



**UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA
UNIVERSIDADE REGIONAL DO NOROESTE DO
ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM
ATENÇÃO INTEGRAL À SAÚDE**

**EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ANTIOXIDANTE
DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Campomanesia*
xanthocarpa EM CAMUNDONGOS
HIPERCOLESTEROLÊMICOS DEFICIENTES PARA O
RECEPTOR LDL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ROBERTA LELIS DIAS PEREIRA

**Cruz Alta-RS, Brasil
2016**

**EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ANTIOXIDANTE
DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Campomanesia
xanthocarpa* EM CAMUNDONGOS
HIPERCOLESTEROLÊMICOS DEFICIENTES PARA O
RECEPTOR LDL**

Por

ROBERTA LÉLIS DIAS PEREIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde, da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ, RS), em associação ampla à Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Atenção Integral à Saúde**

Orientador: Prof. Dr. Jonatas Zeni Klafke

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Ricardo Nazário Vecili

**Cruz Alta-RS, Brasil
2016**

**UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA E UNIVERSIDADE
REGIONAL DO NOROESTE DO ESTADO DO RIO
GRANDE DO SUL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM
ATENÇÃO INTEGRAL À SAÚDE**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ANTIOXIDANTE DO EXTRATO
DAS FOLHAS DE *Campomanesia xanthocarpa* EM CAMUNDONGOS
HIPERCOLESTEROLÉMICOS DEFICIENTES PARA O RECEPTOR
LDL**

elaborada por

ROBERTA LELIS DIAS PEREIRA

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Atenção Integral à Saúde

Prof. Dr. Jonatas Zeni Klafke
(Orientador)

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr^a. Roberta Cattaneo Horn

Prof. Dr. Thiago Gomes Heck

Prof. Dr^a. Rita Leal Sperotto

Cruz Alta, 16 de março de 2016.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação de mestrado ao meu esposo Gabriel, meus pais Roberto e Lúcia, e meu irmão André, que apoiam e incentivam minhas escolhas e decisões.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida e por sua infinita bondade e misericórdia em proporcionar momentos de conquistas em minha trajetória.

Ao meu esposo Gabriel, pelo carinho e paciência dedicados a mim especialmente neste período.

Ao meus pais e irmão, Roberto, Lúcia e André, pelo apoio incondicional, motivação, e oportunidade de trilhar esse caminho de estudos.

Ao meu orientador e amigo, professor doutor Jonatas Zeni Klafke pela orientação, paciência, aprendizado, compreensão, disposição, apoio e ajuda disponibilizados em todos os momentos.

Aos colegas e professores do Grupo Multidisciplinar em Saúde (GMS), meu co-orientador professor doutor Paulo Ricardo Nazário Viecili, por suas idéias infinitas e melhorias constantes em nossa trajetória; Juliana Otero, colega de estudos e ombro amigo em momentos de aflição; Mônica Jaskulski e Henrique Moraes Hamerski, pelos momentos vivenciados em aulas e viagens; Gabriela Elisa Hirsch, Mariana Migliorini Parisi, Fernando Garcez Porto, Amanda Spring de Almeida, Fabiane Horbach Rubin, Aline Schmidt, Sabrina Nascimento, por todo e cada subsídio para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde, colegas de turma que se tornaram amigos, e professores que me permitiram aumentar o conhecimento nas mais diversas áreas, à Universidade de Cruz Alta e Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul.

A todos os envolvidos neste trabalho, que possibilitaram e contribuíram para a realização deste estudo, como a professora doutora Sara Marchesan de Oliveira, professora e pesquisadora do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria, professora doutora Marta Maria Medeiros Frescura Duarte, professora e pesquisadora na Universidade Luterana do Brasil, professora doutora Gabriela Trevisan, professora e pesquisadora do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense, mestranda em Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria, Indiara Brusco.

*“Não me guio pelo que vejo,
mas eu sigo pelo que creio.
Eu não olho as circunstâncias,
eu vejo o Teu amor”.*
(Fernandinho)

EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS E ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Campomanesia xanthocarpa* EM CAMUNDONGOS HIPERCOLESTEROLÊMICOS DEFICIENTES PARA O RECEPTOR LDL

RESUMO

Campomanesia xanthocarpa, uma planta popularmente conhecida como guavirova, possui atividade antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica em camundongos, não demonstrando atividade ulcerogênica quando comparado com o ácido acetilsalicílico (AAS). O AAS atua promovendo a acetilação da ciclooxigenase-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. O mesmo ainda apresenta propriedades antioxidantes que poderiam influenciar no balanço oxidante e antioxidante. Uma vez que a planta parece desenvolver atividades semelhantes aos efeitos do AAS, este estudo tem como objetivo comparar os efeitos do extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa* e do AAS em parâmetros inflamatórios e oxidante observados em camundongos homocigóticos *knockout* para o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLr-KO) tratados com uma dieta hipercolesterolêmica. Neste estudo, 28 camundongos machos LDLr-KO foram divididos em três grupos e alimentados previamente com uma dieta hipercolesterolêmica por 4 semanas. Uma redução de 19,2±3%, 20,4±1,3%, 24,7±1,2% e 20,8±1,7%, respectivamente, nos níveis séricos de IL-1, IL-6, TNF- α e INF- γ , foi observada somente no grupo *C. xanthocarpa*, quando comparado com o 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) em camundongos hipercolesterolêmicos. Os níveis séricos de IL-6, TNF- α e INF- γ encontrados após os 5 dias de tratamento de *C. xanthocarpa* foram de 66±8 pg/mL, 75±6 pg/mL, 83±5 pg/mL, 97±7 μ g/mL respectivamente. O tratamento com AAS não demonstrou variação nesses parâmetros quando comparado com o veículo. Um aumento de 8,6±3,5% e 27,3±5,9% nos níveis séricos de IL-10 foram observados nos grupos tratados com AAS (35±3 pg/mL) e *C. xanthocarpa* (41±6 pg/mL), respectivamente, quando comparados com o grupo veículo (32±3 pg/mL) (F(2, 25)=8,088, p=0,002) nos camundongos hipercolesterolêmicos. Uma redução de 26,4±3% e de 38,4±6% nos níveis séricos de oxLDL, foi observada, respectivamente, no grupo AAS e *C. xanthocarpa*, quando comparados ao grupo veículo (F(2,25)= 6,688; p=0,0047). Além disso, uma redução de 25,8±6% nos níveis séricos de anti-oxLDL foi observada somente no grupo tratado com *C. xanthocarpa*, quando comparado com o grupo veículo (F(2,25)= 5,573; p=0,0106). O AAS não demonstrou efeito sobre este parâmetro. Associado a esses efeitos, o extrato analisado não induziu atividade ulcerogênica nos camundongos tratados, enquanto o AAS (100 mg/kg/dia, controle positivo) induziu a formação de lesões. Em conclusão, a *C. xanthocarpa* apresentou atividade anti-inflamatória melhor que a do AAS em modelo de aterogênese em animais hipercolesterolêmicos, e sugere-se que a *C. xanthocarpa* apresenta efeito antioxidante, observado a partir da redução dos níveis séricos de oxLDL e anti-oxLDL no mesmo modelo experimental.

Palavras-chave: Plantas medicinais, interleucinas, citocinas, inflamação, compostos fenólicos, atividade antioxidante.

**ANTI-INFLAMMATORIES AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF EXTRACT OF
Campomanesia xanthocarpa LEAVES IN HYPERCHOLESTEROLEMIC MICE
DISABLED FOR LDL RECEIVER**

ABSTRACT

The *Campomanesia xanthocarpa*, popularly known as guavirova, has antiplatelet, antithrombotic and fibrinolytic activity in mice, showing no ulcerogenic activity compared with acetylsalicylic acid (AAS). AAS promotes the acetylation of cyclooxygenase-2 (COX-2) modifying its active site and thus allowing the final production lipoxins, which develop anti-inflammatory role in stimulating the resolution of inflammation. The same also has antioxidant properties that could influence the oxidant and antioxidant balance. Thus, since the plant seems to develop activities similar to the effects of AAS, this study aims to compare the effects of aqueous extract of *C. xanthocarpa* sheets and AAS on inflammatory parameters and oxidative observed in homozygous *knockout* mice to the receiver low-density lipoprotein (LDLr-KO) treated with a hypercholesterolemic diet. In this study, 28 LDL-r *knockout* male mice were divided into three groups and previously fed a hypercholesterolemic diet for 4 weeks. A reduction of 19.2±3%, 20.4±1.3%, 24.7±1.2% and 20.8±1.7%, respectively, serum levels of IL-1, IL-6, TNF-α and INF-γ was observed in group *C. xanthocarpa* only when compared with the vehicle group (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, respectively) in hypercholesterolemic mice. Serum IL-6, TNF-α and IFN-γ were found after the 5 days of treatment *C. xanthocarpa* were 66±8 pg/mL, 75±6 pg/mL at 83±5 pg/mL at 97±7 μg/mL respectively. The treatment with AAS showed no effect compared to vehicle. A increase of 8.6±3.5%, 27.3±5.9% in the serum levels of IL-10 was observed in the group treated with AAS(35±3 pg/mL) and *C. xanthocarpa* (41±6 pg/mL), respectively, compared to vehicle group (32±4 pg/mL) (F(2,25) = 8.088, p = 0.002) in hypercholesterolemic mice. A reduction of 26.4±3% and 38.4±6% in the serum levels of oxLDL was observed respectively in the AAS and *C. xanthocarpa* compared with the vehicle group (F(2,25) = 6.688; p = 0.0047). Serum oxLDL found after 5 days of treatment were 0.81±0.12 mg/dL for the AAS, and 0.068 ± 0.24 mg/dL for *C. xanthocarpa*, with the vehicle showed 1 10±0.34 mg/dL. Furthermore, a reduction of 25.8±6% in the serum levels of anti-oxLDL was observed only in the group treated with *C. xanthocarpa*, when compared with the vehicle group (F(2,25) = 5.573; p = 0.0106). The AAS showed no effect on this parameter. Furthermore, the analysis extract did not induce ulcerogenic activity, while AAS (100 mg/kg/day, positive control) induced the formation of lesions. In conclusion, *C. xanthocarpa* showed anti-inflammatory activity better than that of AAS in a model of atherogenesis in hypercholesterolemic animals, and it is suggested that the *C. xanthocarpa* have antioxidant effect, identified from the reduction of oxLDL in that experimental model.

Keywords: Medicinal plant, interleukins, cytokines, inflammation, phenolic compounds, antioxidant activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Foto ilustrativa da planta <i>Campomanesia xanthocarpa</i> com frutos e folhas	33
Figura 2. Foto ilustrativa dos resultados encontrados	49

LISTA DE ABREVIATURAS

Anti-oxLDL: anticorpos anti lipoproteína de baixa densidade oxidada;
Apo: apolipoproteína;
AAS: ácido acetilsalicílico;
COX: ciclooxigenase;
DAC: doença arterial coronariana;
eNOS: óxido nítrico-sintase endotelial;
EROS: espécies reativas de oxigênio;
HMGr: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA-redutase;
IAM: infarto agudo do miocárdio;
IFN- γ : interferon gama;
IL: interleucina;
LDL: lipoproteínas de baixa densidade;
LDLr-KO: *knockout* para o receptor de lipoproteína de baixa densidade;
LX: lipoxina;
MHC: complexo principal de histocompatibilidade;
NADPH: fosfato nicotinamida adenina dinucleotídeo;
NFkB: fator nuclear kappa B;
NK: *natural killer*;
ON: óxido nítrico;
oxLDL: lipoproteína de baixa densidade oxidada;
PCR: proteína C reativa;
PG: prostaglandina;
SCA: síndrome coronariana aguda;
TNF α : fator de necrose tumoral-alfa;
TX: tromboxano;
VCAM: molécula de adesão celular vascular;
15R-HETH: ácido 15R-hidroxi-eicosatetraenóico.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 Hipercolesterolemia	19
2.2 Disfunção endotelial, inflamação e aterosclerose	19
2.3 Biomarcadores inflamatórios	22
2.4 Estratégias Terapêuticas	26
2.4.1 Ácido Acetilsalicílico	28
2.4.2 <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	31
3. OBJETIVOS DA DISSERTAÇÃO.....	38
3.1 Objetivo geral.....	39
3.2 Objetivos específicos	397
4. ARTIGO.....	38
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA DISSERTAÇÃO.....	50

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação é composta de uma breve introdução a respeito do tema abordado, que posteriormente é reiterado com uma revisão bibliográfica.

