



**11ª Jornada Científica e
Tecnológica do IFSULDEMINAS**

**& 8º Simpósio de
Pós-Graduação**

Efeitos cardiovasculares anti-inflamatórios do extrato de folhas de *Morus nigra* (*Morus nigra* L.) em camundongos LDLr - / -

**Carlos R. PEREIRA¹; Jéssica AMARAL¹; Maria G. S. CARVALHO²; Bethânia E. COSTA²;
Ana L. C. FARIA²; Nelma de M. S. OLIVEIRA²; Erika K. I. GARCIA⁴; Evelise A. SOARES⁴; Leandro
dos SANTOS⁵; José A. D. GARCIA⁶**

RESUMO

Processo inflamatório via CD40L, estresse oxidativo e resistência insulínica resultante da dislipidemia são as condições que promovem e sustentam hipertrofia cardíaca em camundongos para gene do receptor de (LDLR^{-/-}) alimentados com dieta hiperlipídica. O objetivo neste estudo foi avaliar a capacidade do extrato da folha da amoreira em prevenir a inflamação cardiovascular em camundongos hipercolesterolêmicos. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais: camundongos LDLr ^{-/-} alimentados com dieta padrão (grupo S, n = 20); Camundongos LDLr ^{-/-} alimentados com dieta padrão e extrato da folha da amoreira (grupo S + A, n = 20); Camundongos LDLr ^{-/-} alimentados com dieta hiperlipídica (grupo HL, n = 20); e camundongos LDLr ^{-/-} alimentados com dieta hiperlipídica, adicionados com extrato da folha da amoreira (grupo HL + A, n = 20). Neste estudo os camundongos do grupo HL desenvolveram HVE em resposta ao processo inflamatório, caracterizado pelo aumento da expressão do CD40L.

Palavras-chave: Dislipidemia; Triglicérides; Colesterol; Amoreira; Hipercolesterolêmicos.

1. INTRODUÇÃO

Processo inflamatório via CD40L, estresse oxidativo e resistência insulínica resultante da dislipidemia são as condições que promovem e sustentam hipertrofia cardíaca em camundongos knockout para gene do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLr ^{-/-}) alimentados com dieta hiperlipídica (GARCIA, et al., 2011).

Os fármacos anti-hiperlipidêmicos convencionais têm eficiências limitadas e efeitos secundários importantes, pelo que são necessários agentes alternativos de redução dos lipídeos. A busca por novos fármacos capazes de reduzir e/ou regular os níveis séricos de colesterol e

¹Programa de pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos – IFSULDEMINAS - *Campus* Machado. E-mail: carlosrp12@yahoo.com.br

²Licenciatura em Ciências Biológicas - IFSULDEMINAS – *Campus* Machado. E-mail: amaral.jessy@yahoo.com.br

³Programa de pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem-estar Animal – UNIFENAS. E-mail: maria_h_roots@hotmail.com; bethaniaelias@hotmail.com; nessa_coelho@hotmail.com; samuelfvet@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Alfenas. Email: jadiasgarcia@gmail.com

⁵Universidade Federal Rural do Pernambuco. E-mail: leandro.santos2@ufrpe.br

⁶Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – *Campus* Machado. E-mail: jose.garcia@ifsuldeminas.edu.br

triglicerídeos tem aumentado. Sendo assim, *Morus nigra* é uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos fitoterápicos para tratamento das dislipidemias, prevenindo assim, riscos cardiovasculares (SAMPAIO et al., 2018).

Diante disso o presente estudo foi desenvolvido para avaliar a capacidade de extrato da folha da amoreira (EFA) em prevenir a inflamação cardiovascular em camundongos hipercolesterolêmicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados camundongo machos, 3 meses de idade, pesando 22 ± 3 g, divididos em quatro grupos experimentais (n=20): S, alimentados com dieta padrão; SA, alimentados com dieta padrão e tratados com EFA na dosagem de 0.064g/kg via gavagem; HL, alimentados com dieta hiperlipídica com 20% de gordura total, 1,25% colesterol e 0,5% de ácido fólico; HLA, alimentados com dieta hiperlipídica e tratados com EFA na dose de 0.064g/kg via gavagem. Todos os animais receberam água “*ad libitum*” e sua respectiva dieta por 15 dias.

