

## **ANÁLISE DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS NO TRATAMENTO COM *Camellia sinensis* (chá preto) SOBRE A GIARDÍASE EXPERIMENTAL**

Laura Targino Luque (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Amanda Gubert Alves dos Santos (Coorientador), Liara Izabela Lopes Romera, Mariana Cristina Tenório Leonardi, Sabrina Isabel Obono Martí Avomo, Mônica Lúcia Gomes, Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana, Roberto Kenji Nakamura Cuman, Gessilda de Alcantara Nogueira-Melo (Orientador). E-mail: ganmelo2@uem.br.

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

**Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/Farmácia.**

**Palavras-chave:** *Giardia duodenalis*; chá preto; intestino delgado.

### **RESUMO**

A giardíase é uma das doenças parasitárias mais comuns no mundo. Ela pode apresentar-se de forma assintomática ou com sinais clínicos como má absorção intestinal, diarreia crônica, perda de peso, ocasionando transtornos no crescimento e no desenvolvimento de crianças. Quanto ao tratamento, a droga de primeira escolha é o metronidazol, porém, apresenta efeitos adversos e pode levar a resistência. Assim, a procura por tratamento alternativo é de grande relevância. Produtos naturais como *Camellia sinensis* (chá preto e chá verde) apresentam atividade antiparasitária. Nesse contexto, o objetivo deste projeto foi avaliar a atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) no intestino delgado de camundongos infectados com a assemblage BIV de *Giardia duodenalis* sob tratamento com *C. sinensis* (chá preto) isoladamente e associado com metronidazol. No duodeno não houve diferenças significativas. Tanto no jejuno quanto no íleo houve diminuição de MPO entre GC e GI, além disso, no jejuno, em relação ao GI os grupos tratados GCP150, GCM100 e GMT500 apresentaram aumento da atividade de MPO. A infecção por *G. duodenalis* apresentou diminuição da atividade da mieloperoxidase e os tratamentos restabeleceram a atividade da enzima.

### **INTRODUÇÃO**

*Giardia duodenalis* é um protozoário, que infecta o trato intestinal superior tanto em animais como em humanos. Sua transmissão é iniciada pela ingestão de cistos presentes em alimentos e água contaminados. A giardíase possui distribuição global, sendo considerada uma das parasitoses mais comuns no mundo. Pode apresentar-se de forma assintomática a sintomática com diarreias crônicas causadas pela inflamação intestinal, má absorção intestinal, perda de peso, e inclusive ocasionando transtornos no crescimento e desenvolvimento intelectual e cognitivo de crianças. A maioria dos medicamentos utilizados no tratamento da giardíase é

ineficaz contra alguns estágios da vida dos protozoários, o que leva a resistência à droga e a efeitos adversos importantes (AMARAL *et al.*, 2006). Essas limitações, a diversidade genética do parasito, a droga e tempo de tratamento nos leva a busca de novas alternativas terapêuticas no intuito de diminuir os efeitos adversos. A espécie vegetal *Camellia sinensis*, em sua forma de chá verde, se destaca na lista de compostos fitogênicos por apresentar efeito giardicida e ação anti-helmíntica. Entretanto, em relação ao potencial antiparasitário de *C. sinensis* em sua forma de chá preto não encontramos muito conhecimento na literatura, por isso, neste trabalho avaliamos o seu efeito isolado e associado ao metronidazol no tratamento da inflamação causada pela giardíase. A enzima mieloperoxidase (MPO) presente em diferentes células do sistema imune, mas principalmente nos neutrófilos, é usada como marcador inflamatório (KHAN *et al.*, 2018). Assim, o aumento do nível de atividade da MPO é uma das melhores ferramentas de diagnóstico de biomarcadores de estresse inflamatório e oxidativo entre doenças de ocorrência comum, como a giardíase. Tendo isso em vista, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da infecção por *G. duodenalis* e dos tratamentos sobre a atividade da enzima mieloperoxidase no intestino delgado de camundongos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Grupos experimentais e necropsia*

Foram utilizados 21 camundongos (*Mus musculus*) suíços machos, de 21 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais foram distribuídos em 7 grupos (n=3), sendo eles: controle positivo (GI), controle negativo (GC), grupos infectados e tratados com diferentes doses de chá preto: 100mg (GCP100) e 150 mg (GCP150), grupo infectado e tratado com 500 mg/kg Metronidazol (GMT500) e grupos infectados tratados com associação Metronidazol de dosagem fixa (500 mg/kg) e chá Preto em 100mg (GCM100) e 150 mg (GCM150). Os grupos de animais, exceto o controle negativo, receberam, via intragástrica, um inóculo de  $10^4$  cistos viáveis de *G. duodenalis*, após infecção os animais foram tratados conforme o protocolo experimental. Após avaliação pós-tratamentos os camundongos foram eutanasiados, o intestino delgado foi coletado e a atividade da Mieloperoxidase foi determinada.

### *Análise estatística*

Foi realizada a normalidade entre os dados pelo teste de Shapiro-Wilk, uma vez considerados de distribuição normal, os grupos foram comparados entre si pelo teste de análise de variância de uma via (ANOVA). Os testes foram realizados no software GraphPad Prism (8.0.2) e foi considerado significativo um valor de  $p < 0,05$ .

