professor Orientador do projeto e professor na Universidade de Cruz Alta.



Por outro lado, a planta *Campomanesia xanthocarpa* Berg. (Myrtaceae), popularmente conhecida como “guavirova”, vem sendo usada empiricamente para reduzir o colesterol sanguíneo, estando presente na região sul do Brasil (ALICE *et al.*, 1995). Além do efeito hipocolesterolêmico, verificado pela inibição da atividade da enzima HMG COA-redutase, a planta possui efeito antioxidante, antitrombótico, antiplaquetário e fibrinolítico (KLAFKE *et al.*, 2010; KLAFKE *et al.*, 2012).

Sabendo que as estatinas possuem ação anti-inflamatória somado aos efeitos encontrados nas pesquisas com a *C. xanthocarpa*, muito semelhantes aos efeitos das estatinas, pode-se hipotetizar que esta planta teria também efeito anti-inflamatório, salientando que ainda não há informação científica publicada sobre este efeito. Além disso, uma vez sendo um novo composto natural em estudo, pouco se sabe sobre quais componentes presentes nas folhas da planta poderiam estar desempenhando tal efeito. Assim, os objetivos deste projeto são investigar os possíveis efeitos da *C. xanthocarpa* em parâmetros pró- e anti-inflamatórios, bem como isolar os componentes da folha da planta para testá-los sobre a atividade da enzima HMG COA-redutase.

Metodologia

Para este estudo, as folhas foram coletadas de uma árvore de *Campomanesia xanthocarpa*, identificada pelo herbário da Universidade de Cruz Alta (nº 1088), para produção do extrato aquoso (KLAFKE *et al.*, 2012). Serão utilizados quarenta camundongos machos homocigotos deficientes para o receptor LDL (C57BL / 6), que serão alimentados com uma dieta rica em colesterol (ração normal suplementado com 1,25% de colesterol e 20% de gordura de manteiga) para forçar o sistema de transporte de lipoproteínas durante 4 semanas. Após serão divididos aleatoriamente em grupos distintos (10 animais) e submetidos aos seguintes tratamentos: (1) grupo controle, (2) 100 mg/Kg de extrato de *C. xanthocarpa*, (3) 100 mg/Kg de aspirina ou (4) 10 mg/Kg de atorvastatina, etapa que está em andamento. Os tratamentos farmacológicos serão administrados oralmente uma vez por dia durante 5 dias consecutivos. Este último tratamento será realizado 3 h antes da coleta de sangue.



As determinações serão realizadas a partir de amostras de sangue total coletado com e sem anticoagulante. A partir do soro, as concentrações de colesterol total, LDL, HDL e triglicérides serão medidas usando métodos enzimáticos (com kits comerciais por Labtest Diagnóstica AS), e a partir do plasma, serão quantificados os marcadores inflamatórios (por kits comerciais da Bioscience®, SAN DIEGO, USA).

Todos os produtos químicos de grau analítico e a presença de cinco compostos fenólicos foram investigados, a partir do extrato aquoso, utilizando a Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) através do sistema de (CLEAD-DAD).

O ensaio da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase será baseado na medição espectrofotométrica da diminuição na absorbância NADPH reduzido em 340 nm, utilizando os isolados puros que foram identificadas no HPLC, as quais serão adquiridos comercialmente.

Resultados e Discussões

Até o atual período, apenas foram realizados os experimentos referentes à Cromatografia líquida de alta performance (HPLC) das folhas de *C. Xanthocarpa* (Figura 1). A análise do HPLC revelou que a planta possui flavonóides (quercetina, rutina e Kaempferol) e ácidos fenólicos (ácido gálico e clorogênico). Esses compostos são antioxidantes que possuem ações importantes sobre a hipercolesterolemia, pois exercem efeitos anti-escleróticos, anti-trombóticos podendo e inibem processos de oxidação (HOLLMAN, 2001). Os flavonóides (quercetina, rutina e kaempferol) estão envolvidos na inibição da oxidação de LDL, reduzindo a aterogenicidade e o risco de desenvolver doença arterial coronariana (DAC) (STEINBERG, 2000), além disso, a quercetina e o kaempferol possuem ação anti-inflamatória por inibirem a enzima fosfolipase A₂ (KIM *et al.*, 2004), e a rutina é capaz de inibir a secreção de citocinas pró-inflamatórias (LÓPEZ-POSADAS *et al.*; 2008).

