



## Avaliação do potencial de melhoria de *Baccharis trimera* em um modelo experimental de doença pulmonar

*On the ameliorative potential of Baccharis trimera in an experimental model of pulmonary disease*

Ronaldo de Souza<sup>1</sup>, Gustavo Ratti da Silva<sup>1</sup>, Marília Moraes Queiroz Souza<sup>1</sup>, Lougan Lagass-Pereira<sup>2</sup>, Diego Lacir Froehlich<sup>3</sup>, João Tadeu Ribeiro-Paes<sup>2</sup>, Francislaine Aparecida dos Reis Lívero<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa Pré-Clinica de Produtos Naturais, Programa de Pós-Graduação em Plantas Mediciniais e Fitoterápicos na Atenção Básica, Universidade Paranaense, Umuarama (PR), Brasil;

<sup>2</sup>Laboratório de Genética e Terapia Celular, Universidade de São Paulo, Assis (SP), Brasil;

<sup>3</sup>Laboratório de Pesquisa Pré-Clinica de Produtos Naturais, Universidade Paranaense, Umuarama (PR), Brasil;

<sup>4</sup>Laboratório de Pesquisa Pré-Clinica de Produtos Naturais, Programa de Pós-Graduação em Plantas Mediciniais e Fitoterápicos na Atenção Básica, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Bioatvivo, Universidade Paranaense, Umuarama (PR), Brasil.

\*Autor correspondente: Francislaine Lívero. E-mail: [francislaine@prof.unipar.br](mailto:francislaine@prof.unipar.br)

### RESUMO

Diabetes mellitus, tabagismo e dislipidemia são mais prevalentes em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), a quarta causa de mortalidade no mundo. Este estudo empregou um modelo de doença pulmonar em ratos Wistar que incorporou esses três fatores de risco e investigou os efeitos da *Baccharis trimera*, uma planta medicinal amplamente utilizada, uma vez que nenhum estudo avaliou seus efeitos pulmonares. Os ratos diabéticos e dislipidêmicos foram expostos à fumaça de cigarro por 4 semanas e tratados com veículo (grupo C-), extrato de *B. trimera* (HEBT), ou simvastatina+insulina, por 2 semanas. O lavado broncoalveolar foi realizado para avaliar a inflamação. Os pulmões foram coletados para análises histopatológicas e do estado redox. Foi observada diminuição do peso corporal, aumento do estresse oxidativo, inflamação e alterações histopatológicas no grupo C-. HEBT reverteu essas alterações e apresentou efeito antiinflamatório moderado. O tratamento com HEBT apresentou efeitos promissores para a DPOC.

**Palavras-chave:** DPOC. Diabetes mellitus. Dislipidemia. Roedores. Tabagismo.

### ABSTRACT

Diabetes mellitus, smoking, and dyslipidemia are more prevalent in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), the fourth leading cause of mortality worldwide. This study employed a model of lung disease in Wistar rats that incorporated these three risk factors, and investigated the effects of *Baccharis trimera*, a widely used medicinal plant, since no previous studies have evaluated its pulmonary effects. The diabetic and dyslipidemic rats were exposed to smoke for 4 weeks and treated with vehicle (C- group), an extract of *B. trimera* (HEBT), or simvastatin+insulin, for 2 weeks. The bronchoalveolar lavage was performed to evaluate inflammation. The lungs were collected for histopathological and redox state analyses. A decrease in body weight, an increase in oxidative stress, inflammation, and histopathological changes were observed in C- group. HEBT reversed these alterations and had a moderate antiinflammatory effect. Treatment with HEBT present promising effects for COPD.

**Keywords:** COPD. Diabetes mellitus. Dyslipidemia. Rodents. Smoking.

Recebido em Dezembro 28, 2020  
Aceito em Junho 21, 2022

## INTRODUÇÃO

Por quase 50 anos, a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) foi conceituada como uma condição autoinfligida causada pela fumaça do cigarro. Em pessoas suscetíveis, fumar leva a uma resposta inflamatória anormal que danifica as vias aéreas (levando a bronquite e bronquiolite) e alvéolos (levando a enfisema)<sup>1</sup>. Esses efeitos deletérios aceleram o declínio pulmonar fisiológico relacionado à idade e causam limitação do fluxo das vias aéreas e sintomas respiratórios crônicos, que são difíceis de reverter e podem se manifestar periodicamente com exacerbações da função pulmonar. O diagnóstico espirométrico é obrigatório; sem ele, a presença de DPOC não pode ser confirmada. Os tratamentos atuais para a DPOC concentram-se no aumento do fluxo das vias aéreas e na melhora dos sintomas pulmonares usando broncodilatadores com ou sem glicocorticóides inalados<sup>2</sup>.

