



INFLUÊNCIA DE PLANTAS MEDICINAIS, CITADAS POR UMA COMUNIDADE RURAL, SOBRE O METABOLISMO DE COLESTEROL, EM COELHOS COM HIPERCOLESTEROLEMIA EXPERIMENTAL

Bruna Baptista de Freitas¹; Camila Conz¹; Antonio Carlos de Barros Tardivo¹; Roseli B. Torres³; Sandra Maria Pereira da Silva²; Lin Chau Ming²; Maria José Queiroz de Freitas Alves¹

¹Departamento de Fisiologia - Instituto de Biociências - UNESP, Campus de Botucatu – SP, Brasil; ⁴Departamento de Horticultura – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu – SP, Brasil; ³Herbário do IAC (Instituto Agrônomo de Campinas - SP Brasil).

RESUMO

Dentre as pesquisas em que as plantas medicinais e suas propriedades terapêuticas são o foco, a etnobotânica pode elucidar questões ligadas aos critérios e ferramentas que levam à escolha de estudar determinadas espécies medicinais. A erva de São João, a carqueja e a salsaparrilha foram citadas pela comunidade Bairro dos Marins, município de Piquete como boas para o tratamento de hiperlipidemias. Este estudo teve por objetivo verificar os possíveis efeitos dessas plantas sobre o colesterol plasmático, em coelhos com hipercolesterolemia experimental. Os animais foram divididos em 4 grupos, os quais receberam dieta e tratamento específicos para cada grupo: G1 = tratamento com erva de São João (n=3); G2 = tratamento com carqueja (n=3); G3 = tratamento com salsaparrilha (n=3) e G4 = grupo suplementado (n=3). Semanalmente, após jejum de 14h coletava-se sangue pela veia marginal da orelha e o plasma era usado para dosar colesterol. O protocolo experimental foi dividido em 3 períodos: 1º período - alimentação dos coelhos com ração normal (nos 4 grupos), para avaliar o colesterol basal dos animais; 2º período – todos os coelhos (4 grupos) recebiam ração suplementada com gema de ovo e óleo, para desenvolver a hipercolesterolemia e 3º período – tratamento de acordo aos grupos. O colesterol no primeiro período foi de $38,75 \pm 6,6$ mg/dL, no 2º período houve elevação significativa no nível de colesterol plasmático (nos 4 grupos) - sempre acima de 300mg/dL. Com relação ao tratamento, a erva de São João reduziu significativamente o nível de hipercolesterolemia; a carqueja e a salsaparrilha não promoveram redução no colesterol, porém impediram a progressão da doença, que foi registrada no grupo 4 (só suplementação, sem tratamento). Conclui-se que a erva de São João possui princípios bioativos que promovem a redução do colesterol plasmático em animais com hipercolesterolemia induzida.

Palavras-chave: *Baccharis trimera*, *Ageratum conyzoides* L, *Herreria salsaparrilha*, hipercolesterolemia, coelho.

ABSTRACT

Among the research that medicinal plants and their therapeutic properties are the focus, ethnobotany elucidates issues related to the criteria and tools that leads to the choice of studying certain medicinal species. The St. John's wort, carqueja and sarsaparilha were cited by the community of Bairro dos Marins, Piquete city, as being good for the treatment of hyperlipidemia. This study aimed at assessing the possible effects of these plants on plasma cholesterol in rabbits with experimental hypercholesterolemia. The animals were divided into four groups, which received diet and treatment specific to each group: G1 = treatment with St. John's wort (n = 3), G2 = carqueja treatment (n = 3), G3 = treatment with sarsaparilla (n = 3) and G4 = supplemented group (n = 3). Weekly, after 14h fasting, blood was collected by marginal ear vein and the plasma was used to dose cholesterol. The experimental protocol was divided into three periods: 1st period - feeding rabbits with normal chow (4 groups), to assess their basal cholesterol; 2nd period - all rabbits (4 groups) received supplemented chow with egg yolk and oil to develop the hypercholesterolemia and 3rd period - according to treatment groups. Cholesterol in the first period was 38.75 ± 6.6 mg/dL; in the 2nd period there was a significant increase in plasma cholesterol level (in 4 groups) - always above 300mg/dL. With regard to treatment, the St. John's wort significantly reduced the level of hypercholesterolemia; carqueja and sarsaparilha didn't promote cholesterol reduction, but prevented disease progression, which was recorded in group 4 (only supplementation, untreated). It is concluded that St. John's wort has bioactive principles that promotes the reduction of plasma cholesterol in animals with induced hypercholesterolemia.