Em seguida são relatados os objetivos deste trabalho.

Os itens materiais e métodos, resultados, discussões e conclusão, que fazem parte desta dissertação, estão apresentados na forma de artigo, sendo que o mesmo se encontra estruturado de acordo com as normas da revista científica *Phytomedicine*, na qual foi publicado em dezembro de 2015.

Para finalizar, as considerações finais estão dispostas, e as referências bibliográficas constadas no final desta dissertação, referem-se aos itens introdução e revisão bibliográfica anteriormente abordados.

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte e morbidade em todo o mundo e representam 40% de toda a mortalidade nas sociedades ocidentais (SOEHNLEIN, 2015). Segundo a Organização Mundial de Saúde, em 2015, aproximadamente 30% da mortalidade mundial pode ser atribuída às doenças cardiovasculares, as quais têm como principal causa a aterosclerose (COUNTRIES; FUSTER; KELLY, 2010; GREENLAND et al., 2003).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica multifatorial que atinge a parede arterial e leva a diversas patologias sintomáticas como síndromes coronarianas agudas (SCA), derrame e oclusões arteriais periféricas, devido à ruptura da placa ateromatosa e episódios agudos tromboembólicos (HANSSON, 2005; MARANHAO; LEITE, 2015).

Embora a patogênese do processo de aterosclerose seja multifatorial, o primeiro passo neste processo pode ser a disfunção endotelial induzida por dislipidemia, sendo que sua progressão é oriunda da ativação dos componentes celulares e humorais da inflamação (COSTA et al., 2016).

Um dos principais fatores de risco envolvidos com a aterosclerose é a hipercolesterolemia, caracterizada pelo acúmulo de colesterol total sérico acima de 240 mg/dL, usualmente acompanhado de um aumento dos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) acima de 160 mg/dL, o qual conduz a ativação de macrófagos e outras células do sistema imune, promovendo respostas inflamatórias devido a fagocitose de colesterol pelos macrófagos, os quais passam então a serem chamados de células espumosas (TALL; YVAN-CHARVET, 2015).

Nesse sentido, especialmente por causa da hipercolesterolemia, ocorre o desenvolvimento de placas ateromatosas, as quais assim se formam também devido à disfunção endotelial somada a alterações estruturais que permitem a acumulação e retenção de LDL na íntima arterial (NOURI et al., 2015). Além disso, a hipercolesterolemia se relaciona fortemente ao dano oxidativo, afetando assim o estado antioxidante e as LDL (RAFIEIAN-KOPAEI et al., 2014). Dentro desse contexto, as LDL são oxidadas e conduzem a formação de LDL oxidada (oxLDL), fato que desencadeia a expressão de moléculas de adesão e secreção de citocinas pró-inflamatórias pelas células endoteliais, as quais, em conjunto com a deposição de citocinas derivadas de plaquetas, levam a infiltração de células imunes na íntima, como monócitos e macrófagos, que liberam mais citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão contribuindo para aterogênese, a ruptura ou erosão da lesão

aterosclerótica avançada exacerbando à ativação e agregação de plaquetas sobre a superfície da placa rompida (RIDKER; LÜSCHER, 2014; WEBER; NOELS, 2011; MASSBERG et al., 2002).

O processo inflamatório envolve monócitos, que são recrutados para o espaço subendotelial, onde ocorre a liberação de mediadores inflamatórios, incluindo citocinas e moléculas de adesão (RYAN; TAYLOR; MCNICHOLAS, 2009). Além das células inflamatórias, o tecido adiposo visceral também é capaz de secretar vários mediadores inflamatórios, incluindo citocinas pró-inflamatórias como a interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1), o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), o interferon gama (IFN- γ), e citocinas anti-inflamatórias como a interleucina-10 (IL-10) (FAIN et al., 2004). Dessa forma, fica evidente o envolvimento das interleucinas e outros mediadores inflamatórios no que se refere à aterosclerose.

Os níveis da IL-6 parecem ser preditivos de doença arterial coronariana (DAC) futura e estão elevados em pacientes com angina instável em comparação aos indivíduos com angina estável (HAUSER et al., 1998; PRINSEN et al., 2003). As citocinas da família IL-1 tem ação pleiotrópica com efeitos fisiológicos em vários tipos celulares (macrófagos) e participam na fisiopatologia das doenças vasculares (BRADDOCK; QUINN, 2004).

O fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é uma citocina imunomodulatória e pró-inflamatória que participa na aceleração da aterogênese por meio da indução da expressão de moléculas de adesão vascular, e que também reduz a biodisponibilidade do óxido nítrico nas células endoteliais e prejudica a vasodilatação endotélio-dependente, promovendo disfunção endotelial (GOMES et al., 2010).

O Interferon-gama (IFN- γ) é produzido principalmente por células T, B e NK (Natural Killer). Esta citocina está envolvida na iniciação e modulação de uma grande variedade de respostas imunes, muitas das quais são pró-aterogênicas (BILLIAU; MATTHYS, 2009). Existem, ainda, evidências que demonstram o envolvimento do IFN- γ na patogênese da aterosclerose, pois a ativação dos macrófagos pelo IFN- γ conduz à produção de outras citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α e a IL-6, radicais de oxigênio, e metaloproteinases (TEDGUI; MALLAT, 2006).

A IL-10 é secretada por muitas células, principalmente por monócitos e macrófagos, suprimindo a inflamação por vários mecanismos imunológicos (BIONDO-SIMÕES et al., 2003). Além disso, a IL-10 participa da inibição da apoptose de macrófagos, da expressão do fator tecidual, do fibrinogênio e da proliferação de

células musculares lisas, mecanismos esses, diretamente relacionados com a progressão da aterosclerose (HEESCHEN et al., 2003).

Além de desempenhar uma função essencial na hemostasia, as plaquetas têm papel importante em processos inflamatórios e imunológicos, visto que, após ativadas, as mesmas liberam citocinas pró-inflamatórias (RONDINA; WEYRICH; ZIMMERMAN, 2013; PROJAHN; KOENEN, 2012). A partir deste contexto, tratamentos eficazes que busquem a prevenção secundária da doença aterosclerótica têm sido propostos (RIDKER; LÜSCHER, 2014).

Cyrus (2002) relata em seu estudo que doses baixas de ácido acetilsalicílico (AAS), amplamente utilizado para função antiplaquetária como um inibidor de cicloxigenase (COX) não seletivo, tem um efeito significativo sobre a composição da placa, uma vez que aumenta o número de células musculares lisas, o conteúdo de colágeno e reduz as células espumosas no interior das lesões ateroscleróticas da aorta.

Sendo assim, doses baixas de AAS (81 mg, recomendado pela *American Heart Association*) são amplamente utilizadas para a prevenção secundária das complicações da doença cardiovascular, já que esta dosagem inibe preferencialmente o Tromboxano A₂ (TXA₂), um vasoconstritor derivado de plaquetas, ao invés da prostaciclina I₂ (PGI₂) derivada do endotélio (CLARKE et al., 1991). Este efeito diferencial demonstra vantagens, uma vez que a produção de PGI₂ preservada promove as propriedades antitrombóticas e anti-inflamatórias do endotélio. Este fenômeno é observado no estudo de Cyrus (2002), o qual demonstra que o AAS desempenha atividade anti-inflamatória sem interferir na biossíntese de PGI₂, e este efeito está associado a um atraso significativo no desenvolvimento da lesão aterosclerótica.

É importante salientar ainda que o AAS promove a acetilação da cicloxigenase-2 (COX-2), modificando o sítio ativo da mesma e, assim, permitindo a conversão de ácido araquidônico em ácido 15R-hidroxi-eicosatetraenoico (15R-HETH) nas células endoteliais vasculares, sendo que este intermediário é então convertido em lipoxinas (LX) pelos leucócitos (SPITE; SERHAN, 2010). Exemplificando, pode-se citar a formação da 15-epi-lipoxina A₄, que está presente em indivíduos saudáveis que tomam AAS em baixas doses, independente da idade e do gênero (CHIANG et al., 2006, 2004). As LX são mediadores com propriedades anti-inflamatórias, sendo que a LX A₄ estimula a fagocitose de neutrófilos apoptóticos por macrófagos para tentar

conter a inflamação, além de inibir o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucinas (IL) -1, 6 e 8 (BONNANS et al., 2002).

Além disso, outro estudo conduzido por Zhao e colaboradores (2008) concluíram que o AAS atua prevenindo o desenvolvimento da aterosclerose, tendo em vista que este medicamento atenua os níveis de oxLDL, e seus efeitos inibidores estão associados com a inibição da atividade de NF- κ B (fator de transcrição nuclear Kappa B), consequentemente reduzindo a atividade da NADPH (fosfato nicotinamida adenina dinucleotídeo) oxidase, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a disfunção endotelial, colocando o AAS como um agente protetor contra danos oxidativos.

No entanto, apesar do consenso em afirmar que o AAS fornece um efeito secundário na prevenção de desordens isquêmicas cardiovasculares, esta droga pode produzir efeitos adversos como eventos hemorrágicos e hemorragia gastrointestinal (JOHNSON, 2008). Estudos preliminares realizados em indivíduos saudáveis mostraram que a curto prazo, a administração do AAS em baixas doses pode induzir inflamação da mucosa leve do intestino delgado. Todavia, seu uso crônico resulta numa variedade de lesões no intestino delgado que incluem múltiplas petéquias, perda de vilosidades, erosões, e úlceras redondas, irregulares ou extravasadas (ENDO et al., 2014).

Dessa forma, vários estudos e ensaios realizados anteriormente, levaram a um esforço na busca de novos compostos naturais para suprimir a agregação plaquetária sem causar efeitos adversos (LAU et al., 2009; RYU et al., 2009). Como consequência, diversos efeitos protetores de plantas têm sido revelados contra doenças trombóticas, como as trombooses coronárias e a aterosclerose, e diversos estudos experimentais têm sido realizados *in vivo* e *in vitro*, mostrando especialmente um efeito anti-inflamatório (VIECILI et al., 2014; PAPOUTSI et al., 2008; BERROUGUI et al., 2004; KRIS-ETHERTON et al., 2002; WANG; NG, 1999).

Uma dessas plantas é encontrada no Brasil, a planta comestível *Campomanesia xanthocarpa* Berg. (Myrtaceae), popularmente conhecida como “guavirova”, presente na região Sul, e também encontrada na Argentina, Paraguai e Uruguai, a qual tem demonstrado possuir um vasto espectro de efeitos fisiológicos (LORENZI, 2008). As folhas desta planta são utilizadas popularmente como infusão para doenças inflamatórias e hipercolesterolemia (ALICE et al., 1995). Curiosamente, a *C. xanthocarpa* mostrou uma atividade antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica

em camundongos e não mostrou atividade ulcerogênica na administração oral quando comparado com o AAS (KLAFKE et al., 2012).

Um recente estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa, demonstrou que o tratamento com cápsulas de *C. xanthocarpa* reduziu o colesterol total sanguíneo e os níveis de LDL em indivíduos hipercolesterolêmicos, além de diminuir o estresse oxidativo e melhorar os níveis de óxido nítrico (ON), um potente vasodilatador (VIECILI et al., 2014). Além disso, a *C. xanthocarpa* desempenha atividade hipolipemiante uma vez que produz efeitos semelhantes ao mecanismo de medicamentos hipolipemiantes (estatinas), inibindo a enzima hidróxi-3-metil-glutaril-CoenzimaA redutase (HMGGr), enzima passo limitante para a síntese de colesterol (KLAFKE et al., 2010).