Após 15 dias, com jejum de 12 horas, os camundongos foram anestesiados com xilazina e ketamina intraperitoneal nas concentrações de 6 e 40 mg/kg, respectivamente. O sangue foi coletado para análises de glicose plasmática, insulina, triglicerídeos, colesterol total e suas frações LDL, HDL e VLDL (lipoproteína de baixa densidade, lipoproteína de alta densidade e lipoproteína de muito baixa densidade) e o índice de HOMA ($HOMA_{IR}$) foi calculado. A toracotomia foi então realizada e o coração e a aorta foram removidos. O uso dos animais e o protocolo experimental foram aprovados pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade de Alfenas (CEP - UNIFENAS, protocolo nº 21A / 2008).

A concentração sérica da PCR foi através de turbidimetria e fotometria do soro sanguíneo expressando-se os resultados em mg/dL (MELO et al., 2016). O ventrículo esquerdo (VE) foi pesado, e a razão do peso do VE por peso corporal foi calculada. Foram feitos cortes ventriculares e da aorta em série de 3µm. Seções destes cortes foram usadas para medidas de cardiomiócitos, avaliação qualitativa e quantitativa do depósito de colágeno e ainda para avaliação histoquímica da expressão do CD40L.

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). A análise de variância seguida do teste de Tukey foi usada para comparar as médias entre os grupos. As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na análise do perfil lipídico, os camundongos do grupo SA apresentaram aumento nos níveis plasmáticos do colesterol total (CT), das suas frações e das triglicérides, com aumento de 34% na 11ª Jornada Científica e Tecnológica e 8º Simpósio da Pós-Graduação do IFSULDEMINAS. ISSN: 2319-0124.

fração do HDL quando comparados com parâmetros dos camundongos do grupo S. Porém, embora a relação CT/HDL não tenha apresentado diferenças entre os grupos S e SA, a relação LDL/HDL apresentou uma marcada redução.

Os camundongos do grupo HL apresentaram hiperlipidemia severa, com redução drástica dos níveis do HDL em relação aos grupos S, SA e HLA. A terapia com o EFA nos camundongos HLA preveniu a hiperlipidemia severa, reduzindo os níveis plasmáticos do CT e da fração LDL. Além disso, triplicou a fração HDL quando comparados com os camundongos do grupo HL, com marcada redução da relação LDL/HDL.

No perfil glicêmico e insulinêmico, os camundongos do grupo SA não apresentaram diferenças quanto ao nível plasmático de glicose e insulina e ao índice de Homa ($HOMA_{IR}$) quando comparados com o grupo S. Os camundongos do grupo HL apresentaram marcado aumento no nível plasmático de insulina e do $HOMA_{IR}$ quando comparados com aos outros grupos (Tabela 1). O EFA preveniu o aumento dos níveis plasmáticos da insulina do $HOMA_{IR}$ no grupo HLA.

Parâmetros	Grupo S	Grupo SA	Grupo HL	Grupo HLA
n	10	10	10	10
Colesterol total	249±16 ^a	326±22 ^b	631±32 ^c	418±29 ^b
HDL	59±2 ^a	79±5 ^b	25±2 ^c	75±4 ^b
CT/HDL	4.2±0.5 ^a	4.1±0.6 ^a	25.2±4.5 ^b	5.8±1.5 ^a
LDL	165±9 ^a	214±12 ^b	578±6 ^c	306±27 ^d
LDL/HDL	2.8±0.6 ^a	0.3±0.02 ^b	23.1±3.6 ^c	4.1±0.8 ^d
VLDL	25±1 ^a	33±2 ^b	28±1 ^a	37±3 ^b
TG	124±6 ^a	165±10 ^b	142±7 ^c	188±15 ^b
TG/HDL	2.1±0.2 ^a	2.1±0.4 ^a	5.9±1 ^b	2.5±0.6 ^a
Insulina	2.7±0.6 ^a	2.8±0.2 ^a	5.8±0.9 ^b	3.0±0.2 ^a
Glicose	5.5±0.1 ^a	5.6±0.3 ^a	5.6±0.1 ^a	5.5±0.2 ^a
$HOMA_{IR}$	0.7±0.05 ^a	0.8±0.06 ^a	1.5±0.28 ^b	0.8±0.16 ^a
PCR	6±0.5 ^a	4,5±1 ^a	14.5±1 ^b	5,5±1 ^a