Key-words: *Baccharis trimera*, *Ageratum conyzoides* L, *Herreria salsaparrilha*, hypercholesterolemia, rabbits.

Endereço para correspondência

Maria José Queiroz de Freitas Alves

Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Dpto. de Fisiologia/IB

Distrito de Rubião Jr., s/nº, 18618-970 – Botucatu-SP Brasil; Tel: +55 14 38800324

E-mail: zeze@ibb.unesp.br

INTRODUÇÃO

A O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana. Maciel (2002) já discutia sobre a necessidade de estudos multidisciplinares com plantas medicinais, envolvendo a etnobotânica, a química e a farmacologia. Diferentes estratégias vêm sendo utilizadas por instituições de pesquisa e universidades, assim como por indústrias farmacêuticas. Os métodos utilizados para tal finalidade são: método randômico, químio-taxonômico e etnobotânico.

A metodologia randômica é mais cara e demorada, por abranger um número maior de espécies além de estatisticamente ter menor chance de resultados positivos, apresenta a característica de trabalhar com todas as plantas existentes (Balick, 1993). Por outro lado, a etnobotânica envolve a participação ativa de representantes dos moradores das comunidades locais e seus conhecimentos associados à flora local, utilizada, com toda a certeza, desde tempos remotos, para a cura de diferentes males da população. É um método mais rápido e barato, pois envolve a pesquisa com um número bem mais reduzido de espécies. No Brasil, devido sua diversidade biológica associada à grande diversidade cultural, a pesquisa etnobotânica tem se tornado uma importante ferramenta de pesquisa nessa busca de novos medicamentos (Rodrigues e Carlini, 2003).

Neste contexto, as pesquisas em que as plantas medicinais e suas propriedades terapêuticas são o foco, a etnobotânica pode elucidar questões ligadas aos critérios e instrumentos que levam os grupos de pesquisa a escolherem determinadas espécies de plantas em detrimento de outras, bem como apoiar e justificar a manutenção das culturas tradicionais. Estudo etnobotânico com plantas medicinais em um bairro rural de Piquete – SP (Silva, et al., 1995), mostrou o registro de 121 plantas medicinais utilizadas para diferentes fins, sendo 50 plantas exóticas e 71 são nativas. A autora recomendou que mais estudos fossem realizados nessa área, a qual foi um antigo caminho do ouro, tropas e que situa dentro da Área de Proteção Ambiental (APA) da Mantiqueira.

Doenças ligadas ao nível de colesterol no sangue tem sido foco de pesquisas, pois são males que vêm aumentando de frequência devido às novas situações advindas da vida moderna, com alterações na qualidade da alimentação e sedentarismo. A associação entre hiperlipidemia e doença coronariana está bem estabelecida e se fundamenta, principalmente, no papel do colesterol durante o desenvolvimento da aterosclerose (Posadas-Romero, 1995). Embora a patogênese dessa enfermidade seja complexa, um dos fatores determinantes reside na oxidação da LDL, induzindo o desenvolvimento da placa ateromatosa (Steinberg et al., 1989).

Na comunidade de Marins, do município de Piquete, os nomes dados ao colesterol (Barros, 2007) pelos entrevistados foram: gordura nas veias, limo nas veias e sangue grosso. Esses autores relataram que 13 espécies medicinais foram citadas pela comunidade para diminuir o nível de colesterol no sangue, sendo a mais citada a carqueja (*Baccharis sp.*), seguida da berinjela. Esse trabalho fez parte do projeto Bioprospecta/Fapesp (04/15410-0), a coleta das plantas foi feita no Bairro dos Marins, Piquete – SP. Das plantas citadas pela comunidade desse bairro (Barros, 2007) três foram usadas (carqueja – *Baccharis sp.*, salsaparrilha – *Herreria salsaparilha* Mart e erva de são João – *Ageratum conyzoides L.*), com o objetivo verificar o efeito sobre o nível sérico de colesterol, em coelhos submetidos à dieta suplementada com gema de ovo.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 12 coelhos da espécie *Oryctolagus cuniculus* machos, pesando em média 1.500g no início do experimento. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central pertencente ao Campus de Botucatu/UNESP.

