

EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO DE GOJI BERRY (*Lycium barbarum*) EM RATAS SUBMETIDAS À DIETA HIPERPALATÁVEL E INDUZIDAS À INFLAMAÇÃO POR LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)

CAROLINE NICKEL ÁVILA¹; FERNANDA JANKE²; FERNANDA MOURA RIBEIRO TRINDADE³; JÚLIA OLIVEIRA PENTEADO⁴; JANAÍNA PEREIRA SCHNEIDER⁵; SIMONE PIENIZ⁶

¹Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Nutrição. Curso de Nutrição – oi.caroline@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Nutrição. Curso de Nutrição – fefa_janke@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Nutrição. Curso de Nutrição – fezinhamrt@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Rio Grande. Faculdade de Medicina. Pós-graduação em Ciências da Saúde – julia-penteado@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Nutrição. Curso de Nutrição – janapschneider@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Nutrição. Departamento de Nutrição – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória sistêmica pode ser desencadeada por fatores infecciosos e não infecciosos, porém os modelos mais utilizados para pesquisa são com lipopolissacarídeo (LPS), componente da membrana externa de bactérias gram-negativas, que possui grande poder imunogênico (SALLES et al., 1999). Uma vez que o LPS entra em contato com o organismo animal, seja a partir de uma bactéria gram-negativa como a *Escherichia coli*, ou pela administração direta do LPS, inicia-se uma série de respostas no organismo infectado.

A obesidade tem sido vista como um estado inflamatório de baixa intensidade. Isso se deve ao fato do tecido adiposo branco produzir uma série de citocinas ou adipocitocinas que estão envolvidas nesse processo inflamatório (LOPES, 2007). O estilo de vida baseado no sedentarismo e no consumo de dietas palatáveis com alto conteúdo de carboidratos (principalmente sacarose) e lipídeos tem sido associado ao aumento dos índices de obesidade da população. A ingestão de alimentos em geral e, particularmente, a ingestão alimentar excessiva gera estresse oxidativo. Isso, por sua vez, estimula mediadores da inflamação (BOCK, 2014).

Um método que tem sido extensivamente utilizado no diagnóstico de estados inflamatórios e infecciosos é a proteína C reativa (PCR). A PCR é uma das proteínas de fase aguda, produzida no fígado em resposta ao estímulo por citocinas inflamatórias, cuja concentração sérica aumenta ou diminui pelo menos 25% durante os processos inflamatórios. Da mesma forma, a haptoglobina tem sido utilizada como parâmetro em processos inflamatórios (KOGIKA et al., 2003). A haptoglobina alfa-2-proteína é responsável pelo transporte de hemoglobina nas células do sistema mononuclear fagocitário para que haja a recuperação do íon ferro durante o processo de hemocaterese e na defesa contra micro-organismos (HARVEY; WEST, 1987).

Sabe-se que plantas naturais têm sido utilizadas em estudos demonstrando propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (CHEN et al., 2004). Dentre estas, destaca-se a fruta Goji Berry (*Lycium barbarum*), a qual tem sido usada como

agente anti-inflamatório e antipirético, na medicina tradicional chinesa (YANG et al., 2013).

Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar a resposta anti-inflamatória do extrato da fruta Goji Berry (*L. barbarum*) em ratas da linhagem *Wistar* submetidas à dieta hiperpalatável induzidas à inflamação sistêmica com LPS.

2. METODOLOGIA

Este estudo foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) e, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CEEA, sob o registro nº 9662-2014. Foram utilizados 42 animais (*Rattus Novergicus*) da linhagem *Wistar*, fêmeas, com 60 dias de idade, os quais foram mantidos por 60 dias em gabinetes ventilados, com temperatura e umidade relativa do ar controladas e ciclo claro/escuro de 12 horas. Após um período de cinco dias de adaptação, os animais foram divididos aleatoriamente em seis grupos experimentais, com 7 animais cada, conforme apresentado a seguir: Grupo 1: Dieta padrão + água *ad libitum* (PA); Grupo 2: Dieta padrão + extrato de Goji Berry + água *ad libitum* (PG); Grupo 3: Dieta hiperpalatável + água *ad libitum* (HA); Grupo 4: Dieta hiperpalatável + extrato de Goji Berry + água *ad libitum* (HG); Grupo 5: Dieta padrão + água *ad libitum* + LPS (PAL); Grupo 6: Dieta padrão + Goji Berry + água *ad libitum* + LPS (PGL). A dieta hiperpalatável foi elaborada em Laboratório segundo Souza et al. (2007). A dieta padrão utilizada foi à ração comercial específica para roedores Nuvilab CR-1. O extrato da Goji Berry (*L. barbarum*) foi preparado diariamente no momento da administração, na concentração de 20%, com água a temperatura ambiente. O extrato foi administrado por gavagem, sendo ofertado para cada animal 2mL/dia. O LPS foi administrado 6 horas anterior a eutanásia, nos grupos 5 e 6, na concentração de 500 µg/Kg de peso animal, sendo a temperatura corporal aferida a cada 30 minutos com termômetro digital comercial. Ao fim do período de tratamento com as dietas os animais foram eutanasiados conforme protocolo de Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) nº 714 de junho de 2002.

