

EFEITO DO TRATAMENTO COM *TRANS*-ANETOL SOBRE OS NÍVEIS DE ÓXIDO NÍTRICO NO INTESTINO DELGADO DE CAMUNDONGOS

Stéfani Bueno Panza (PIBIC/CNPq), Saulo Euclides Silva Filho, Gessilda de Alcântara Nogueira de Melo (Coorientadora), Roberto Kenji Nakamura Cuman (Orientador), e-mail: stefani.panza@gmail.com

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

Ciências Biológicas; Farmacologia

Palavras-chave: trans-anetol, óxido nítrico, inflamação

Resumo

Este estudo avaliou o efeito do *trans*-anetol no modelo de inflamação no jejuno de camundongos induzida por *Toxoplasma gondii*. Para o estudo utilizamos camundongos pesando entre 19 e 23 g os quais foram divididos em 4 grupos. O primeiro grupo recebeu apenas água por gavagem, o segundo grupo recebeu o trans-anetol sem, no entanto, receber o protozoário. Os outros dois grupos receberam 1000 oocistos de *Toxoplasma gondii* e um destes foi tratado com *trans*-anetol (125 mg/Kg), e o outro apenas recebeu água por via oral. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de ética da UEM (CEAE/UEM 097/2013). A avaliação da resposta foi realizada pela determinação dos níveis de óxido nítrico pelo método de Griess. Não houve diferença significativa entre os grupos. Por fim, conclui-se que tanto a infecção por *T. gondii* quanto o tratamento com trans-anetol não modificaram os níveis de óxido nítrico no jejuno destes animais.

Introdução

A inflamação é uma resposta do tecido vivo a um estímulo irritativo em um determinado local. A fase inicial desta resposta é caracterizada pela liberação de mediadores pró-inflamatórios, incluindo diversas citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, leucotrienos, prostaglandinas, moléculas de adesão e óxido nítrico (NO). Estas substâncias juntas promovem diversas alterações clínicas, derivado do aumento do fluxo de sangue no local e da permeabilidade vascular como vasodilatação periférica, depressão miocárdica, diminuição do volume intravascular, aumento do metabolismo, febre, taquicardia, taquipnéia e leucocitose. A resposta gerada tem a finalidade de destruir o agente lesivo, podendo causar danos persistentes posteriormente, caso o reparo não seja definitivo (Oliveira et al., 2002). O NO é um componente hidrofóbico, característica que lhe garante habilidade de se difundir facilmente pela membrana celular, produzido em uma reação de oxidação com o aminoácido L-arginina que tem como

atividade biológica antimicrobiana; anti-inflamatória como regulador de inflamação; e uma atividade pró-inflamatória, como o relaxamento da musculatura vascular lisa, resultando em uma vasodilatação, com a finalidade de destruir o agente lesivo que, no entanto, quando exacerbada, pode resultar em uma queda da resistência arterial sistêmica causando, em casos mais sérios, a hipotensão severa (Silva e Velasco, 2007).

O modelo de inflamação intestinal foi induzido pelo protozoário intracelular obrigatório *T. gondii* que, ao chegar à mucosa intestinal, adere e invade os enterócitos iniciando uma resposta inflamatória na mucosa intestinal (Barragan & Sibley, 2003; Beverley, 1976).

O monoterpeno *trans*-anetol (ANE) é encontrado em óleos essenciais de algumas plantas aromáticas, como: anis estrelado (*Illicium anisatum*, *Illiciaceae*), canela-brava (*Croton zehntneri*, *Euphorbiaceae*), estragão (*Artemisia dracuncululus*, *Asteraceae*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*, *Lamiaceae*) e possui uma variedade de aplicações na indústria farmacêutica e alimentícia, principalmente como flavorizante e precursor na síntese de certos compostos (Simões et al., 2010).

Diversos estudos têm demonstrado que o ANE apresenta atividades como antígeno tóxica (Abraham, 2001), antitrombótica e atividade anti-inflamatória. Este projeto, portanto, teve como finalidade verificar os possíveis efeitos do tratamento com *trans*-anetol sobre os níveis de óxido nítrico em modelo de inflamação intestinal causada pelo protozoário *T. gondii*.

Materiais e métodos

Trans-anetol

O composto *trans*-anetol foi obtido comercialmente da empresa Sigma (St Louis, MO, EUA).

Animais

Foram utilizados camundongos machos, pesando entre 19 e 23g, obtidos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Foram mantidos a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, em ciclo claro/escuro. O protocolo experimental foi aprovado pela CEUA/UEM sob o protocolo n. 097/2013. Num primeiro momento, os animais foram divididos em quatro grupos tratados por via oral: Grupo Controle (GC), que recebeu água destilada (0,3mL/animal); Grupo Infectado (GI) com 1000 oocistos de *T. gondii*; Grupo controle tratado com 125 mg/Kg de *trans*-anetol uma vez ao dia durante cinco dias consecutivos (GCT 125); Grupo infectado e tratado com 125 mg/Kg de *trans*-anetol uma vez ao dia por cinco dias consecutivos (GIT 125).