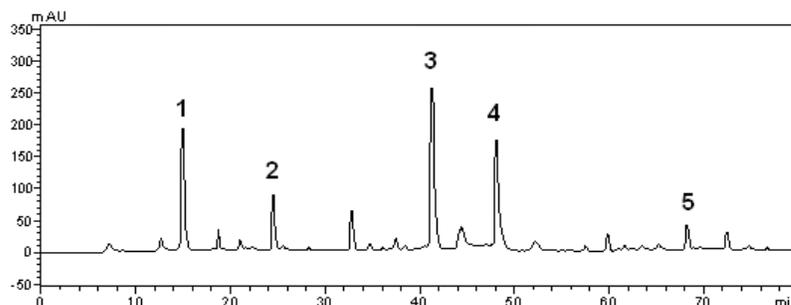


Figura 1- Representação dos resultados da Cromatografia de alta performance da *Campomanesia xanthocarpa*. Ácido Gálico (pico 1), Ácido clorogênico (pico 2), Rutina (pico 3), Quercetina (pico 4) e Kaempferol (pico 5).

Conclusão

Até o presente momento, o HPLC (Cromatografia líquida de alta eficiência) das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* apresentou componentes fitoquímicos com potencial antioxidante e antiinflamatório, podendo, de alguma forma, contribuir para o efeito anti-inflamatório aterogênico. Clinicamente, isso é importante, pois assim como as estatinas, a *c. xanthocarpa* pode apresentar efeitos pleiotrópicos, contribuindo alternativamente para o tratamento da hipercolesterolemia.

Referências

- ALICE, C. B. *et al.* **Plantas Mediciniais De Uso Popular: Atlas Farmacognóstico**. Ulbra, Canoas, Brasil, 1995.
- GLASS, C. K.; WITZTUM, J. L. Atherosclerosis. The road ahead. **Cell**, p. 503–516, 2001.
- HOLLMAN, P. C. H. Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? **J Sci Food Agric**, v. 81, p. 842-852, 2001.
- JAIN, M. K.; RIDKER, P. M. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. **Nat Rev Drug Discov**, v. 4, p. 977–987, 2005.
- KIM, H. P. *et al.* **Pharmacol.** p.96, 229, 2004.
- KLAFKE, J. Z. *et al.* Antiplatelet, Antithrombotic, and Fibrinolytic Activities of *Campomanesia xanthocarpa*. **Evid Based Complement Alternat Med**, 2012.



KLAFKE, J. Z. *et al.* Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **J Ethnopharmacol**, v. 127, p. 299–305, 2010;

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, p. 868–874, 2002.

LÓPEZ-POSADAS, R. *et al.* **Biochem. Pharmacol.** p.76, 495, 2008.

RYAN, S.; TAYLOR, C. T.; MCNICHOLAS, W. T. Systemic inflammation: a key factor in the pathogenesis of cardiovascular complications in obstructive sleep apnoea syndrome? **Thorax**, v.64, p. 631–636, 2009.

STEINBERG, D. Is there a potential therapeutic role for vitamin E and other antioxidants in atherosclerosis? **Curr Op Lipidol**, v. 11; p. 603-607, 2000.

TRISTANO, A. G; FULLER, K. Immunomodulatory effects of statins and autoimmune rheumatic diseases: novel intracellular mechanism involved. **Int Immunopharmacol**, 2006; 6:1833–1846.

WANG, C. Y.; LIU, P. Y.; LIAO, J. K. Pleiotropic effects of statin therapy: molecular mechanisms and clinical results. **Trends Mol Med**, v. 14, p, 37–44, 2008.