Neste ponto, cabe salientar que as estatinas possuem efeito pleiotrópico anti-inflamatório e antioxidante (DAVIGNON; GANZ, 2004) e também causam modificações da COX-2, através de nitrosilação, conduzindo ao aumento da produção da 15-epi-lipoxina A4, uma lipoxina anti-inflamatória eicosanoide, que impacta sobre a biossíntese de resolvinas, as quais são importantes na resolução da inflamação (SPITE; SERHAN, 2010). Logo, uma vez que a planta parece desenvolver atividades que são semelhantes aos efeitos tanto do AAS quanto das estatinas, a investigação de possíveis efeitos deste produto natural no processo aterosclerótico torna-se um importante alvo de pesquisa terapêutica, baseando-se na hipótese de que a planta possua efeitos anti-inflamatórios e antioxidante, melhorando assim os biomarcadores inflamatórios e oxidativo envolvidos com o processo aterosclerótico.

Portanto, sob esta perspectiva, o objetivo do presente estudo foi comparar os efeitos da *Campomanesia xanthocarpa* e do AAS em parâmetros inflamatórios de camundongos *knockout* para o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLr-KO), sendo este um modelo animal que se assemelha à hipercolesterolemia familiar humana com processo de aterosclerose em progressão (RABELO et al., 2003; ZADELAAR et al., 2007). A administração de uma dieta rica em gordura nestes camundongos aumenta ainda mais o colesterol total e o LDL oxidado, aumentando sistematicamente a inflamação e peroxidação lipídica e conduzindo ao desenvolvimento rápido de aterosclerose (WOUTERS et al., 2005).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Hipercolesterolemia

A hipercolesterolemia é um problema de saúde comum, amplamente aceita como um dos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças isquêmicas do coração, incluindo angina e infarto agudo do miocárdio (IAM) (GHANDEHARI; KAMAL-BAHL; WONG, 2008), sendo que, juntamente com a ativação do sistema imune inato pelo colesterol, acelera a aterosclerose (CIMATO; PALKA, 2015).

A hipercolesterolemia é caracterizada pelo acúmulo de colesterol total sérico acima de 240 mg/dL, usualmente manifestando-se com o aumento dos níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) acima de 160 mg/dL (HAMASAKI *et al.*, 2000). Este fator de risco resulta em uma elevação do risco de DAC, e conduz para o aumento de eventos cardiovasculares (DAVIDSON *et al.*, 2002).

O acúmulo de colesterol total sérico pode ocorrer por doenças monogênicas, em particular por defeito no gene receptor da LDL ou no gene da ApoB-100 (apolipoproteína B-100). Nesse sentido, centenas de mutações do receptor LDL foram detectadas em portadores de hipercolesterolemia familiar, algumas causando redução de sua expressão na membrana, outras, deformações na sua estrutura e função (ATOUM *et al.*, 2011). Também é importante salientar, que mutações no gene que codifica a ApoB-100 podem também causar hipercolesterolemia através da deficiência no acoplamento da LDL ao receptor celular (GARCÍA-ALVAREZ *et al.*, 2003). Todavia, mais comumente, a hipercolesterolemia resulta de mutações em múltiplos genes envolvidos no metabolismo lipídico, as chamadas hipercolesterolemias poligênicas, que são casos nos quais a interação entre fatores genéticos e ambientais determinam o fenótipo do perfil lipídico, por exemplo, o alelo ApoE-4, que pode contribuir para o aumento da colesterolemia (DAVIGNON, 2005)

Segundo PATEL e colaboradores (2015), existem fortes evidências de que as LDL plasmáticas na sua relação normal com a parede arterial, adentram às células endoteliais através de mecanismos de endocitose. Então, dentro da célula, as partículas de LDL são englobadas em lisossomos e hidrolisadas em fosfolípidios, triglicerídeos, proteínas e colesterol, de modo que os receptores específicos são reciclados até a superfície da membrana celular. O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo-chave no início da aterogênese, ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma (FORRESTER; MAKKAR; SHAH, 2005).

Schachinger *et al.* (2000) afirma que o aumento das LDL nativas no interior da célula endotelial, devido ao processo normal de endocitose por receptores específicos e também pelos inespecíficos, induziria ao maior consumo de óxido nítrico (ON) e acentuada produção de radicais livres. Já o aumento dos radicais livres, levaria a peroxidação dos ácidos graxos das partículas de LDL. Inúmeras evidências sugerem que a peroxidação de componentes da LDL é um evento relevante na gênese do ateroma (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Dessa maneira, diversos graus de oxidação da LDL podem existir, variando desde peroxidação de alvos fosfolipídicos específicos na superfície da partícula (a chamada “LDL minimamente oxidada”), até extensa oxidação dos lipídios internos e das proteínas da partícula. Como consequência da propagação destes processos, ocorre um acúmulo de subprodutos tóxicos, como os aldeídos malondialdeído e 4-hidroxinonenal, entre outros. Estes podem servir como marcadores do processo de oxidação. Em certos casos, porém, os efeitos biológicos da LDL minimamente modificada podem estar presentes sem que isto se reflita em níveis aumentados de quaisquer destes marcadores (GLASS; WITZTUM, 2001).

Segundo Schachinger; Britten; Zeiher (2000), as lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (oxLDL), provavelmente através da transformação da lecitina em lisolecitina, provocariam a disrupção da proteína G, receptor de membrana por onde atuam inúmeros agonistas estimuladores da via de produção do óxido nítrico, elas ainda causam retenção no espaço subendotelial; recrutamento e quimiotaxia de monócitos/macrófagos; ativação de monócitos/macrófagos e células musculares lisas, a qual induz a captação intracelular da LDL através dos receptores *scavenger*, formando as “células espumosas”; toxicidade para células endoteliais; e estímulo à produção excessiva de radicais superóxido por células endoteliais, levando ao comprometimento inicial da célula endotelial (DHALLA; TEMSAH; NETTICADAN, 2000).

O aumento do estresse oxidativo pode contribuir para a patogênese de doenças cardiovasculares. Estudos clínicos experimentais têm sugerido que essas doenças estão associadas ao aumento da formação de radicais livres e à redução das defesas antioxidantes (PINHO *et al.*, 2010). Na parede vascular, diferentes oxidantes podem se originar de fontes celulares e extracelulares e de rotas enzimáticas e não enzimáticas. Atualmente, o mais importante mecanismo pelo qual se acredita que o estresse oxidativo altera a função endotelial é a inativação do ON pelos ânions

superóxidos e LDL oxidadas. Esses radicais livres desativam os receptores endoteliais para acetilcolina, serotonina, trombina, bradicinina e outros mediadores, diminuindo a estimulação da síntese de ON nas células endoteliais e, conseqüentemente, reduzindo a produção de óxido nítrico, prejudicando o relaxamento das células musculares lisas e predispondo à formação da placa aterosclerótica (YUNG *et al.*, 2006). Além disso, a própria oxLDL é citotóxica para as células endoteliais. Ela também promove a expressão de citocinas, é pró-inflamatória, causa inibição da eNOS, provoca vasoconstrição e adesão e aumenta a agregação plaquetária (PINHO *et al.*, 2010).

A célula endotelial comprometida, permitiria maior efluxo de LDL nativa e também de LDL oxidada para a região da íntima vascular, incrementando o processo de transcitose. Na íntima, as LDL nativas se oxidariam, aumentando o contingente das LDL oxidadas, que induziriam a migração de monócitos e dariam início à formação das células espumosas (PATEL *et al.*, 2015).

Augusti e colaboradores (2012) mostraram que em pacientes com um nível médio de LDL houve um atraso no aumento da oxidação do LDL, devido ao efeito protetor do anti-oxLDL. Esta ideia é apoiada através de outros estudos que demonstraram que mesmo pequenas alterações na LDL nativa a tornam imunogênica e que os anticorpos humorais são específicos para as modificações que ocorrem na ApoB (YOUNG; MCENENY, 2001).

Dessa maneira, ainda segundo Augusti *et al.* (2012), estes resultados indicam que os anticorpos circulantes respondem as modificações oxidativas na proteína LDL. Além disso, os anticorpos humorais redirecionam o local de degradação do LDL modificado, principalmente a partir do plasma para as células reticuloendoteliais, analisadas em fígado de coelhos. Assim, a anti-oxLDL pode melhorar a remoção de oxLDL a partir do soro e impedir sua entrada na parede arterial. Em acordo, uma relação inversa entre os níveis de anti-oxLDL e oxLDL em indivíduos saudáveis foi estudada, com a ideia de que a anti-oxLDL tenha um papel importante na depuração de oxLDL presente na circulação (AUGUSTI *et al.*, 2012).

Com uma muito rara exceção, a hipercolesterolemia familiar é uma doença autossômica dominante. Ambos homozigotos e heterozigotos hipercolesterolêmicos familiares resultam em acentuada redução na capacidade hepática em limpar lipoproteínas de baixa densidade ricas em colesterol aterogênico (LDL) da circulação, com conseqüente acúmulo desse colesterol LDL (WIEGMAN *et al.*, 2015). Em casos

graves, os níveis de LDL excedem 500 mg/dL. Começando no feto, sustentada pela exposição da parede arterial para níveis elevados de LDL, ocorre a aceleração na deposição de colesterol e inflamação vascular, levando ao desenvolvimento de aterosclerose, especialmente nas artérias coronárias e da aorta, e doença coronária prematura (WIEGMAN *et al.*, 2015).

Os camundongos *knockout* para o receptor de LDL, denominados LDLr-KO, são obtidos a partir de recombinação homóloga de células tronco embrionárias para produção de camundongos com perda funcional dos genes para receptores de LDL. As partículas de VLDL e LDL, normalmente, competem por receptores hepáticos comuns, denominados receptores de LDL ou B/E, os quais reconhecem as apolipoproteínas B e E (apoB e apoE), presentes nestas lipoproteínas (CATANOZI *et al.*, 2003).

Os camundongos LDLr-KO não possuem estes receptores de LDL de alta afinidade, porém, apresentam os receptores de LDL de baixa afinidade. Desta forma, o prejuízo na taxa de remoção de VLDL, por meio dos receptores B/E, resulta em aumento de competição na taxa de captação com as partículas de LDL nos receptores de baixa afinidade (ISHIBASHI *et al.*, 1994). Consequentemente, ambos os tipos de partículas (VLDL e LDL) podem apresentar suas concentrações plasmáticas simultaneamente aumentadas. Estes camundongos passam então a apresentar uma moderada hipercolesterolemia devido à ausência de receptores hepáticos suficientes para a captação de VLDL e LDL. No entanto, quando são alimentados com uma dieta rica em colesterol, eles tornam-se severamente hipercolesterolêmicos e desenvolvem aterosclerose aórtica (CATANOZI *et al.*, 2003; ISHIBASHI *et al.*, 1994)

2.2 Disfunção endotelial, inflamação e aterosclerose

A aterosclerose é uma condição inflamatória crônica associada com a ativação celular endotelial, estresse oxidativo e acúmulo de leucócitos nas paredes das artérias (TAILOR; GRANGER, 2004). Esta doença é caracterizada pelo desenvolvimento de placas gordurosas, denominadas placas ateromatosas, na superfície interna das paredes arteriais, de modo a constituir o processo conhecido como aterogênese (BECKSTROM *et al.*, 2007). Os principais fatores de risco que predisõem ao desenvolvimento da placa de ateroma incluem o avanço da idade, a hipertensão

arterial, a hipercolesterolemia, o tabagismo, a diabetes mellitus e a obesidade (WHITE; NEWBY; JOHNSON, 2016).

A hipercolesterolemia apresenta-se como um dos principais fatores de risco para o surgimento da aterosclerose, sendo que, juntamente com a inflamação, a ativação e disfunção endotelial, coopera para determinar a propensão de um indivíduo ao desenvolvimento da doença (WAEHRE et al., 2004).