- Grupos Experimentais

O experimento foi realizado no biotério do Departamento de Fisiologia – IB/Unesp, onde foi realizado o experimento. Os coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) foram distribuídos aleatoriamente em gaiolas metabólicas e 4 grupos experimentais (G1, G2, G3 e G4) foram definidos

de acordo ao delineamento experimental da Tabela 1.

Tabela 1. Delineamento experimental.

Grupos Experimentais	1º Período (40 dias)	2º Período (40 dias)	3º Período (60 dias)
G1	Ração normal	Ração Suplementada	Ração Suplementada + tratamento - Erva de São João
G2	Ração normal	Ração Suplementada	Ração Suplementada + tratamento - Carqueja
G3	Ração normal	Ração Suplementada	Ração Suplementada + tratamento - Salsaparrilha
G4	Ração normal	Ração Suplementada	Ração Suplementada

Plantas

As plantas utilizadas no experimento foram *Baccharis trimera* (popularmente conhecida como carqueja), *Ageratum conyzoides* L (erva de são João) e *Herreria salsaparrilha* (salsaparrilha), as quais foram identificadas pela Profa Roseli B. Torres e suas exsicatas estão depositadas no Herbário do IAC com os seguintes números: 48899, 48847 e 48806, respectivamente.

Os extratos foram preparados pelo método de decocção (Mattos, 1998), na concentração de 1% (100mL de água fervente e 1g de planta) foram oferecidos aos coelhos na quantidade de 150mL diariamente.

Formulação da ração

O Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da UNESP/Botucatu formulou a ração suplementada utilizada no experimento. Essa dieta foi preparada a partir de ração comercial para coelhos na seguinte proporção: 12,5kg de ração triturada, 1.187g de gema de ovos e 1.187mL de óleo de milho. A ração comercial foi moída em triturador e acrescida com as gemas de ovos e o óleo. Adicionou-se água à mistura até adquirir consistência de massa. A partir dessa mistura os péletes foram confeccionados e desidratados em

estufa com circulação de ar forçada a 60°C durante 24h (Fernandes et al., 2002; Mesquita et al., 2007).

Condução do experimento

O controle da ingestão de ração foi diário e o peso dos animais aferido em intervalo de 15 dias. O sangue era coletado semanalmente, através da veia marginal da orelha dos coelhos submetidos ao jejum de 14 horas durante todo o período experimental (Mesquita et al, 2007 e Alves et al, 2008). O plasma foi obtido através da centrifugação do sangue a 3000 rpm por 10 minutos e congelado para posterior dosagem do colesterol total, HDL e LDL, através de kits enzimáticos LABORLAB®.

Eutanásia

A eutanásia foi realizada por meio de deslocamento cervical (decapitação) e o protocolo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, sendo aprovado em reunião pela Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biociências de Botucatu (protocolo nº 205-CEEA).

Análise Estatística

Foi utilizada análise multivariada de perfil (Marrison, 1990), visando comparar os grupos em cada período, bem como a diferença entre os períodos de cada grupo. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Os valores médios obtidos referentes à ingestão diária de ração (em gramas), para os coelhos dos quatro grupos experimentais G1, G2, G3 e G4 (conforme descritos na Tabela 1) encontram-se na Tabela 2. Os coelhos também foram pesados quinzenalmente e os valores médios obtidos, representando o ganho de peso corporal dos animais de cada grupo experimental, estão representados na Figura 1.

Tabela 2. ingestão diária média de ração (em gramas), durante os 3 períodos experimentais para os coelhos dos 4 grupos G1, G2, G3 e G4. Os valores do 3º período foram diferentes estatisticamente ($p<0,05$) quando comparados com os valores do 1º período.