Determinação de óxido nítrico

Após o tratamento, realizou-se a eutanásia, segmentos do jejuno foram coletados. Estas amostras foram processadas para avaliação dos níveis de NO, 50 μL do sobrenadante obtido foram adicionados em microplaca de 96 cavidades, em duplicata, adicionado 50 μL do Reativo de Griess, contendo N-Naftil (100 mg), água bidestilada (100 mL), ácido ortofosfórico (2,5 mL) e sulfanilamida (1,0 g). Os níveis de NO foram determinados paralelamente

com a curva de nitrito de sódio e foi realizada a leitura por meio da medida de absorbância em 550nm, registrada após 10 minutos de reação.

Análise estatística

Os dados foram expressos em média \pm SEM para cada subgrupo. Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando análise de variância one-way (ANOVA) seguida por teste de Tukey. O nível de significância foi $p < 0.05$.

Resultados e Discussão

O protozoário intracelular *T. gondii*, utilizado como modelo de inflamação intestinal, é capaz de produzir ileíte aguda, podendo até levar o camundongo à morte (Schulthess, 2010; Rachinel, 2003). Sabendo que o *trans*-anetol apresenta atividade anti-inflamatória, nós investigamos se há alteração dos níveis do óxido nítrico frente à infecção e se este composto altera os níveis de NO no jejuno dos camundongos infectados.

Para nossa surpresa os nossos resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre o GI ($0,052 \pm 0,00026$) e o GC ($0,053 \pm 0,00021$).

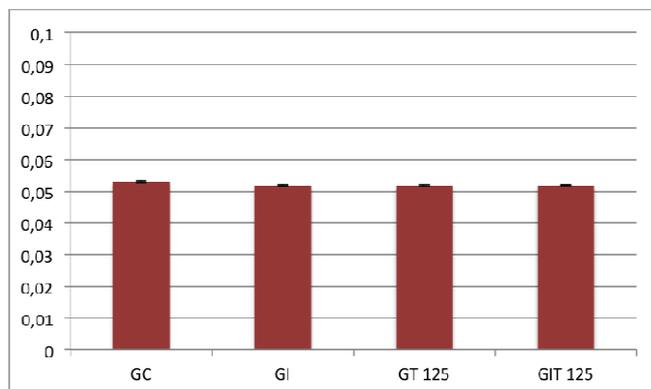


Gráfico 1- Efeito da infecção por *T. gondii* e do tratamento com *trans*-anetol sobre o óxido nítrico no jejuno de camundongos. Grupo Controle (GC) recebeu água, Grupo Controle Tratado com 125 mg/Kg (GCT 125) de *trans*-anetol, Grupo infectado com *T. gondii* (GI), Grupo Infectado e tratado com 125 mg/Kg (GIT 125) de *trans*-anetol. Os valores representam média \pm EPM (* $p < 0,05$).

Estudos demonstraram que o *trans*-anetol, quando administrado por via oral, é capaz de reduzir os níveis de NO, a atividade da enzima MPO e a migração de leucócitos em edema de orelha. O *trans*-anetol também possui atividade anti-inflamatória na formação de exsudato, inibindo os níveis de óxido nítrico e prostaglandina E, bem como diminui a migração de leucócitos polimorfonucleares à cavidade pleural (Ritter et al., 2013).

Alguns autores também relataram que o composto *trans*-anetol diminui a inflamação aguda no pulmão de camundongos, pela diminuição da concentração total de proteínas, do número de células inflamatórias e de mediadores inflamatórios como MMP-9, TNF- α e NO (Kang P., 2013).

Os nossos resultados mostraram que o tratamento dos animais infectados com *T. gondii* com 125 mg/Kg de *trans*-anetol ($0,052 \pm 0,00015$) não alterou os níveis de NO no tecido, assim como o tratamento do grupo controle ($0,052 \pm 0,00030$) (Figura 1).

Diante disto, faz-se necessário realizar novos experimentos abrangendo as outros segmentos do intestino e avaliar a reação inflamatória intestinal para obter-se uma análise geral do quadro patológico causado por este protozoário.

Conclusões

Concluimos que a infecção não alterou o óxido nítrico e que o tratamento com *trans*-anetol não modificou os níveis deste mediador químico no jejuno dos camundongos analisados.

Agradecimentos

Este estudo foi apoiado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), Brasil.

Referências

Abraham, S K **Anti-genotoxicity of trans-anethole and eugenol in mice.** *Food Chem Toxicol.*, v. 39, n. 5, p. 493–498, 2001.

Oliveira, R. P.; Velasco, I.; Soriano, F. G.; Friedman, G. **Clinical review: Hypertonic saline resuscitation in sepsis.** *Crit Care.*, v. 6, n. 5, p. 418-423, 2002.

Rachinel, N. ***Toxoplasma gondii* induit une iléite chez la souris C57BL/6 : identification de l'antigène responsable.** Tours, 2003.