Na presença de fatores de risco, o endotélio vascular expressa um tipo de resposta onde há ativação da proteína quinase C e do mensageiro transcricional fator nuclear kB, que por sua vez leva a expressão de moléculas de adesão à superfície das células endoteliais. Deste modo, esses eventos, iniciam e amplificam as respostas celulares e subcelulares em artérias coronárias que levam à disfunção endotelial. Isto ainda pode levar ao espessamento da íntima, a formação de placas, e, finalmente, ruptura da placa e eventos clínicos (TOUSOULIS; CHARAKIDA; STEFANADIS, 2008).

As teorias que justificam o desenvolvimento da placa de ateroma atribuem sua formação a uma resposta inflamatória crônica da parede arterial iniciada por lesão endotelial. A presença de inflamação na placa aterosclerótica tem sido considerada como um dos eventos iniciais que convertem uma placa estável em uma placa instável e vulnerável (GOEL et al., 2015). Embora a patogênese do processo de aterosclerose seja multifatorial, o primeiro passo neste processo pode ser a disfunção endotelial induzida por dislipidemia, sendo que sua progressão é oriunda da ativação dos componentes celulares e humorais da inflamação (CAI; HARRISON, 2000).

Múltiplas interações entre plaquetas, linfócitos T, macrófagos, células do músculo liso, moléculas de adesão e componentes genéticos têm sido documentadas e provavelmente promovam o ambiente de inflamação e crescimento necessários para provocar injúria endotelial. Este processo é propagado pelo aumento de transporte de LDL para a camada íntima, verificando-se o acúmulo dessas lipoproteínas, tanto na forma nativa quanto na oxidada, iniciando a formação da placa de ateroma (LIBBY, 2002).

Em sítios de ateromas iniciais, as moléculas de adesão têm emergido como particulares candidatas para adesão precoce de leucócitos no endotélio arterial (LIBBY, 2002). Acredita-se que a secreção de moléculas de adesão é regulada por citocinas sintetizadas em pequenas concentrações pelo endotélio arterial (FROSTEGÅRD, 2013). As citocinas interferem de maneiras diferentes na

aterogênese, tendo em vista que algumas citocinas agem nos processos pró-aterogênicos e outras antiaterogênicos, modulando características da placa e processos clínicos. As citocinas pró-inflamatórias clássicas, interleucina (IL)-1, IL-6, interferon gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), normalmente mediam processos pró-aterogênicos enquanto a IL-10 medeia vias antiaterogênicas (TOUSOULIS; CHARAKIDA; STEFANADIS, 2008). Na vigência de disfunção endotelial, a concentração destas citocinas elevam-se, estimulando a produção de moléculas de adesão, assim favorecendo o recrutamento e adesão de monócitos à superfície endotelial (FROSTEGÅRD, 2013).

Além dos monócitos, uma população de linfócitos diversificada é encontrada nas lesões ateroscleróticas com um número substancial de linfócitos T detectados. Os linfócitos T podem entrar na parede do vaso antes dos monócitos durante as fases iniciais da formação da lesão e permanecem ali ativados (TOUSOULIS; CHARAKIDA; STEFANADIS, 2008). Dessa forma, fica evidente o envolvimento de interleucinas e outros mediadores inflamatórios no que se refere à aterosclerose. Nos últimos anos, um número de biomarcadores têm sido propostos como preditores significativos de aterosclerose e suas complicações trombóticas, entre as quais angina instável e infarto agudo do miocárdio (IAM) (VILES-GONZALEZ; FUSTER; BADIMON, 2004).

2.3 Biomarcadores inflamatórios

Evidências apontam para o papel central do endotélio e da inflamação em todas as fases do processo aterosclerótico. Estudos clínicos têm demonstrado o seu potencial prognóstico para o desenvolvimento de eventos isquêmicos e de resultado adversos após síndromes coronárias agudas (SCA). A busca na redução dos níveis inflamatórios por estratégias tradicionais de tratamento foram associados com uma redução proporcional nos eventos cardiovasculares (TOUSOULIS; CHARAKIDA; STEFANADIS, 2008).

A inflamação é uma importante força motriz subjacente ao início de placas coronárias, a sua progressão instável e eventual interrupção. Estas placas são ricas em oxLDL produzida durante a peroxidação lipídica. A oxidação de LDL ocorre principalmente na parede do vaso e leva a ativação de muitas vias inflamatórias e aterogênicas (AYDIN et al., 2015). Vários estudos têm relatado o importante papel do

oxLDL na aterosclerose pré-clínica, na doença arterial coronariana (DAC), e em SCA. Placas ateroscleróticas também contêm numerosas células inflamatórias. As citocinas segregadas a partir destas células inflamatórias inibem a produção de colágeno e afeta adversamente a matriz extracelular, causando a ruptura da placa (AYDIN et al., 2015).

Como a aterosclerose é amplamente aceita como uma doença inflamatória crônica iniciada por diferentes fontes vasculares e extravasculares, muitos marcadores sistêmicos de inflamação têm sido investigados e ligados para prever futuros eventos cardiovasculares e identificar pacientes em risco (FICHTLSCHERER; HEESCHEN; ZEIHNER, 2004).

Os biomarcadores são geralmente considerados como sendo proteínas ou enzimas, medidos em soro, plasma ou sangue, que fornecem o valor de diagnóstico e prognóstico independente, refletindo um estado de doença subjacente. No caso de DAC, marcadores inflamatórios, têm sido amplamente estudados (ZAKYNTHINOS; PAPPA, 2009). Um estudo realizado em 2009 sugeriu que, além da proteína C reativa (PCR), outros biomarcadores, tais como citocinas inflamatórias interleucina (IL) -1, IL-6, IL-10, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (INF- γ) podem ter um papel potencial para a predição de risco para o desenvolvimento de DAC e também se correlacionar com a gravidade da doença (ZAKYNTHINOS; PAPPA, 2009).

Embora muitas citocinas pró-inflamatórias regulem a síntese hepática de PCR e fibrinogênio, a IL-6 desempenha um papel primário nesta regulação (HARTMAN; FRISHMAN, 2014). A IL-6 é um dos principais mediadores pró-inflamatório secretado pelas células do sistema imune. No fígado, a IL-6 estimula a síntese de proteínas de fase aguda, incluindo PCR e fibrinogênio, sendo importante ressaltar que a IL-6 estimula a produção de fibrinogênio e a atividade das plaquetas, o que aumenta o risco de formação de coágulos (CHUDEK; WIECEK, 2006). Além disso, a IL-6 na aterosclerose, estimula a infiltração de monócitos/macrófagos na placa aterosclerótica e a desestabilização da placa (CHUDEK; WIECEK, 2006), regula a expressão de outras citocinas inflamatórias, como a IL-1 e o TNF- α e está diretamente envolvida na patogênese da SCA (SILVA; MORESCO, 2011).

Dois mediadores centrais da rede de citocinas relevantes em vias inatas e inflamatórias são a IL-1 e TNF- α . A IL-1 foi originalmente descrita como um produto de monócitos, e sua produção é ativada por vários estímulos, incluindo componentes

bacterianos (LOPPNOW et al., 2011). A IL-1 é multifuncional, estando envolvida por exemplo na febre, na síntese de proteínas de fase aguda, na proliferação de várias células, bem como na ativação de células T ou B (LOPPNOW et al., 2011).

Muitas funções de IL-1 são mediadas por citocinas secundárias, tais como a IL-6 ou quimiocinas. A IL-1 é uma citocina pró-inflamatória altamente ativa que reduz o limiar da dor e danos dos tecidos (DINARELLO; SIMON; VAN DER MEER, 2012).

A IL-1 é um mediador pró-inflamatório apical na inflamação aguda e crônica, e um potente indutor da resposta imune inata. A produção e a atividade de IL-1 são finamente reguladas em níveis múltiplos e pequenas concentrações de IL-1 exógena pode induzir uma síndrome de sepse e choque. IL-1 induz a síntese e expressão de várias centenas de mediadores inflamatórios secundários, e IL-1 também induz a sua própria produção e processamento e este passo é a chave na patogênese de muitas doenças auto inflamatória. Dois genes relacionados (IL-1 α e IL-1 β) codificam para duas proteínas diferentes (VAN TASSELL et al., 2013).

O TNF- α é sintetizado predominantemente por macrófagos. Esta citocina está envolvida na patogênese da inflamação, uma vez que estimula a adesão de monócitos a superfície de células endoteliais através do aumento da expressão de moléculas de adesão, estimulando também a infiltração dos monócitos e sua consequente transformação em macrófagos (CHUDEK; WIECEK, 2006).

O TNF- α está associado à placa ateromatosa, com deposição e ativação de elementos celulares na parede dos vasos e, possivelmente, à progressão da aterosclerose. Também é expresso em resposta à isquemia transitória do miocárdio e à reperfusão, além de estar envolvido na associação de hipertensão e dislipidemia com obesidade e resistência à insulina (SILVA; MORESCO, 2011). O TNF- α está presente no sangue de pacientes com doença isquêmica cardíaca crônica e na SCA. Em pacientes com IAM, os níveis de TNF- α são significativamente mais elevados 48 horas após o início dos sintomas, em conjunto com altas concentrações de PCR na admissão, sendo assim um preditor independente de eventos cardiovasculares. Diante do apresentado, o TNF- α é reconhecido como uma importante citocina pró-inflamatória com largo espectro de ação, podendo ser avaliado na SCA e em outras condições clínicas (SILVA; MORESCO, 2011)

Além disso, provoca a apoptose nas células endoteliais, contribuindo para a injúria endotelial e ainda regula citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 e IL-6. Na aterosclerose, é derivada das células endoteliais, células musculares lisas e

macrófagos associados com a placa de ateroma, e sua elevação está associada com o rompimento de placas de ateroma e o prognóstico adverso após eventos coronarianos agudos (BLAKE; RIDKER, 2002).

O IFN- γ é uma citocina inflamatória pluripotente tipicamente induzida por infecções virais. Ele ainda sensibiliza células apresentadoras de antígeno a derivados ligantes de organismos patogênicos fornecendo uma possível ligação entre as infecções virais e as complicações imunomediadas da aterosclerose (GALKINA; LEY, 2009).

Ainda IFN- γ inibe a proliferação de células que sintetizam IL-6, IL-10; a diminuição da produção de algumas imunoglobulinas; e o aumento da expressão dos genes do MHC (Complexo Principal de Histocompatibilidade) classe I e II. Em monócitos e macrófagos, estimula a produção de receptores de alta afinidade para IgG, além de induzir a síntese de TNF- α por estas células (VARELLA; FORTE, 2001).

O IFN- γ afeta a acumulação de colesterol em monócitos/macrófagos, induz a formação de células espumosas, a formação de placa aterosclerótica, e sua consequente ruptura. Através da produção de IFN- γ , células do tipo Th1 estimulam macrófagos que conduzem a produção de citocinas pró-inflamatórias e moléculas vasoativas. Numerosas linhas de evidências mostram um papel significativo para o IFN- γ na indução, desenvolvimento e progressão da aterosclerose (VOLOSHYNA; LITTLEFIELD; REISS, 2014).

O IFN- γ é uma citocina Th1, com propriedades promotoras de ateroma bem documentados. Um estudo mostrou que a administração de IFN- γ aumenta significativamente o número de células T dentro de lesões em camundongos *knockout* para a apo-E, os quais são propensos a desenvolver aterosclerose (WHITMAN *et al.*, 2004). O IFN- γ tem múltiplos efeitos em todas as fases da aterogênese, e tem havido progressos na compreensão do impacto desta citocina nas vias de sinalização que conduzem finalmente ao desenvolvimento da placa e maturação. Nas fases iniciais da aterosclerose, o IFN- γ promove a adesão de liberação molécula a partir de células endoteliais e é um regulador fundamental da proliferação de células musculares lisas. Em fases posteriores, o IFN- γ pode criar vulnerabilidade da placa via apoptose acelerada de macrófagos e quebra da matriz extracelular (VOLOSHYNA; LITTLEFIELD; REISS, 2014).