Grupos experimentais	Ingestão diária de ração (g)		
	1º Período	2º Período	3º Período
G1	195,1	166,2	103,8
G2	192,1	159,6	98,4
G3	201,3	186	106,4
G4	162,1	121,48	85,8

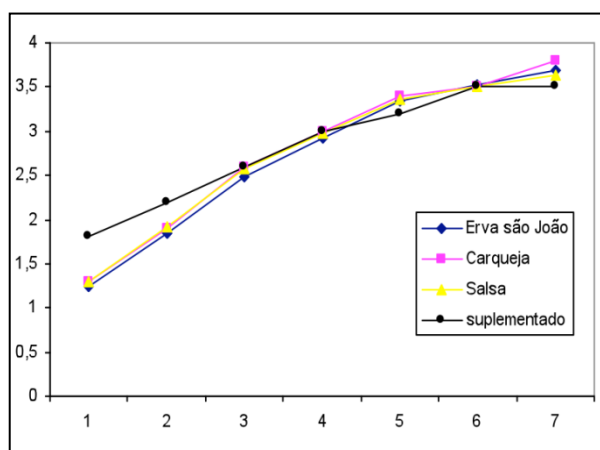


Figura 1. Evolução do ganho de peso dos animais (Kg) dos 4 grupos: G1, G2, G3 e G4. No eixo horizontal está representado o período semanal da pesagem dos animais e a partir da 3ª semana o peso foi estatisticamente diferente ($p<0,05$), quando comparado com o peso da 1ª semana.

Todos animais (Figura 2), no 1º período apresentaram nível de colesterol de 30mg/dL. A hipercolesterolemia elevou significativamente ($p<0,05$) o colesterol no 2º período em todos os grupos. A suplementação do 3º período continuou aumentando ($p<0,05$) o colesterol nos animais do G4 (de 280 para 383mg/dL), entretanto no 3º período nos animais do G1 houve redução de 40% na hipercolesterolemia ($p<0,05$). Por outro lado, nos animais de G2 e G3, tratados com carqueja e salsaparrilha respectivamente, não houve modificação do nível de hipercolesterolemia ($p>0,05$).

As Figuras 3 e 4 mostram os valores médios de LDL e HDL (mg/dL), respectivamente. A suplementação (2º período) aumentou

significativamente ($p<0,05$) o nível de LDL de 40 mg/dL (valor médio do 1º período dos grupos) para 340 mg/dL. O tratamento realizado no 3º período só foi eficiente em reduzir a LDL no G1, redução significativa de 20% ($p<0,05$). Por outro, a suplementação com ração rica em gema de ovo elevou a HDL em todos os grupos ($p<0,05$), mas o tratamento não modificou significativamente o nível de HDL no plasma dos coelhos ($p>0,05$).

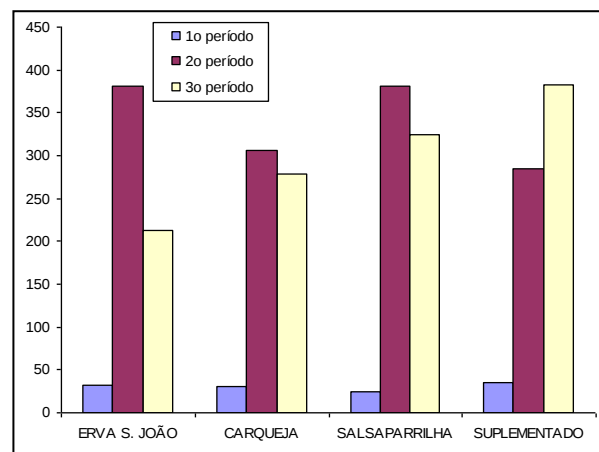


Figura 2. Na vertical - valores médios de colesterol total (mg/dL) plasmático, nos 3 períodos da experimentação – nos grupos G1, G2, G3 e G4. Os 2º e 3º períodos de todos os grupos foram diferentes do 1º período ($p<0,05$), e o 3º período de G1 e G4 foi estatisticamente diferente do 2º período dos seus respectivos grupos ($p<0,05$).

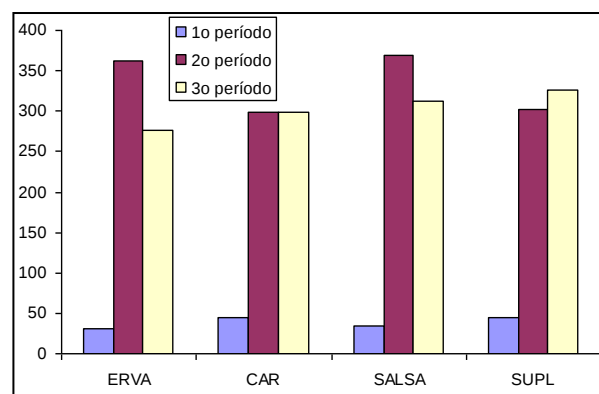


Figura 3. Na vertical - valores médios de LDL (mg/dL) plasmático, nos 3 períodos da experimentação – nos grupos: G1, G2, G3 e G4. Os 2º e 3º períodos de todos os grupos foram diferentes do 1º período ($p<0,05$), e o 3º período de G1 foi estatisticamente diferente do 2º período desse grupo ($p<0,05$).