O tabagismo é o principal fator de risco ambiental para DPOC e pacientes com DPOC também apresentam maior prevalência de fatores de risco clássicos para doenças cardiovasculares, como dislipidemia, diabetes e hipertensão arterial sistêmica<sup>1-3</sup>. As comorbidades são altamente prevalentes nesta doença, mas não estão necessariamente relacionadas à função pulmonar. Assim, a DPOC pode ser considerada um componente pulmonar de uma síndrome sistêmica e multimórbida<sup>1</sup>.

Mediadores inflamatórios circulantes podem contribuir para a perda musculoesquelética e caquexia, além de iniciar ou agravar diversas comorbidades, como cardiopatia isquêmica, insuficiência cardíaca, osteoporose, anemia normocítica, diabetes e síndrome metabólica<sup>2-5</sup>.

A coexistência de DPOC e doença cardiovascular tem um impacto importante nos desfechos clínicos. Em pacientes com DPOC leve ou moderada, as causas mais frequentes de morte são câncer e doenças cardiovasculares. Em pacientes com DPOC grave, a principal causa de morte é doença respiratória<sup>6</sup>. A doença pulmonar obstrutiva crônica também está associada a maior risco de arritmias, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico<sup>6,7</sup>. Em pacientes com DPOC, a doença cardiovascular é responsável por aproximadamente 50% de todas as internações e 20% de todas as mortes, enfatizando assim as relações entre DPOC e doença cardiovascular<sup>8</sup>.

Com base na alta prevalência de doenças e fatores de risco relacionados aos sistemas cardiovascular e respiratório, os estudos científicos precisam avaliar meios alternativos de tratamento e desenvolver medicamentos mais eficazes, com melhor custo-benefício e viáveis para o tratamento de sintomas cardíacos e pulmonares. Uma alternativa promissora de tratamento são as plantas medicinais. Entre as espécies promissoras está *Baccharis trimera* (Asteraceae), popularmente conhecida como “carqueja”. A planta é um arbusto perene que se originou na América do Sul e

é cultivado principalmente no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai<sup>9,10</sup>. A infusão da planta é utilizada popularmente para o tratamento de problemas hepáticos e digestivos, malária, diabetes, anemia, diarreia, inflamações, verminoses, hipercolesterolemia e reumatismo<sup>10-13</sup>. Estudos farmacológicos relataram seus efeitos antioxidantes, antiinflamatórios, gastroprotetores e hepatoprotetores<sup>10,14-16</sup>. Seus efeitos na perda de peso e na atividade hipolipidêmica e hipoglicêmica também são bem descritos, além de ações anti-hemorragicas, anti-Alzheimer<sup>10</sup> e cardioprotetoras<sup>17,18</sup>. Apesar de vários estudos abrangentes sobre os efeitos terapêuticos da *B. trimera*, sua atividade pneumoprotetora ainda não foi investigada cientificamente.

O presente estudo empregou um modelo de doença pulmonar em ratos, incorporando vários fatores de risco para dislipidemia e diabetes, combinados com um fator de risco modificável, o tabagismo. A *B. trimera* já demonstrou ter ações cardio e hepatoprotetoras neste modelo experimental. Assim, estendemos este modelo para avaliar seus efeitos pneumoprotetores.

## MÉTODOS

### MATERIAL BOTÂNICO E PREPARO DO EXTRATO

Partes aéreas de *Baccharis trimera* (Less.) DC foram coletados em fevereiro de 2018 no Horto de Plantas Medicinais da

Universidade Paranaense (UNIPAR), localizado a 430 m acima do nível do mar (coordenadas: 23°46'11,3"S, 53°16'41,2"W) em Umuarama, Paraná, Brasil. Um espécime voucher foi depositado no herbário da UNIPAR (nº 07). O extrato foi preparado por infusão de acordo com a forma de uso etnomedicinal e depois purificado com etanol de acordo com métodos previamente descritos e o perfil fitoquímico já publicado<sup>17</sup>. O nome da planta foi verificado no site <http://www.theplantlist.org> e aprovado.