Em relação as citocinas anti-inflamatórias, a IL-10 é uma citocina produzida principalmente pelos macrófagos e linfócitos. Suas funções principais envolvem inibir

a ativação de macrófagos (através da inibição de NF- κ B) e morte celular, bem como limitar a produção da metaloproteínase da matriz e citocinas pró-inflamatórias (HAN *et al.*, 2010).

A IL-10 foi demonstrada no interior das placas ateroscleróticas humanas, principalmente em macrófagos e está implicada na aterogênese. Embora os efeitos anti-inflamatórios e anti-apoptóticos de IL-10 estejam bem estabelecidos, um estudo recente mostrou que a IL-10 também tem um forte impacto sobre o metabolismo do colesterol, estimulando tanto a absorção do mesmo a partir de lipoproteínas modificadas, bem como seu efluxo a partir da célula (HAN *et al.*, 2010). Na aterogênese, a formação de macrófagos em células espumosas é modulada por vias que envolvem tanto a absorção quanto o efluxo de colesterol. Ainda, o mesmo estudo, mostrou que a IL-10 modula o metabolismo lipídico, aumentando tanto a absorção quanto o efluxo do colesterol em macrófagos (HAN *et al.*, 2010).

A IL-10 é secretada por muitas células, principalmente por monócitos e macrófagos, suprimindo a inflamação por vários mecanismos imunológicos (BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2003). Essa citocina é capaz de inibir as citocinas pró-inflamatórias, principalmente a IL-6, produzida por macrófagos e monócitos ativados, estimulando a produção endógena de citocinas anti-inflamatórias (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que medeia vias anti aterogênicas. No estudo CAPTURA os pacientes com elevados níveis de IL-10 tiveram uma diminuição do risco de morte ou infarto não fatal. No entanto, aqueles com PCR e IL-10 elevadas foram de menor risco do que aqueles com apenas PCR elevada. Estes dados sugerem que a IL-10 pode ser protetora contra mediadores pró-inflamatórios (ZAKYNTHINOS; PAPPAS, 2009). Assim, uma redução do nível sérico de IL-10 não é apenas um marcador de instabilidade da placa favorecendo o desenvolvimento de SCA, é também um indicativo de prognóstico ruim, mesmo após a ocorrência de um evento isquêmico agudo causado pela instabilidade da placa (HEESCHEN *et al.*, 2003).

2.4 Estratégias Terapêuticas

2.4.1 Ácido Acetilsalicílico

O ácido acetilsalicílico (AAS), é um dos principais medicamentos utilizados para tratamentos preventivos contra eventos cardiovasculares em adultos de alto risco, e um esteio na prevenção de complicações vasculares da aterosclerose (*PATRONO et al.*, 2005).

O mecanismo de ação do AAS ocorre por meio da inativação permanente de cicloxigenase (COX)-1 e COX-2, que catalisam a conversão do ácido araquidônico em prostaglandina H₂ (PGH₂), um substrato para várias isomerases que levam a geração de prostanóides bioativos, incluindo o tromboxano A₂ (TXA₂) e a prostaciclina (PGI₂) (*KRAUS et al.*, 2014).

O metabolismo do ácido araquidônico está implicado na patofisiologia das doenças isquêmicas, e muita atenção tem sido dedicada à via catalisada pela cicloxigenase (COX), a qual leva à produção de prostanóides. Três isoenzimas COX já foram identificadas: a COX-1, COX-2 e COX-3. Essas isoenzimas se diferem em termos de mecanismos de regulação de expressão, distribuição nos tecidos e a quanto a especificidade do substrato (*KRAUS et al.*, 2014). A COX-1 é uma isoforma expressa constitutivamente, que mantém a integridade da mucosa gastrointestinal e sustenta as funções homeostáticas benéficas; enquanto que a COX-2 não está expressa na mucosa aparentemente normal, mas é induzida por estímulos inflamatórios ou neoplásicos; já COX-3 é uma variante de união de COX-1, também conhecida como COX-1-B, e é considerada por desempenhar um papel chave na biossíntese de prostanóides, importantes mediadores na dor e febre (*KRAUS et al.*, 2014).

Embora o papel da COX-1 em doenças isquêmicas agudas esteja bem estabelecido, o papel da COX-2 não é totalmente clara (*KRAUS et al.*, 2014). Níveis mais elevados de AAS são necessárias para inibir COX-2 do que para inibir a COX-1. Estas diferenças explicam, em parte, a necessidade de utilizar doses mais elevadas de AAS para alcançar efeitos analgésicos e anti-inflamatórios, enquanto que os efeitos anti-plaquetários podem ser obtidos com as doses diárias tão baixas como 30 mg (*PATRONO; ROCCA*, 2008).

Um estudo recente realizado em ratos indicou que doses baixas (0,1 mg/mL) de AAS reduz a aterosclerose precoce, tendo em vista que o AAS pode prevenir a trombose arterial, incluindo primeiros eventos vasculares em indivíduos saudáveis de baixo risco, e eventos vasculares recorrentes em pacientes com doença vascular aguda ou crônica obstrutiva documentada (*KRAUS et al.*, 2014).

Apesar das plaquetas mais novas expressarem tanto a COX-1 quanto COX-2, plaquetas maduras expressam apenas COX-1. Em contraste, as células endoteliais vasculares expressam tanto a COX-1 quanto COX-2 (BELTON *et al.*, 2000). COX-2 é regulada em resposta à fisiologia hemodinâmica e é a fonte predominante de PGI₂. As plaquetas e as células endoteliais vasculares produzem primariamente PGH₂, que por sua vez é processado em TXA₂ e PGI₂, respectivamente (PATRONO *et al.*, 2005).

O TXA₂ é sintetizado e libertado pelas plaquetas, em resposta a uma variedade de estímulos e, por sua vez, induz a agregação plaquetária irreversível. Além disso, o TXA₂ é um potente vasoconstritor, induz a proliferação de células vasculares dos músculos lisos, e é pró aterogênico (KOBAYASHI *et al.*, 2004). Em contraste, a PGI₂ inibe a agregação de plaquetas em resposta a todos os agonistas através da sua interação com o receptor de PGI₂. A PGI₂ também induz vasodilatação, inibe a proliferação de células vasculares dos músculos lisos, protege o miocárdio contra o estresse oxidativo, e é antiaterogênico (KOBAYASHI *et al.*, 2004).

Embora o TXA₂ seja, em grande parte, derivado de COX-1 (na sua maioria a partir de plaquetas), a sua biossíntese é altamente sensível à inibição pelo AAS. Todavia, a PGI₂ vascular, que é derivado predominantemente de COX-2, é menos susceptível à inibição por doses baixas de AAS. Desse modo, baixas doses de AAS não demonstram efeitos mensuráveis nas funções vasculares dependentes de PGI₂, e a inibição da COX-1 nas plaquetas explica os efeitos antitrombóticos de doses baixas de AAS (PATRONO *et al.*, 2005). Ainda sobre os efeitos do AAS na atividade de COX-1 plaquetária, três características importantes devem ser enfatizadas: a natureza cumulativa da inativação de plaquetas de COX-1 com doses diárias repetidas de AAS, a saturabilidade deste efeito, e a seletividade para a COX-1 em doses baixas (PATRONO *et al.*, 2005).

Segundo um estudo realizado em modelos experimentais, a administração à longo prazo de AAS em animais reduz o conteúdo celular de macrófagos e células espumosas em lesões ateroscleróticas vasculares avançadas, por suprimir a formação de lipídios bioativos e inflamação vascular (CYRUS *et al.*, 2006). Foi relatado que o AAS inibe receptores de oxLDL lecitina "like" (LOX-1) e interfere nos efeitos da oxLDL através da sinalização intracelular (p38MAP ativação da cinase) e subsequente atividade da colagenase (MEHTA *et al.*, 2004).

É importante salientar que o AAS promove, conforme (SPITE; SERHAN, 2010), a acetilação da COX-2, modificando o sítio ativo de COX-2 e, assim, permitindo a

conversão de ácido araquidônico em 15R-HETE nas células endoteliais vasculares. Este intermediário é então transformado em lipoxinas pelos leucócitos. Recentemente, as ações anti-inflamatórias do AAS foram documentadas durante a inflamação aguda em humanos. A administração oral de dose baixa de aspirina reduziu a acumulação de leucócitos em bolhas na pele e foi associado a biossíntese de 15-epi-lipoxina (MORRIS *et al.*, 2009).

Além do papel antiinflamatório da lipoxinas em regular a infiltração de leucócitos para os tecidos, as lipoxinas também estimulam a resolução da inflamação. A este respeito, as lipoxinas estimulam a fagocitose de polimorfonucleares e também estimulam a produção de citocinas anti-inflamatórias, tal como a IL-10, em macrófagos, promovendo o efluxo de macrófagos para os nódulos linfáticos periféricos (SPITE; SERHAN, 2010). Assim, as lipoxinas são mediadores de dupla atuação, sendo que não só reduzem ainda mais a infiltração de leucócitos, mas também promovem a sua retirada dos locais inflamados. As lipoxinas também diminuem a geração de citocinas pró-inflamatórias em macrófagos, neutrófilos e células endotélias (SPITE; SERHAN, 2010).

Além disso, tanto o ácido eicosapentanóico quanto o ácido docosahexanóico são substratos para COX-2 acetilada, o que gera precursores biossintéticos para produção de resolvinas, as quais possuem propriedade anti-inflamatória (SUN *et al.*, 2007). Assim, pode-se considerar que o AAS, além de bloquear a produção de mediador lipídico pró-inflamatório, estimula a resolução através da geração de lipoxinas e resolvinas. Essas ações podem estar subjacentes aos múltiplos efeitos benéficos do AAS nas doenças cardiovasculares complexas.

Já é fortemente comprovado o papel patogênico da inflamação no desenvolvimento da aterosclerose (DHALLA; TEMSAH; NETTICADAN, 2000; ROSS, 1999). O AAS é uma potente droga anti-inflamatória que inibe as COX e diminui a ativação do fator nuclear kappa β (NF κ B), o qual é um efetor da resposta inflamatória (AWTRY; LOSCALZO, 2000; COSTANZO *et al.*, 2003; WU; LAMONTAGNE; DE CHAMPLAIN, 2002). Além disso, o AAS é também responsável por apresentar propriedades antioxidantes ao retirar radicais livres e proteger as células endoteliais de efeitos deletérios do peróxido de hidrogênio (TAUSEEF *et al.*, 2008). Também, o AAS protege as células endoteliais da indução tóxica pelo peróxido de hidrogênio e aumenta a viabilidade dependentemente de sua concentração (WATERMANMD *et al.*, 2009).

Kurban e Mehmetoglu (2010) demonstraram em seu estudo que um tratamento de AAS com administração de 100 e 150 mg por 60 dias tem efeitos significativos sobre os efeitos da oxLDL. Ainda, Sobal *et al.* (2000) demonstraram que apenas com um “supertratamento” com AAS ocorrerá diferença significativa na inibição dependente da concentração de oxLDL.

Diante dos estudos documentados, vários mecanismos têm sido propostos para o efeito protetor do AAS contra a oxidação do LDL. Um deles é a redução da peroxidação lipídica pelo AAS através da inibição da produção de prostaglandina, que é um dos caminhos para produção de radicais livres (GROSSER; SCHRÖDER, 2003). Além disso, o ácido gentísico, um metabólito do AAS, tem demonstrado um efeito antioxidante significativo ao inibir a oxidação da LDL (ASHIDATE *et al.*, 2005). Isso acontece devido ao fato do ácido gentísico ser um agente estabilizante, que funciona sequestrando ânions ou radicais livres, que são espécies que atuam na oxidação do LDL (MARQUES; OKAMOTO; BUCHPIGUEL, 2001). Um estudo de Eisele *et al.* (2004) realizado com buprofeno e AAS mostrou que o AAS, em altas concentrações, foi capaz de inibir a adesão de monócitos nas células endoteliais.