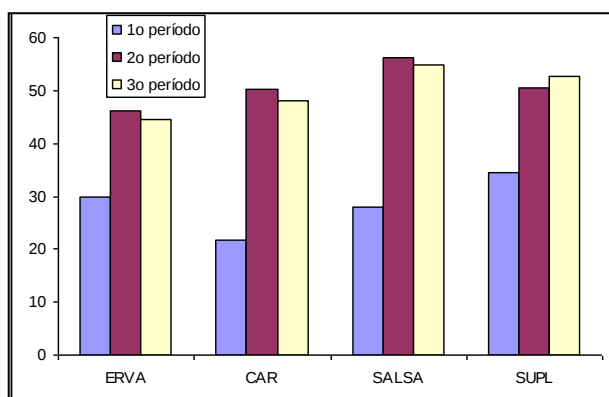


Figura 4. Na vertical - valores médios de HDL (mg/dL) plasmático, nos 3 períodos da experimentação – nos grupos: G1, G2, G3 e G4. Os 2º e o 3º períodos de todos os grupos foram diferentes do 1º período ($p < 0,05\%$).

DISCUSSÃO

Os coelhos de todos os grupos ganharam peso na mesma proporção, não apresentando diferenças significativas ($p > 0,05$), sugerindo que a suplementação, bem como os tratamentos, não influenciaram no ganho de peso corporal dos animais (Figura 1). Por outro lado, nota-se que os animais diminuíram o consumo diário de ração, gradativamente do 1º para o 3º período (Tabela 2). Estes resultados sugerem que o confinamento, provavelmente, reduziu a procura de alimento pelos animais. Além disso, a redução pode ter ocorrido pelo fato da ração suplementada ter alto valor calórico (Justo et al., 2002), pois os animais alimentados com a dieta suplementada comeram menos, mas ganharam peso ao longo do experimento (Figura 1).

Após a suplementação houve aumento significativo no nível plasmático de colesterol total ($p < 0,05$). Estes resultados estão de acordo com os de Fernandes e colaboradores (2002), Mesquita e colaboradores (2007), Pereira e colaboradores (2007) e Alves e colaboradores (2008), ou seja, a ração suplementada é eficiente em causar hipercolesterolemia experimental em coelhos. Das plantas testadas, a erva de são João foi capaz de reduzir significativamente o nível de colesterol plasmático ($p < 0,05$), mostrando-se eficiente como terapêutica no tratamento da hiperlipidemia, em coelhos com hipercolesterolemia induzida.

Embora as alterações não tenham sido significativas, nota-se que no G2 e no G3, animais tratados com carqueja e salsaparrilha,

respectivamente, houve uma tendência em reduzir o nível de colesterol após o tratamento (Figura 2), enquanto que nos animais do G4, a suplementação no 3º período continuou elevando significativamente ($p < 0,05$) o nível plasmático de colesterol. Dessa forma, o tratamento em G2 e G3 não foi eficiente em reduzir a concentração plasmática de colesterol em coelhos, mas impediu a progressão da hipercolesterolemia observada no G4.

De modo geral, os polifenóis e em particular os flavonóides possuem estrutura ideal para o seqüestro de radicais livres, sendo antioxidantes mais efetivos que as vitaminas C e E. Alves e colaboradores (2007) descreveram a atividade antioxidante de alguns flavonóides isolados de plantas e outros pesquisadores (Mesquita et al., 2007, Aldin et al., 2001 e Oliveira, 2002) demonstraram que os flavonóides foram capazes de reduzir o colesterol em mamíferos. Por outro lado, a erva de são João também tem flavonóides e óleos essenciais (www.plantamed.com.br), mas com relação à salsaparrilha, nada consta na literatura. Sendo assim, o efeito hipocolesterolêmico da erva de são João pode ser explicado, pelo menos em parte, pela presença de flavonóides e/ou polifenóis.