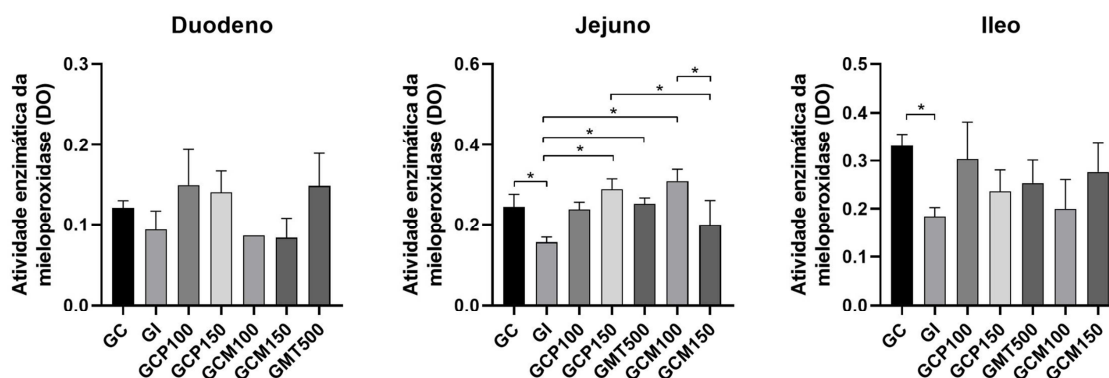
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos da MPO podem ser fisiológicos e patológicos, a enzima pode desempenhar papéis cruciais na defesa imunológica e regulação do processo inflamatório agindo na defesa bacteriana e fúngica, regulação da apoptose,

recrutamento de células de defesa, entre outras funções, através do papel pró-inflamatório causado por ela e seus produtos, porém quando sua atividade não está regulada pode promover dano oxidativo importante, causar lesão tecidual e agir na fisiopatologia de diversas doenças (VALADES-COSMES, 2022).

A avaliação estatística revelou a ausência de diferenças significativas na atividade da MPO no duodeno. No entanto, foram observadas diferenças nos segmentos jejuno e íleo, como demonstra a figura 1.

No íleo, foi observada uma diminuição significativa de 45% da atividade da MPO no GI em comparação com o GC. Isso ocorreu também no jejuno, em que GI apresentou decréscimo da atividade enzimática de 37% em relação ao GC. Esses resultados corroboram com achados da literatura, pois embora os efeitos fisiopatológicos e mecanismos imunes e não imunes causados pelo protozoário *G. duodenalis* ainda não tenham sido completamente elucidados (COTTON *et al*, 2011), há sinais de que certos isolados de *Giardia* são capazes de atenuar respostas inflamatórias intestinais e reduzir expressão de vários mediadores inflamatórios, como os recrutadores de granulócitos, indicando assim que esses parasitos possuem potencial mecanismo de evasão imunológica ao atenuar a quimiotaxia de neutrófilos (SOLAYMANI-MOHAMMADI, 2022; COTTON *et al*, 2011). No jejuno, os tratamentos aumentaram a atividade da MPO em relação ao GI. Isso inclui aumentos de 46% para o grupo tratado com GCP150, 50% para o grupo tratado com GCM100 e 40% para o grupo tratado com GMT500.



**Figura 1.** Atividade enzimática da Mieloperoxidase no jejuno e íleo. Grupo controle negativo (GC), grupo controle positivo (GI), Grupo chá preto 100 mg (GCP100), Grupo chá preto 150 mg (GCP150), Grupo Metronidazol (GMT500), Grupo chá preto 100 mg associado a Metronidazol (GCM100), Grupo chá preto 150 mg associado ao Metronidazol (GCM150) \*p<0,05

Foi encontrado que entre GCP150 e GCM150 houve diminuição de 32%, os animais tratados com chá preto isolado 150 mg obtiveram maior atividade de MPO do que aqueles tratados com associação com Metronidazol. Desse modo, o aumento da atividade de MPO em alguns dos grupos tratados pode estar relacionado a diminuição da infecção pelo protozoário.

## CONCLUSÕES

A infecção por *G. duodenalis* levou à diminuição da atividade da enzima Mieloperoxidase. O tratamento com o chá preto isolado (150mg/Kg) e associado ao Metronidazol em menor dose (100mg/kg) resultou no restabelecimento da atividade da enzima.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida, à minha orientadora Dra. Gessilda de Alcantara Nogueira de Melo e coorientadora Dra. Amanda Gubert Alves dos Santos pelos conhecimentos transmitidos, e a todo o laboratório pelo auxílio no projeto.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, F.M.M. *et al.* Plants and chemical constituents with giardicidal activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, p. 696-720, dez. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/qTHCfhVJfhXvNFKySQtQj8j/#>. Acesso em: 20 jul. 2023.

COTTON J.A. *et al.* *Giardia duodenalis* infection reduces granulocyte infiltration in an in vivo model of bacterial toxin-induced colitis and attenuates inflammation in human intestinal tissue. **PLoS One**. v. 9, n.10, out. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4188619/>. Acesso em 30 agosto 2023.

KHAN, A. A., ALSAHLI, M. A., & RAHMANI, A. H. Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. **Medical sciences** (Basel, Switzerland), v.6, p. 33, abr. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29669993/>. Acesso em: 20 jul. 2023.

SOLAYMANI-MOHAMMADI S. Mucosal Defense Against *Giardia* at the Intestinal Epithelial Cell Interface. **Front Immunol**. vol 13, fev. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8891505/>. Acesso em 30 ago 2023.

VALADEZ-COSMES P. *et al.* Myeloperoxidase: Growing importance in cancer pathogenesis and potential drug target. **Pharmacol Ther**. vol. 236, ago. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34890688/>. Acesso em: 26 agosto 2023.