Ainda neste caminho, várias linhas de evidências apoiam a hipótese do efeito antioxidante do AAS, sendo que em vez da inibição da cicloxigenase mediar este efeito, o efeito inibitório de salicilatos sobre a adesão de monócitos é mimetizado por substâncias como as vitaminas C e E, N-acetilcisteína, e alopurinol (EISELE *et al.*, 2004). Ainda no estudo de Eisele e colaboradores (2004), o ibuprofeno inibiu a atividade da COX com um grau similar ao dos salicilatos, dentro da gama de concentrações utilizada em ensaios de adesão, mas não teve nenhum efeito inibitório sobre a adesão de monócitos. Além disso, a versão de 8-iso-PGF2alfa, um produto do ácido araquidônico, produzido pela peroxidação lipídica mediada por radicais livres, e o aumento induzido por LDL na expressão de VCAM-1 (molécula de adesão da célula vascular-1) foi inibida por salicilatos, mas não por ibuprofeno, sendo que a ativação do fator de transcrição sensível a redox, o NF-kappa B, foi dependente da concentração de salicilatos, mas não de ibuprofeno. E por fim, esse estudo ainda demonstra que o AAS aumentou a liberação da proteína ferritina, um limpador de ferro livre (EISELE *et al.*, 2004).

Outro estudo demonstrou que o AAS é um potente agente antioxidativo que reduz acentuadamente a produção vascular de superóxido em ratos normotensos e hipertensos (WU; LAMONTAGNE; DE CHAMPLAIN, 2002). Além disso, demonstrou

ainda, que previne a hipertensão induzida pela angiotensina II e a hipertrofia cardiovascular, através de suas propriedades antioxidativas, que impedem a formação do superóxido (WU; LAPLANTE; DE CHAMPLAIN, 2004). Outra pesquisa demonstrou ainda que o AAS induz a libertação de ON do endotélio vascular. Este efeito parece ser atribuível à acetilação direta da proteína endotelial ON-sintase. Também já foi demonstrada uma variação circadiana significativa em marcadores de estresse oxidativo em que as concentrações do AAS máximas ocorreram à noite (KANABROCKI *et al.*, 2002).

O AAS previne eventos trombóticos através inibição da síntese de PGI₂, porém também leva a efeitos colaterais adversos, incluindo principalmente toxicidade gastrointestinal, hemorragia extracraniana e intracraniana (DAI; GE, 2012). Além disso, doses crônicas de AAS podem reduzir o fluxo sanguíneo renal e a filtração glomerular, prejudicando a função renal devido à inibição de PGI₂ COX-2 dependente (DAI; GE, 2012); já a administração do AAS em baixas doses pode induzir inflamação da mucosa do intestino delgado (ENDO *et al.*, 2014).

Dessa forma, vários estudos e ensaios realizados anteriormente, levaram a um esforço na busca de novos compostos naturais para suprimir a agregação plaquetária sem causar efeitos adversos (LAU *et al.*, 2009; RYU *et al.*, 2009). Como consequência, diversos efeitos protetores de plantas têm sido revelados contra doenças trombóticas, como as trombozes coronárias e a aterosclerose, e diversos estudos experimentais têm sido realizados *in vivo* e *in vitro* (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002; WANG; NG, 1999).

2.4.2 *Campomanesia xanthocarpa*

A *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (guabirobeira) é uma espécie arbórea que ocorre desde o estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. Trata-se de uma planta heliófila, seletiva higrófila até mesófila, sendo bastante frequente na especialmente nos solos úmidos das formações aluviais, nos capões e em áreas mais abertas das florestas secundárias (SOUZA, 2005).

Os frutos desta espécie, tais como de outras do mesmo gênero, são consumidos por várias espécies de pássaros e mamíferos, sendo também usados na

produção de doces caseiros, sorvetes, aguardente, licores e refrescos. Além disso, *C. xanthocarpa* é indicada para plantios em áreas degradadas e pode ser utilizada como espécie ornamental (GOGOSZ et al., 2010).

Limberger *et al.* (2001), realizaram um trabalho que abordou a composição química do óleo volátil das folhas de *C. xanthocarpa* coletadas no Rio Grande do Sul. Os autores obtiveram um rendimento de 0,2% em óleo essencial, rico em sesquiterpenos, destacando-se dentre eles o espatulenol (9,9%), o globulol (6,2%) e o epi-globulol (2,0%); e entre os monoterpenos, destaca-se o linalol (17,2%). Segundo Schmeda-Hirschmann, (1995), as folhas desta planta possuem flavonóides, entre os quais pode-se citar quercetina e rutina. Markman; Bacchi; Kato (2004) analisaram os componentes fitoquímicos desta espécie e encontraram flavonóides, saponinas e taninos. Apesar de seu uso medicinal, há poucos relatos das propriedades farmacológicas desta planta.

Existem relatos da utilização tradicional do chá das folhas para a disenteria, problemas do estômago, febre, como agente anti-inflamatório, antirreumático e para diminuir o colesterol sanguíneo (ALICE *et al.*, 1995). Segundo Dickel *et al.* (2007), um estudo realizado com os vendedores de erva de uma cidade do Sul do Brasil apresentou que a planta seria usada para efeito potencial no controle de certas condições associadas à obesidade, tal como hiperlipidemia, sendo empregada empiricamente para a redução de peso.

Um outro estudo realizado por Biavatti *et al.* (2004), buscou investigar o efeito do extrato aquoso sobre o peso e os parâmetros bioquímicos de ratos alimentados com uma dieta hipercalórica. Neste trabalho, nenhum efeito sobre os níveis lipídicos dos ratos foi observado, porém, o tratamento crônico com o extrato reduziu o peso e os níveis de glicemia no modelo em questão.

Ainda por se tratar de uma forma de tratamento alternativo, estudos tentam mostrar vantagens no uso deste composto natural, deste modo, a administração oral do extrato hidroalcoólico das folhas de *C. xanthocarpa* mostrou-se efetiva na prevenção de ulceração gástrica em ratos, não produzindo sintomas tóxicos em camundongos (MARKMAN; BACCHI; KATO, 2004).

Diante destes aspectos importantes referentes ao uso etnofarmacológico da *Campomanesia xanthocarpa*, pesquisas realizadas pelo nosso grupo de pesquisa, vêm estudando o efeito hipocolesterolêmico desta planta. Um estudo demonstrou que a planta apresenta efeito antioxidante, por redução da proteína carbonilada e

prevenção na produção de peróxido de hidrogênio, além de mostrar uma importante redução nos níveis séricos de LDL colesterol e, também, confirmar a inibição da atividade da enzima HMG-redutase em modelo experimental (KLAFKE *et al.*, 2010).

Mais recentemente, Vicili e colaboradores (2014), puderam demonstrar que o efeito hipocolesterolêmico da planta compreendeu um grande número de indivíduos hipercolesterolêmicos, além também de apresentar efeito antioxidante, anti-inflamatório e melhorar a disponibilidade de óxido nítrico nestes indivíduos.

Ainda, Klafke *et al.* (2012) utilizando camundongos, puderam demonstrar que a planta apresenta atividades antiplaquetária, antitrombótica e fibrinolítica. Neste trabalho, o extrato da planta inibiu a agregação plaquetária, sem apresentar citotoxicidade, além de ter atividade fibrinolítica sem demonstrar ação ulcerogênica após administração oral. A atividade antitrombótica foi avaliada induzindo tromboembolismo pulmonar em camundongos, o qual foi caracterizado por ativação massiva das plaquetas circulantes e formação generalizada de trombos na microcirculação pulmonar, onde a utilização do extrato da planta reduziu drasticamente a porcentagem de paralisia pulmonar, mostrando-se eficaz, quando comparada ao AAS, aumentando ainda mais a possibilidade do efeito inibitório desta planta na função plaquetária.

Figura 1. Foto ilustrativa da planta *Campomanesia xanthocarpa* com frutos e folhas
Fonte: Viveiro Feltrin



3. OBJETIVOS DA DISSERTAÇÃO

3.1 Objetivo geral

Comparar os efeitos da *Campomanesia xanthocarpa* e do ácido acetilsalicílico em parâmetros inflamatórios e oxidante de camundongos *knockout* para o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLr-KO) tratados com dieta hipercolesterolêmica.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os componentes fitoquímicos presentes no extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa*;
- Reduzir os biomarcadores pró-inflamatórios de camundongos LDLr-KO com o extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa*, comparando seus efeitos com o AAS;
- Aumentar os níveis séricos de interleucinas-10, biomarcador anti-inflamatório, de camundongos LDLr-KO com o extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa*, comparando seus efeitos com o AAS;
- Reduzir os níveis séricos de oxLDL e anti-oxLDL de camundongos LDLr-KO com o extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa*, comparando seus efeitos com o AAS;
- Verificar o efeito da *C. xanthocarpa* e do AAS na indução de atividade ulcerogênica e perda de peso de camundongos LDLr-KO.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostrou que os componentes fitoquímicos presentes em maior quantidade no extrato aquoso das folhas de *Campomanesia xanthocarpa* foram: ácido gálico e ácido clorogênico como ácidos fenólicos, e entre os flavonoides, a rutina, quercetina e campferol.

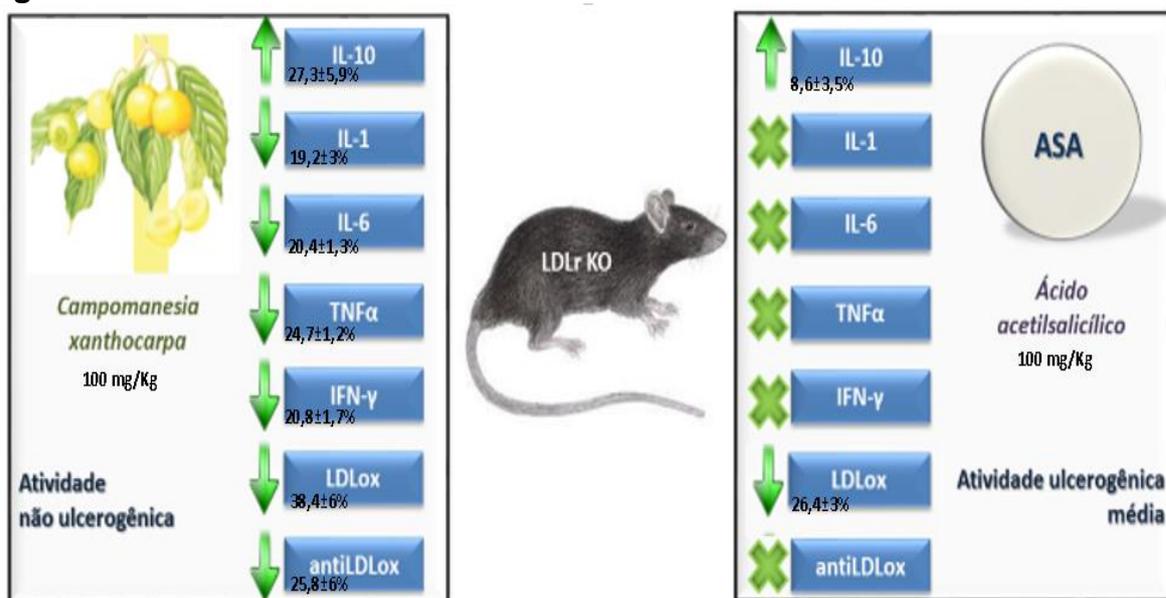
Ainda, *C. xanthocarpa* apresentou atividade anti-inflamatória melhor quando comparado ao AAS, sendo detectada a partir da redução de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- α e INF- γ), observada somente no grupo correspondente ao tratamento com planta; e do aumento de uma citocina anti-inflamatória (IL-10), uma vez que a planta foi capaz de aumentar ainda mais os níveis desta citocina em modelo de aterogênese de animais knock-out para o receptor LDL.

Além do mais, tanto AAS quanto *C. xanthocarpa* apresentam efeito antioxidante, o qual foi detectado a partir da redução da oxLDL no mesmo modelo experimental, todavia, a planta também foi capaz de reduzir os níveis séricos de anti-oxLDL, tendo um efeito antioxidante ainda mais potencializado.

