



## **EFEITO DO ANETOL SOBRE A RESPOSTA INFLAMATÓRIA E O RECRUTAMENTO DE LEUCÓCITOS ARTICULARES EM RATOS ARTRÍTICOS**

Gabriela Scomparin Goularte (PIBIC/FA/Uem), Rafael Prizon Tronco (acadêmico medicina), Alessandra Mileni Versuti Ritter (doutoranda), Ciomar Aparecida Bersani Amado (Orientadora), e-mail: cabamado@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas/Farmacologia

**Palavras-chaves:** anetol, artrite por adjuvante, anti-inflamatório.

### **Resumo**

Com o objetivo de avaliar a atividade anti-inflamatória do anetol sobre a reação inflamatória crônica foi utilizado o modelo de artrite induzido por adjuvante em ratos. Neste trabalho foi avaliado o efeito do anetol no recrutamento de leucócitos articulares. Os animais foram tratados diariamente com anetol (62,5, 125 ou 250 mg/kg) por 14 ou 21 dias. Nestes períodos os animais foram eutanasiados e o líquido sinovial coletado para a determinação do número total e diferencial de leucócitos. Foi verificado que o tratamento dos animais com anetol, nas diferentes doses, diminuiu o número de leucócito total e diferencial na cavidade sinovial dos animais artríticos em ambos os períodos, no entanto, a dose de 250 mg/kg se mostrou mais efetiva. Estes dados sugerem que o anetol apresenta uma atividade anti-inflamatória podendo constituir um possível fármaco com eficácia no tratamento de doenças inflamatórias e na proteção dos danos articulares causados pela artrite.

### **Introdução**

O anetol [Anetol 1-metoxi-4-benzeno-(1-propenil)], principal componente do óleo essencial do anis estrelado (*Illicium verum*), apresenta atividade anti-inflamatória e analgésica em diferentes estudos. Recentemente foi demonstrado que provavelmente, essa atividade do anetol é decorrente à inibição da migração celular para o sítio inflamado e da redução de mediadores inflamatórios, tais como prostagladina (PGE<sub>2</sub>), óxido nítrico (NO) e citocinas (interleucina-1 beta - IL-1 $\beta$ , fator de necrose tumoral - TNF) (Estevão-Silva et al, 2014; Domiciano et al, 2013; Ritter et al, 2013). Diante



desses dados, a proposta deste trabalho foi investigar o papel do anetol e suas propriedades na resposta inflamatória crônica induzida pelo adjuvante completo de Freund (CFA). Neste estudo foi avaliado o número de leucócitos recrutados na cavidade articular fêmuro tibial de animais artríticos.

## **Materiais e Métodos**

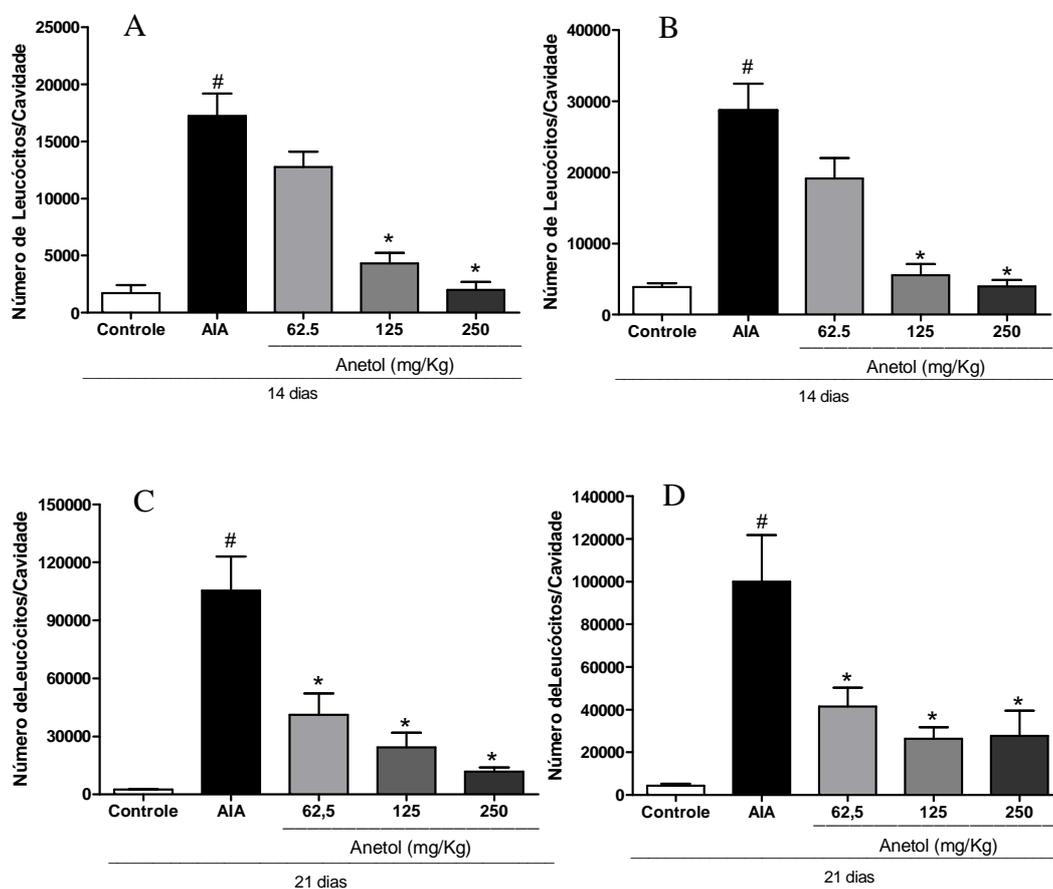
Foram utilizados ratos da linhagem Holtzman, pesando entre 170-220g para avaliação da atividade anti-inflamatória crônica. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ \text{C}$ ) sob um ciclo de 12 h claro-escuro, com livre acesso à ração padrão e água. O protocolo para estes experimentos foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Universidade Estadual de Maringá sob número de homologação de CEAE/UEM 125/2010. Para avaliação do efeito anti-inflamatório crônico do anetol foi utilizado o modelo de artrite induzido por adjuvante em ratos. Os animais foram tratados diariamente com anetol na dose de 62,5, 125 ou 250 mg/kg durante 14 ou 21 dias. Durante o período experimental o volume das patas posteriores direita e esquerda foram avaliadas com auxílio de pletismógrafo. No 14º e no 21º após indução da artrite, os animais foram eutanasiados e o líquido sinovial foi coletado para determinação do número total e diferencial de leucócitos articulares.