TABELA 1 - Comparação dos níveis plasmáticos de lipídeos (mg/dL), glicose (mMol/L), insulina (μ mL), índice de HOMA ($HOMA_{IR}$), proporções CT/HDL, LDL/HDL e TG/HDL, e níveis séricos da proteína C reativa (PCR) (mg/dL) . *Letras diferentes na mesma linha expressam diferença significativas.

Com relação aos níveis séricos da proteína C reativa, observou-se uma relação inversa com os níveis séricos de HDL, mostrando que o nível sérico desta proteína aumentou nos camundongos do grupo HL quando comparados aos outros grupos.

Na análise morfométrica e morfológica das estruturas ventriculares esquerdas, o grupo S e SA não apresentaram diferenças estatísticas. O grupo HL apresentou hipertrofia ventricular esquerda, com aumento do diâmetro dos cardiomiócitos e aumento do depósito de colágeno no miocárdio ventricular esquerdo quando comparados com os outros grupos. O EFA preveniu a hipertrofia ventricular nos camundongos do grupo HLA.

Na análise da expressão do CD40L, não foram observadas diferenças no miocárdio e na

parede da aorta quando comparados os grupos S e SA. O grupo HL apresentou aumento na expressão do CD40L tanto no miocárdio quanto na parede da aorta quando comparados com os grupos S e SA. O EFA preveniu o aumento da expressão do CD40L nos camundongos HLA, que mostraram imunorreatividade e western blotting para expressão do CD40L semelhante aos dos grupos S e SA.

5. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo mostraram que o EFA teve um efeito anti-inflamatório cardiovascular benéfico nos camundongos do grupo HLA, prevenindo o aumento da expressão do CD40L. Além disso, aumentou em três vezes os níveis plasmáticos de HDL, diminuiu os níveis plasmático do CT e do LDL, e preveniu a resistência insulínica e a HVE quando comparados com o grupo HL que recebeu dieta hiperlipídica. No entanto, o EFA, elevou os níveis das triglicérides nos grupos SA e HLA quando comparados com os grupos que não receberam o extrato.

No modelo experimental deste estudo observou-se que os camundongos do grupo HL desenvolveram hipertrofia ventricular esquerda em resposta ao processo inflamatório, caracterizado pelo aumento da expressão do CD40L cardíaco e vascular.

AGRADECIMENTOS

Ao IFSULDEMINAS, a UNIFAL, a UNIFENAS, a Universidade Federal de Pernambuco e a CAPES.

REFERÊNCIAS

GARCIA, J. A. D. et al. Efeito anti-inflamatório da lipoproteína de alta densidade no sistema cardiovascular de camundongos hiperlipidêmicos. **Rev Port Cardiol.** 2011; v. 30, n. 10, p. 763-769, 2011.

MELO, M. de A. et al. Proteína C-reativa como biomarcador inflamatório e fatores associados em diabéticos tipo 2 atendidos na rede pública de saúde. **Nutr. Clín. Diet. Hosp.** v. 36, n.2, p.83-95, 2016.

SAMPAIO, P. A. et al. Prospecção tecnológica da *Morus nigra* L. **Revista GEINTEC.** V. 8, n.2, p.4381-4391, 2018.