Por fim, embora ambos os tratamentos não tenham interferido no peso dos animais, o extrato aquoso das folhas de *C. xanthocarpa* não foi capaz de induzir atividade ulcerogênica, diferentemente do AAS, que provocou uma atividade ulcerogênica média nos animais ao induzir a formação de lesões gástricas médias.

Este estudo foi importante uma vez que, assim como o AAS, a *C. xanthocarpa* pode promover a formação de lipoxinas e resolvinas, as quais são protetoras endógenas e, exercem ações anti-inflamatórias e antioxidantes. Nesse sentido, este estudo abre novas possibilidades de pesquisas futuras que comprovem o envolvimento da *C. xanthocarpa* com estes mediadores imunológicos e lipídicos que promovem a resolução do estresse oxidativo e da inflamação vascular.

Figura 2. Foto ilustrativa dos resultados encontrados.



6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA DISSERTAÇÃO

ALICE, C. . et al. **Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacognóstico**. [s.l.] Editora da ULBRA, 1995.

ASHIDATE, K. et al. Gentisic acid, an aspirin metabolite, inhibits oxidation of low-density lipoprotein and the formation of cholesterol ester hydroperoxides in human plasma. **European journal of pharmacology**, v. 513, n. 3, p. 173–9, 25 abr. 2005.

ATOUM, M. et al. Phenotypic variation and genetic polymorphism of low-density lipoprotein exon 4 receptor gene among Jordanian familial hypercholesterolemia patients. **Acta medica Lituanica**, v. 18, n. 4, 2011.

AUGUSTI, P. R. et al. Imbalance in superoxide dismutase/thioredoxin reductase activities in hypercholesterolemic subjects: relationship with low density lipoprotein oxidation. **Lipids in health and disease**, v. 11, p. 79, jan. 2012.

AWTRY, E. H.; LOSCALZO, J. Aspirin. **Circulation**, v. 101, n. 10, p. 1206–18, 14 mar. 2000.

AYDIN, M. U. et al. Comparative effects of high-dose atorvastatin versus moderate-dose rosuvastatin on lipid parameters, oxidized-LDL and inflammatory markers in ST elevation myocardial infarction. **Atherosclerosis**, v. 239, n. 2, p. 439–43, abr. 2015.

BECKSTROM, B. W. et al. Correlation between carotid area calcifications and periodontitis: a retrospective study of digital panoramic radiographic findings in pretreatment cancer patients. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, v. 103, n. 3, p. 359–66, mar. 2007.

BELTON, O. et al. Cyclooxygenase-1 and -2-dependent prostacyclin formation in patients with atherosclerosis. **Circulation**, v. 102, n. 8, p. 840–5, 22 ago. 2000.

BERROUGUI, H. et al. Argan (*Argania spinosa*) oil lowers blood pressure and improves endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats. **The British journal of nutrition**, v. 92, n. 6, p. 921–9, dez. 2004.

BIAVATTI, M. W. et al. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal of ethnopharmacology**, v. 93, n. 2-3, p. 385–9, ago. 2004.

BILLIAU, A.; MATTHYS, P. Interferon-gamma: a historical perspective. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 20, n. 2, p. 97–113, abr. 2009.

BIONDO-SIMÕES, M. DE L. P. ET AL. Opções terapêuticas para as doenças inflamatórias intestinais: revisão. **Rev Bras Coloproct**, v. 23, n. 3, p. 172–182, 2003.

BLAKE, G. J.; RIDKER, P. M. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. **Journal of internal medicine**, v. 252, n. 4, p. 283–94, out. 2002.

BONNANS, C. et al. Lipoxins are potential endogenous antiinflammatory mediators in asthma. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 165, n. 11, p. 1531–5, 1 jun. 2002.

BRADDOCK, M.; QUINN, A. Targeting IL-1 in inflammatory disease: new opportunities for therapeutic intervention. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 3, n. 4, p. 330–9, abr. 2004.

CAI, H.; HARRISON, D. G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circulation research**, v. 87, n. 10, p. 840–4, 10 nov. 2000.

CATANOZI, S. et al. Dietary sodium chloride restriction enhances aortic wall lipid storage and raises plasma lipid concentration in LDL receptor knockout mice. **Journal of lipid research**, v. 44, n. 4, p. 727–32, abr. 2003.

CHIANG, N. et al. Aspirin triggers antiinflammatory 15-epi-lipoxin A4 and inhibits thromboxane in a randomized human trial. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 42, p. 15178–83, 19 out. 2004.

CHIANG, N. et al. Aspirin has a gender-dependent impact on antiinflammatory 15-epi-lipoxin A4 formation: a randomized human trial. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 26, n. 2, p. e14–7, fev. 2006.

CHUDEK, J.; WIECEK, A. Adipose tissue, inflammation and endothelial dysfunction. **Pharmacological reports : PR**, v. 58 Suppl, p. 81–8, jan. 2006.

CIMATO, T. R.; PALKA, B. A. Effects of statins on TH1 modulating cytokines in human subjects. **PeerJ**, v. 3, p. e764, jan. 2015.

CLARKE, R. J. et al. Suppression of thromboxane A2 but not of systemic prostacyclin by controlled-release aspirin. **The New England journal of medicine**, v. 325, n. 16, p. 1137–41, 17 out. 1991.

COSTA, S. et al. Statins and oxidative stress in chronic heart failure. **Revista portuguesa de cardiologia : orgao oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia = Portuguese journal of cardiology: an official journal of the Portuguese Society of Cardiology**, 4 jan. 2016.

COSTANZO, A. et al. Endothelial activation by angiotensin II through NFkappaB and p38 pathways: Involvement of NFkappaB-inducible kinase (NIK), free oxygen radicals, and selective inhibition by aspirin. **Journal of cellular physiology**, v. 195, n. 3, p. 402–10, jun. 2003.

COUNTRIES, I. OF M. (US) C. ON P. THE G. E. OF C. D. M. THE C. IN D.; FUSTER, V.; KELLY, B. B. **Promoting Cardiovascular Health in the Developing World**National Academies Press (US), , 2010.

CYRUS, T. Effect of Low-Dose Aspirin on Vascular Inflammation, Plaque Stability, and Atherogenesis in Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. **Circulation**, v. 106, n. 10, p. 1282–1287, 12 ago. 2002.

CYRUS, T. et al. Stabilization of advanced atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice by aspirin. **Atherosclerosis**, v. 184, n. 1, p. 8–14, jan. 2006.

DAI, Y.; GE, J. Clinical use of aspirin in treatment and prevention of cardiovascular disease. **Thrombosis**, v. 2012, p. 245037, jan. 2012.

DAVIDSON, M. et al. Comparison of effects on low-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol with rosuvastatin versus atorvastatin in patients with type IIa or IIb hypercholesterolemia. **The American journal of cardiology**, v. 89, n. 3, p. 268–75, 1 fev. 2002.

DAVIGNON, J. Apolipoprotein E and atherosclerosis beyond lipid effect. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 25, n. 2, p. 267–269, 2005.

DAVIGNON, J.; GANZ, P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. **Circulation**, v. 109, n. 23 Suppl 1, p. III27–32, 15 jun. 2004.

DHALLA, N. S.; TEMSAH, R. M.; NETTICADAN, T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. **Journal of hypertension**, v. 18, n. 6, p. 655–73, jun. 2000.

DICKEL, M. L.; RATES, S. M. K.; RITTER, M. R. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of ethnopharmacology**, v. 109, n. 1, p. 60–71, 3 jan. 2007.

DINARELLO, C. A.; SIMON, A.; VAN DER MEER, J. W. M. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 11, n. 8, p. 633–52, ago. 2012.

EISELE, G. et al. Acetylsalicylic acid inhibits monocyte adhesion to endothelial cells by an antioxidative mechanism. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 43, n. 4, p. 514–21, abr. 2004.

ENDO, H. et al. Small bowel injury in low-dose aspirin users. **Journal of gastroenterology**, 14 dez. 2014.

FAIN, J. N. et al. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology**, v. 145, n. 5, p. 2273–82, maio 2004.

FICHTLSCHERER, S.; HEESCHEN, C.; ZEIHNER, A. M. Inflammatory markers and coronary artery disease. **Current opinion in pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 124–31, abr. 2004.

FORRESTER, J. S.; MAKKAR, R.; SHAH, P. K. Increasing high-density lipoprotein cholesterol in dyslipidemia by cholesteryl ester transfer protein inhibition: an update for clinicians. **Circulation**, v. 111, n. 14, p. 1847–54, 12 abr. 2005.

FROSTEGÅRD, J. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. **BMC medicine**, v. 11, n. 1, p. 117, 1 jan. 2013.

GALKINA, E.; LEY, K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (*). **Annual review of immunology**, v. 27, p. 165–97, jan. 2009.

GARCÍA-ALVAREZ, I. et al. Differences in clinical presentation between subjects with a phenotype of familial hypercholesterolemia determined by defects in the LDL-receptor and defects in Apo B-100. **Revista española de cardiología**, v. 56, n. 8, p. 769–774, 2003.

GHANDEHARI, H.; KAMAL-BAHL, S.; WONG, N. D. Prevalence and extent of dyslipidemia and recommended lipid levels in US adults with and without cardiovascular comorbidities: the National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004. **American heart journal**, v. 156, n. 1, p. 112–9, jul. 2008.

GLASS, C. K.; WITZTUM, J. L. Atherosclerosis. **Cell**, v. 104, n. 4, p. 503–516, fev. 2001.

GOEL, S. et al. Imaging Modalities to Identify Inflammation in an Atherosclerotic Plaque. **Radiology research and practice**, v. 2015, p. 410967, jan. 2015.

GOGOSZ, A. M. et al. Morfoanatomia da plântula de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 613–623, set. 2010.

GOMES, F. et al. Obesidade e doença arterial coronariana: papel da inflamação vascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 2, p. 273–279, fev. 2010.

GREENLAND, P. et al. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. **JAMA**, v. 290, n. 7, p. 891–7, 20 ago. 2003.

GROSSER, N.; SCHRÖDER, H. Aspirin protects endothelial cells from oxidant damage via the nitric oxide-cGMP pathway. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 23, n. 8, p. 1345–51, 1 ago. 2003.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British journal of pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–55, maio 2004.

HAMASAKI, S. et al. Cholesterol-lowering treatment is associated with improvement in coronary vascular remodeling and endothelial function in patients with normal or mildly diseased coronary arteries. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 20, n. 3, p. 737–43, mar. 2000.

HAN, X. et al. Interleukin-10 overexpression in macrophages suppresses atherosclerosis in hyperlipidemic mice. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 24, n. 8, p. 2869–80, ago. 2010.

HANSSON, G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. **The New England journal of medicine**, v. 352, n. 16, p. 1685–95, 21 abr. 2005.

HARTMAN, J.; FRISHMAN, W. H. Inflammation and atherosclerosis: a review of the role of interleukin-6 in the development of atherosclerosis and the potential for targeted drug therapy. **Cardiology in review**, v. 22, n. 3, p. 147–51, jan. .

HAUSER, G. J. et al. Interleukin-6 levels in serum and lung lavage fluid of children undergoing open heart surgery correlate with postoperative morbidity. **Intensive care medicine**, v. 24, n. 5, p. 481–6, maio 1998.

HEESCHEN, C. et al. Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 107, n. 16, p. 2109–14, 29 abr. 2003.

ISHIBASHI, S. et al. Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice. **The Journal of clinical investigation**, v. 93, n. 5, p. 1885–93, maio 1994.

JOHNSON, S. Known knowns and known unknowns: risks associated with combination antithrombotic therapy. **Thrombosis research**, v. 123 Suppl , p. S7–11, jan. 2008.

KANABROCKI, E. L. et al. Circadian variation in oxidative stress markers in healthy and type II diabetic men. **Chronobiology international**, v. 19, n. 2, p. 423–39, mar. 2002.

KLAFKE, J. Z. et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal of ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 299–305, 3 fev. 2010.