A dosagem plasmática de PCR no plasma foi determinada pelo método de PCR-Ultra-Sensível-Turbidimétrico. As amostras foram analisadas em analisador bioquímico TARGA 3000. Tomaram-se como pontos de corte de anormalidade, já apontado em trabalhos na literatura (LIUZZO et al., 1994) valores superiores a 3 mg/L. A determinação da haptoglobina no plasma foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Jones & Mould (1984). A determinação da concentração das transaminases (TGP e TGO) no plasma foi realizada por sistema colorimétrico utilizando um kit comercial Transaminases (Doles[®], Goiânia - GO, Brasil) sendo a leitura obtida espectrofotometricamente em 505 nm e os resultados expressos em UI/L. As determinações das concentrações de creatinina no plasma foram realizadas com o uso de kits comerciais Creatinina K[®] (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, Brasil), baseado na reação de Jaffé. Os resultados foram expressos em mg/dL.

Para a análise estatística os dados foram testados quanto às características de distribuição. Os dados que apresentaram distribuição simétrica foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância de duas vias (Two-Way ANOVA) e teste de Tukey, com nível de significância de 5% para comparação das médias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos na análise de PCR observou-se diferença significativa ($p \leq 0,01$) entre os grupos analisados, sendo o grupo PAL o que apresentou maior resposta inflamatória em comparação aos demais. Ao analisar os grupos com dieta padrão tratados com a fruta Goji Berry (PGL e PG), observou-se que ambos apresentaram redução significativa de inflamação quando comparados ao grupo PAL. Da mesma forma, ao analisar os grupos tratados com dieta hiperpalatável e Goji Berry (HA e HG) observou-se redução significativa ($p \leq 0,01$) da resposta inflamatória no grupo tratado com o extrato da fruta. Observou-se ainda que quando analisada a dieta hiperpalatável (HA) houve um aumento da resposta inflamatória quando comparada a dieta padrão (PA). Os resultados do presente estudo corroboram com Hogan et al. (2011) os quais observaram aumento significativo nos níveis de PCR após a indução da obesidade em camundongos por 12 semanas com dieta contendo 41% de lipídios.

Além da análise da PCR, a resposta inflamatória foi avaliada pela determinação da haptoglobina. Por meio dos resultados obtidos, constatou-se que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os grupos analisados.

Neste estudo foram analisadas as transaminases TGO e TGP para verificar possíveis danos hepáticos induzidos pela inflamação por LPS. Os resultados obtidos pela análise de TGO apresentaram valores iguais ou superiores aos valores de referência preconizados pela literatura (5 a 57 UI/L). Ao analisar os grupos administrados com dieta padrão (PA; PAL; PGL e PG) observou-se que quanto à dieta controle (PA) houve diferença significativa ($p \leq 0,01$) com relação ao grupo tratamento PGL. Da mesma forma, observou-se diferença significativa ($p \leq 0,01$) entre os grupos administrados com dieta hiperpalatável (HA e HG) sendo observada redução nos níveis de TGO no grupo tratado com Goji Berry (HG). Verificou-se ainda que com relação a dieta HA houve diferença significativa ($p \leq 0,01$) com as dietas PAL e PGL, indicando assim que, possivelmente, o aumento dos níveis deste parâmetro bioquímico sejam influenciados na presença de uma dieta rica em lipídios. Os níveis de TGP encontrados estão de acordo com os valores de referência preconizado pela literatura (10 a 45 UI/L), sendo observada uma redução significativa ($p \leq 0,05$) no grupo HG em relação ao grupo PAL, e isso pode ser explicado pela presença do extrato de Goji Berry administrado no grupo HG, o qual não está presente no grupo PAL. De acordo com Mincis & Mincis (2006) níveis elevados de TGP são encontrados no fígado e podem ser considerados como marcador específico de dano hepático. Cheng & Kong (2011) relataram que *L. barbarum* melhorou significativamente a lesão hepática, impedindo a progressão do acúmulo de gordura hepática induzida por álcool, melhorando a função antioxidante.