## **Resultados e Discussão**

O número de leucócitos totais recrutados na cavidade articular (CA) direita (A, C) e esquerda (B, D) dos animais artríticos aumentaram significativamente no 14º (Figura 1A e B) e no 21º (Figura 1C e D) dia após a indução da artrite. No entanto, o número de leucócitos no líquido sinovial da CA esquerda foi aproximadamente duas vezes maior que o número de leucócitos totais encontrado no líquido sinovial da CA direita. Os grupos tratados com anetol na dose de 125 ou 250 mg/kg apresentaram uma diminuição significativa no número de leucócitos totais no 14º dia, enquanto no 21º todas as doses foram efetivas para reduzir o número de leucócitos recrutados (Figura 1). A redução foi decorrente da diminuição do número de leucócitos mononucleares e polimorfonucleares. A ativação e migração de neutrófilos, monócitos/macrófagos e linfócitos desempenham um papel central no desenvolvimento e progressão do dano articular e da reação inflamatória local, por ativar a secreção de altos níveis de mediadores inflamatórios como NO, IL-1, TNF, IL-6 e IL-17 (Xie et al, 2013) que exacerbam a resposta. Portanto, a diminuição da migração celular implica em menores danos locais e poderia ser uma ferramenta útil no controle da inflamação e danos articulares desencadeados na artrite. A atividade inibitória do anetol na migração celular já foi relatada em outros estudos



realizados pelo grupo de pesquisadores do laboratório de inflamação da UEM que comprovaram esse efeito através de diferentes modelos experimentais de inflamação aguda e persistente como quimiotaxia *in vitro*, microcirculação *in situ* e determinação da mieloperoxidase (Estevão-Silva et al, 2014; Domiciano et al, 2013; Ritter et al, 2013). O presente estudo mostrou que o anetol reduziu significativamente o número de leucócitos recrutados na cavidade articular de ratos artríticos, sugerindo que este é um dos mecanismos responsáveis pela atividade anti-inflamatória do anetol.



**Figura 1-** Efeito do anetol (62.5, 125 or 250 mg/kg) no número de leucócitos totais na cavidade sinovial direita (A, C) e esquerda (B, D) 14 e 21 dias após a indução da artrite. O tratamento com anetol (62.5, 125 e 250 mg/kg) foi realizado por via oral durante 14 e 21 dias. Cada valor representa a média  $\pm$  E.P.M de 7 animais por grupo. \*  $P < 0.05$  comparado ao grupo AIA. #  $P < 0.05$  comparado ao grupo controle. One-way ANOVA seguido do teste de Tukey.



## Conclusões

Estes dados sugerem que o anetol apresenta uma atividade anti-inflamatória podendo constituir um possível fármaco com eficácia no tratamento de doenças inflamatórias e na proteção dos danos articulares causados pela artrite.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a assistência técnica de Jaílson Araujo Dantas e Célia Regina Miranda e o suporte financeiro da Fundação Araucária (FA), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

## Referências

DOMICIANO, T. P.; DALALIO, M. M.; SILVA, E. L.; RITTER, A. M. V.; ESTEVÃO-SILVA, C. F.; RAMOS, F. S.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; CUMAN, R. K.; BERSANI-AMADO, C. A. Inhibitory effect of anethole in nonimmune acute inflammation. **Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology**, v. 386, n. 4, p. 331-338, 2013.

ESTEVÃO-SILVA, C. F.; KUMMER, R.; FACHINI-QUEIROZ, F. C.; GRESPAN, R.; NOGUEIRA DE MELO, G. A.; BARONI, S.; CUMAN, R. K.; BERSANI-AMADO, C. A. Anethole and eugenol reduce *in vitro* and *in vivo* leukocyte migration induced by fMLP, LTB<sub>4</sub>, and carrageenan. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, n. 3, 567-575, 2014.

RITTER, A. M.; DOMICIANO, T. P.; VERRI JR, W. A.; ZARPELON, A. C.; SILVA, L. G.; BARBOSA, C. P.; NATALI, M. R. M.; CUMAN, R. K.; BERSANI-AMADO, C. A. Antihypernociceptive activity of anethole in experimental inflammatory pain. **Inflammopharmacology**, v. 21, n. 2, 187-197, 2013.

XIE, C.; MA L.; LIU, J.; LI, X.; PEI, H.; XIANG, M.; CHEN, L. SKLB023 blocks joint inflammation and cartilage destruction in arthritis models via suppression of nuclear factor-kappa B activation in macrophage. **PLOS ONE**, v. 8, e56349, 2013.