KLAFKE, J. Z. et al. Antiplatelet, Antithrombotic, and Fibrinolytic Activities of *Campomanesia xanthocarpa*. **Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM**, v. 2012, p. 954748, jan. 2012.

KOBAYASHI, T. et al. Roles of thromboxane A₂ and prostacyclin in the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. **The Journal of clinical investigation**, v. 114, n. 6, p. 784–94, set. 2004.

KRAUS, S. et al. Aspirin but not meloxicam attenuates early atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. **The Israel Medical Association journal : IMAJ**, v. 16, n. 4, p. 233–8, abr. 2014.

KRIS-ETHERTON, P. M. et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American Journal of Medicine**, v. 113, n. 9, p. 71–88, dez. 2002.

KURBAN, S.; MEHMETOGLU, I. Effects of acetylsalicylic acid on serum paraoxonase activity, Ox-LDL, coenzyme Q10 and other oxidative stress markers in healthy volunteers. **Clinical biochemistry**, v. 43, n. 3, p. 287–90, fev. 2010.

LAU, A.-J. et al. Antiplatelet and anticoagulant effects of Panax notoginseng: comparison of raw and steamed Panax notoginseng with Panax ginseng and Panax quinquefolium. **Journal of ethnopharmacology**, v. 125, n. 3, p. 380–6, 25 set. 2009.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 868–74, jan. 2002.

LIMBERGER, R. P. et al. Chemical Composition of Essential Oils from Some Campomanesia Species (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 13, n. 2, p. 113–115, 9 mar. 2001.

LOPPNOW, H. et al. Contribution of vascular cell-derived cytokines to innate and inflammatory pathways in atherogenesis. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 15, n. 3, p. 484–500, mar. 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil, Volume 1**. 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008.

MARANHAO, R. C.; LEITE, A. C. A. Development of anti-atherosclerosis therapy based on the inflammatory and proliferative aspects of the disease. **Current pharmaceutical design**, v. 21, n. 9, p. 1196–204, jan. 2015.

MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 55–7, set. 2004a.

MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 94, n. 1, p. 55–7, set. 2004b.

MARQUES, F. L. N.; OKAMOTO, M. R. Y.; BUCHPIGUEL, C. A. Alguns aspectos sobre geradores e radiofármacos de tecnécio-99m e seus controles de qualidade. **Radiologia Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 233–239, ago. 2001.

MASSBERG, S. et al. A Critical Role of Platelet Adhesion in the Initiation of Atherosclerotic Lesion Formation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 196, n. 7, p. 887–896, 30 set. 2002.

MEHTA, J. L. et al. Aspirin inhibits ox-LDL-mediated LOX-1 expression and metalloproteinase-1 in human coronary endothelial cells. **Cardiovascular research**, v. 64, n. 2, p. 243–9, 1 nov. 2004.

MORRIS, T. et al. Effects of low-dose aspirin on acute inflammatory responses in humans. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 183, n. 3, p. 2089–96, 1 ago. 2009.

NOURI, M. et al. Image-based computational simulation of sub-endothelial LDL accumulation in a human right coronary artery. **Computers in biology and medicine**, v. 62, p. 206–221, 20 abr. 2015.

OLIVEIRA, C. M. B. DE et al. Cytokines and pain. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 260–265, 2011.

PAPOUTSI, Z. et al. Walnut extract (*Juglans regia* L.) and its component ellagic acid exhibit anti-inflammatory activity in human aorta endothelial cells and osteoblastic

activity in the cell line KS483. **The British journal of nutrition**, v. 99, n. 4, p. 715–22, abr. 2008.

PATEL, K. M. et al. Macrophage sortilin promotes LDL uptake, foam cell formation, and atherosclerosis. **Circulation research**, v. 116, n. 5, p. 789–96, 27 fev. 2015.

PATRONO, C. et al. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. **The New England journal of medicine**, v. 353, n. 22, p. 2373–83, 1 dez. 2005.

PATRONO, C.; ROCCA, B. Aspirin: promise and resistance in the new millennium. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 28, n. 3, p. s25–32, mar. 2008.

PINHO, R. A. DE et al. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 549–555, abr. 2010.

PRINSEN, B. H. C. M. T. et al. Increased albumin and fibrinogen synthesis rate in patients with chronic renal failure. **Kidney international**, v. 64, n. 4, p. 1495–504, out. 2003.

PROJAHN, D.; KOENEN, R. R. Platelets: key players in vascular inflammation. **Journal of leukocyte biology**, v. 92, n. 6, p. 1167–75, dez. 2012.

RABELO, L. A. et al. Endothelium dysfunction in LDL receptor knockout mice: a role for H₂O₂. **British journal of pharmacology**, v. 138, n. 7, p. 1215–20, abr. 2003.

RAFIEIAN-KOPAEI, M. et al. Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. **International journal of preventive medicine**, v. 5, n. 8, p. 927–46, ago. 2014.

RIDKER, P. M.; LÜSCHER, T. F. Anti-inflammatory therapies for cardiovascular disease. **European heart journal**, v. 35, n. 27, p. 1782–91, 14 jul. 2014.

RONDINA, M. T.; WEYRICH, A. S.; ZIMMERMAN, G. A. Platelets as cellular effectors of inflammation in vascular diseases. **Circulation research**, v. 112, n. 11, p. 1506–19, 24 maio 2013.

ROSS, R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. **The New England journal of medicine**, v. 340, n. 2, p. 115–26, 14 jan. 1999.

RYAN, S.; TAYLOR, C. T.; MCNICHOLAS, W. T. Systemic inflammation: a key factor in the pathogenesis of cardiovascular complications in obstructive sleep apnoea syndrome? **Postgraduate medical journal**, v. 85, n. 1010, p. 693–8, dez. 2009.

RYU, K. H. et al. Ginkgo biloba extract enhances antiplatelet and antithrombotic effects of cilostazol without prolongation of bleeding time. **Thrombosis research**, v. 124, n. 3, p. 328–34, jul. 2009.

SCHACHINGER, V.; BRITTEN, M. B.; ZEIHNER, A. M. Prognostic Impact of Coronary Vasodilator Dysfunction on Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease. **Circulation**, v. 101, n. 16, p. 1899–1906, 25 abr. 2000.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Flavonoids from Calycorectes, Campomanesia, Eugenia and Hexachlamys species. **Fitoterapia**, v. 66, n. 4, p. 373–374, 1995.

SILVA, S. H. DA; MORESCO, R. N. **Cardiac biomarkers for assessment of acute coronary syndrome [Abstract in English]** *Scientia Medica*, 11 set. 2011.

SOBAL, G.; MENZEL, J. E.; SINZINGER, H. Influence of acetylsalicylic acid on oxidation of native and glycosylated low-density lipoprotein. **Life sciences**, v. 66, n. 20, p. 1987–98, 7 abr. 2000.

SOEHNLEIN, O. (Re)solving atherosclerosis. **Science translational medicine**, v. 7, n. 275, p. 275fs7, 18 fev. 2015.

SOUZA, V. **Botânica sistemática : guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

SPITE, M.; SERHAN, C. N. Novel lipid mediators promote resolution of acute inflammation: impact of aspirin and statins. **Circulation research**, v. 107, n. 10, p. 1170–84, 12 nov. 2010.

SUN, Y.-P. et al. Resolvin D1 and Its Aspirin-triggered 17R Epimer: STEREOCHEMICAL ASSIGNMENTS, ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES, AND ENZYMATIC INACTIVATION. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 13, p. 9323–9334, 23 jan. 2007.

TAILOR, A.; GRANGER, D. N. Hypercholesterolemia promotes leukocyte-dependent platelet adhesion in murine postcapillary venules. **Microcirculation (New York, N.Y. : 2004)**, v. 11, n. 7, p. 597–603, jan. 2004.

TALL, A. R.; YVAN-CHARVET, L. Cholesterol, inflammation and innate immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 2, p. 104–116, 23 jan. 2015.

TAUSEEF, M. et al. Antioxidative action of aspirin on endothelial function in hypercholesterolaemic rats. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 103, n. 4, p. 314–21, out. 2008.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. **Physiological reviews**, v. 86, n. 2, p. 515–81, abr. 2006.

TOUSOULIS, D.; CHARAKIDA, M.; STEFANADIS, C. Endothelial function and inflammation in coronary artery disease. **Postgraduate medical journal**, v. 84, n. 993, p. 368–71, jul. 2008.

VAN TASSELL, B. W. et al. Targeting interleukin-1 in heart disease. **Circulation**, v. 128, n. 17, p. 1910–23, 22 out. 2013.

VARELLA, P. P. V; FORTE, W. C. N. Citocinas: revisão. **Rev. bras. alergologia imunopatol**, v. 24, n. 4, p. 146–154, 2001.

VIECILI, P. R. N. et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals. **Atherosclerosis**, v. 234, n. 1, p. 85–92, maio 2014.

VILES-GONZALEZ, J. F.; FUSTER, V.; BADIMON, J. J. Atherothrombosis: a widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences. **European heart journal**, v. 25, n. 14, p. 1197–207, jul. 2004.

VOLOSHYNA, I.; LITTLEFIELD, M. J.; REISS, A. B. Atherosclerosis and interferon- γ : new insights and therapeutic targets. **Trends in cardiovascular medicine**, v. 24, n. 1, p. 45–51, jan. 2014.

WAEHRE, T. et al. Increased expression of interleukin-1 in coronary artery disease with downregulatory effects of HMG-CoA reductase inhibitors. **Circulation**, v. 109, n. 16, p. 1966–72, 27 abr. 2004.

WANG, H. X.; NG, T. B. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. **Life sciences**, v. 65, n. 25, p. 2663–77, jan. 1999.

WATERMANMD, M. et al. aspirin Promotes low density lipoprotein susceptibility to oxidative modification in healthy volunteers. **The Israel Medical Association journal: IMAJ**, v. 11, n. 12, p. 730–734, 2009.

WEBER, C.; NOELS, H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. **Nature medicine**, v. 17, n. 11, p. 1410–22, 7 jan. 2011.

WHITE, S. J.; NEWBY, A. C.; JOHNSON, T. W. Endothelial erosion of plaques as a substrate for coronary thrombosis. **Thrombosis and haemostasis**, v. 115, n. 3, 21 jan. 2016.

WHITMAN, S. C. et al. Depletion of natural killer cell function decreases atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor null mice. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 24, n. 6, p. 1049–54, jun. 2004.

WIEGMAN, A. et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. **European heart journal**, v. 36, n. 36, p. 2425–37, 21 set. 2015.

WOUTERS, K. et al. Understanding hyperlipidemia and atherosclerosis: lessons from genetically modified apoe and ldlr mice. **Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC**, v. 43, n. 5, p. 470–9, jan. 2005.

WU, R.; LAMONTAGNE, D.; DE CHAMPLAIN, J. Antioxidative properties of acetylsalicylic Acid on vascular tissues from normotensive and spontaneously hypertensive rats. **Circulation**, v. 105, n. 3, p. 387–92, 22 jan. 2002.

WU, R.; LAPLANTE, M.-A.; DE CHAMPLAIN, J. Prevention of angiotensin II-induced hypertension, cardiovascular hypertrophy and oxidative stress by acetylsalicylic acid in rats. **Journal of hypertension**, v. 22, n. 4, p. 793–801, abr. 2004.

YOUNG, I. S.; MCENENY, J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. **Biochemical Society transactions**, v. 29, n. Pt 2, p. 358–62, maio 2001.

YUNG, L. M. et al. Reactive oxygen species in vascular wall. **Cardiovascular & hematological disorders drug targets**, v. 6, n. 1, p. 1–19, mar. 2006.

ZADELAAR, S. et al. Mouse models for atherosclerosis and pharmaceutical modifiers. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 27, n. 8, p. 1706–21, ago. 2007.

ZAKYNTHINOS, E.; PAPPA, N. Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. **Journal of cardiology**, v. 53, n. 3, p. 317–33, jun. 2009.

ZHAO, J. et al. Protective effects of aspirin against oxidized LDL-induced inflammatory protein expression in human endothelial cells. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 51, n. 1, p. 32–7, jan. 2008.