Com a finalidade de avaliar possíveis alterações na função renal foi realizada análise de creatinina. Todos os grupos apresentaram valores de creatinina com níveis normais de referência (1,2 mg/dL), porém observando-se um aumento significativo ($p \leq 0,01$) no grupo PAL quando comparado aos grupos PA, PGL, PG e HG. Vale ressaltar que todos os grupos tratamento com o extrato de Goji Berry apresentaram redução significativa ($p \leq 0,01$) nos valores de creatinina. Entretanto, inferir que valores normais de creatinina plasmática sempre indicam função renal normal pode levar a equívocos importantes, já que alterações iniciais da taxa de filtração glomerular podem estar “ocultas” em valores de creatinina normais (DUNCAN et al., 2001).

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se inferir que o extrato de Goji Berry apresentou potencial de redução da resposta inflamatória.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOCK, H. **Efeitos da resistência à insulina na transcrição e tradução de proteínas em estruturas cerebrais de ratos**. 2014. Tese. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- CHEN, J.H.; TIPOE, G.L.; LIONG, E.C.; SO, H.S.; LEUNG, K.M.; TOM, W.M.; FUNG, P.C.; NANJL, A.A. Green tea polyphenols prevent toxin-induced hepatotoxicity in mice by down-regulating inducible nitric oxide-derived prooxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 742–751, 2004.
- CHENG, D.; KONG, H. The effect of Lycium barbarum polysaccharide on alcohol-induced oxidative stress in rats. **Molecules**, v.16, p.2542-2550, 2011.
- DUNCAN, L.; HEATHCOTE, J.; DJURDJEV, O.; LEVIN, A. Screening for renal disease using serum creatinine: who are we missing? **Nephrology Dialysis Transplantation**, v.16, p.1042-1046, 2001.
- HARVEY, J.W.; WEST, C.L. Prednisone-induced increases in serum alpha-2 globulin and haptoglobin concentration in dogs. **Veterinary Pathology**, v. 24, n. 1, p. 90-92, 1987.
- HOGAN, S.; CANNING, C.; SUN, S.; SUN, X.; KADOUH, H.; ZHOU, K. Dietary supplementation of grape skin extract improves glycemia and inflammation in diet induced obese mice fed a western high fat diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.3035-3041, 2011.
- JONES, G.E.; MOULD, D.L. Adaptation of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobin to a microtiter plate system. **Research in Veterinary Science**, v.37, p.87-92, 1984.
- KOGIKA, M.M.; PEREIRA, D.A.; ELIAS, F.; NOTOMI, M.K.; DELAYTE, E.H.; KAWAHARA, R. *et al.* Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e glicoproteína ácida em cães com gastroenterite hemorrágica. **Ciência Rural**, v.33, n.3, p.513-517, 2003.
- LIUZZO, G.; BIASUCCI, L.M.; GALLIMORE, J.R.; GRILLO, R.L.; REBUZZI, A.G.; PEPYS, M.B. *et al.* The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. **New England Journal of Medicine**, v.331, p.417-424, 1994.
- LOPES, H.F. Hipertensão e inflamação: papel da obesidade. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.14, n.4, p.239-244, 2007.
- MINCIS, M.; MINCIS, R. **Enzimas hepáticas: aspectos de interesse prático**. Grupo Editorial Moreira Jr, jan. 2006. Acessado em 09 ago. 2016. Online. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3250
- SALLES, M.J.C.; SPROVIERI, S.R.S.; BEDRIKOW, R.; PEREIRA, A.C.; CARDENUTO, S.L.; AZEVEDO, P.R.C. *et al.* Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepsis – revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.45, n.1, p.86-92, 1999.
- SOUZA, C.G.; MOREIRA, J.D.; SIQUEIRA, I.R.; PEREIRA, A.G.; RIEGER, D.K.; SOUZA, D.O. *et al.* Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. **Life Sciences**, v.81, p.198-203, 2007.
- YANG, X.; BAI, H.; CAI, W.; LI, J.; ZHOU, Q.; WANG, Y. *et al.* Lycium barbarum polysaccharides reduce intestinal ischemia/reperfusion injuries in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v.204, p.166-172, 2013.