A Figura 3 mostra os valores médios de LDL nos diferentes grupos experimentais. No 1º período o nível de LDL foi baixo, em torno de 40 mg/dL, mas a suplementação elevou significativamente ($p < 0,05$) o nível nos quatro grupos. Apenas o extrato da erva de são João reduziu significativamente ($p < 0,05$) em 20% essa lipoproteína, mas não alterou o nível de HDL (Figura 4), resultados semelhantes aos demonstrados por Aldin e colaboradores (2001) e Mesquita e colaboradores (2007), para o tratamento com antioxidantes ricos em flavonóides.

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados permitem concluir que o extrato aquoso de erva de são João – *Ageratum conyzoides* – foi capaz de reduzir o nível de colesterol e LDL em coelhos com hipercolesterolemia induzida. Entretanto, os extratos de carqueja – *Baccharis* sp – e salsaparrilha – *Herreria salsaparilha* – Mart não apresentaram efeitos hipolipidêmicos, mas

impediram a progressão da hipercolesterolemia, observada nos animais submetidos à suplementação sem tratamento.

AGRADECIMENTOS

À Fapesp pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldin MN, Barros, HH Mattos, RC, Nunes, MS, Oliveira, PG, Ribeiro, FP, Savoy, PM, Jaime, PC. Eficácia dos flavonóides na dislipidemia, Mundo Saúde, 2001; 25(2):149-152.
- Alves CQ, Brandão HN, David JM, David JP, Lima L. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. Diálogos & Ciências, 2007; 5(12):1-8.
- Aves MJQF, Mesquita FF, Sakaguti M, Tardivo AC. Efeito hipocolesterolêmico dos ácidos caféicos da própolis. Rev Bras Plantas Med. 2008; 10(1):100-105.
- Balick MJ. Ethnobotany, drug development and biodiversity conservation – exploring linkages. In: Prance, GT, Chadwick, DJ (Org.), Marsh J. Ethnobotany and the search for new drugs. Fortaleza: CIBA Foundation Symposium, 1993, p. 4-24.
- Barros LCP. Conhecimento sobre plantas medicinais com atividade de controle do colesterol, pressão arterial e problemas renais, utilizadas pela população residente no Bairro dos Marins município de Piquete – SP. 2007, 166p. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.
- Fernandes A.A.H, Alves, MJQF, Boteon EM, Rosa, GJM, Novelli ELB. Avaliação do colesterol plasmático em coelhos submetidos a hipercolesterolemia induzida e tratados com extrato etanólico de própolis. Rev Bras Plantas Med. 2002; 4(2):1-5.
- Justo R.P, Tardivo, ACB e Alves, MJQF. Composição centesimal de rações usadas em estudo de hipercolesterolemia em coelhos. In: Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 14. Presidente Prudente. Anais. Presidente Prudente, 2002.
- Maciel MAM. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Quím Nova. 2002; 25(3):429-438.
- Matos FJA. Farmácias Vivas, 3ª Ed. Fortaleza: EUFC, 1998, p. 220.
- Mesquita FF, Rueda BZ, Tardivo ACB, Alves MJQF. Efeitos da fração flavonoídica da própolis sobre o metabolismo de colesterol, em coelhos com hipercolesterolemia experimental. Rev Bras Plantas Med. 2007; 9(1):44-50.
- Morrison DF. Multivariate statistical methods. São Paulo: Mc Graw Hill, 1990, p.450.
- Oliveira TT. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos Rev Nutr. 2002; 15(1):45-51.
- Posadas-Romero C. Cholesterol levels and prevalence of hypercholesterolemia in Mexican adult population. Atherosclerosis, 1995; 118(1):275-284.
- Rodrigues E, Carlini EA. Levantamento etnofarmacológico realizado entre um grupo de quilombolas do Brasil. Arq Bras Fitomed Cient. 2003; 1:80-87.
- Silva I, Franco SL, Molinari, SL, Conejero CI, Neto MHM, Cardoso MLC, Sant'Ana DMG, Iwanko NS. Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais. Cascavel: Assoeste, 1995, p.203.
- Steinberg D, Parthasarathy S, Carew E. Modifications of low- density lipoprotein that increase its atherogenicity. New Engl. J. Med. 1989; 320(1):915-924.
- www.plantamed.com.br - consultado por Maria José Queiroz de Freitas Alves.