### ANIMAIS

Ratos Wistar machos, pesando 200-250g, foram obtidos da Universidade Estadual de Maringá. Eles foram alojados no biotério do Laboratório de Pesquisa Pré-Clinica de Produtos Naturais da UNIPAR com livre acesso a uma dieta líquida e sólida em condições ambientais controladas (temperatura: 20°C ± 2°C; umidade relativa: 50% ± 5%; 12h/12h ciclo claro/escuro) com enriquecimento ambiental. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Paranaense (protocolo nº 1000/2018) e foram seguidas todas as diretrizes e recomendações internacionais que garantem o bem-estar animal e reduzem o número de animais que são utilizados em pesquisas experimentais. O relato de investigações em animais foi realizado e interpretado de acordo com as diretrizes *do Animal Research Reporting of In Vivo Experiments* (ARRIVE)<sup>19</sup>.

## DESIGN EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

Para induzir o diabetes, após jejum de 12 horas, os ratos receberam estreptozotocina (60 mg/kg), diluída em tampão citrato (10 mM, pH 4,5, i.p.). Três dias depois, a glicemia foi medida com um glicosímetro em um pequeno volume de sangue periférico que foi coletado da cauda e ratos com glicemia  $\geq 250$  mg/dL foram considerados diabéticos. Para a indução da dislipidemia, os animais diabéticos receberam dieta padrão enriquecida com 0,5% de colesterol *ad libitum* por 4 semanas<sup>17</sup>. Concomitantemente, os animais foram expostos a nove cigarros comerciais (0,8 mg de nicotina, 10 mg de alcatrão e 10 mg de monóxido de carbono) por 1 h/dia, 5 dias/semana<sup>20</sup>. O experimento durou 4 semanas. Durante as últimas 2 semanas, os animais foram randomizados em diferentes grupos (n = 8/grupo) e tratados por via oral com veículo (água filtrada por gavagem; grupo controle negativo [C-]), três doses de uma fração solúvel em etanol de *B. trimera* (30, 100 e 300 mg/kg por gavagem), ou sinvastatina (2,5 mg/kg, s.c.) mais insulina (6 UI, s.c.; grupo SIM+INS). Também foi incluído um grupo de ratos normoglicêmicos que não foram expostos a dislipidemia ou tabagismo e foram tratados com veículo (grupo basal). Os medicamentos e extrato foram preparados imediatamente antes do uso e administrados uma vez ao dia.

## LAVADO BRONCOALVEOLAR PARA AVALIAÇÃO DE CÉLULAS INFLAMATÓRIAS

Ao final do período experimental de 4 semanas, os ratos foram submetidos a lavagem broncoalveolar para avaliar infiltrados de células inflamatórias nos pulmões. Os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina (80 e 20 mg/kg, i.p., respectivamente). A traqueia foi então exposta e canulada com um cateter nº 22 e injetados 2,5 ml de solução salina. Após massagear o tórax, o fluido foi aspirado pelo cateter. O conteúdo celular foi corado com fluido de Turk e analisado sob um microscópio óptico para contar o número de células inflamatórias no aspirado.

## EUTANÁSIA E COLETA DE TECIDO

Após a lavagem broncoalveolar, os ratos foram eutanasiados por aprofundamento anestésico com isoflurano em câmara de saturação (1-3%). Os pulmões foram coletados e processados para avaliação do sistema antioxidante e análises histopatológicas.

## ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO PULMONAR

Para avaliar o potencial antioxidante de *B. trimera*, homogenizados de pulmão foram analisados para avaliar os níveis de catalase, superóxido dismutase (SOD), lipoperoxidação e glutathiona reduzida (GSH), indicadores do estado redox celular.

As amostras de pulmão foram homogeneizadas e centrifugadas a 13.000 rotações por minuto durante 20 min. A homogeneização foi realizada em gelo e o sobrenadante foi refrigerado a 4°C. Catalase e SOD foram analisadas no sobrenadante de acordo com Aebi<sup>21</sup> e Gao *et al.*<sup>22</sup>, respectivamente. A taxa de lipoperoxidação foi medida pelo método FOX2<sup>23</sup>. Níveis reduzidos de glutathiona foram medidos de acordo com Sedlak e Lindsay<sup>24</sup>.

## ANÁLISES HISTOPATOLÓGICAS PULMONARES

Para as análises histopatológicas, uma amostra do pulmão foi rapidamente colhida e fixada em solução de formalina tamponada a 10%, seccionada (6 µm) e corada com hematoxilina/eosina. As lâminas foram analisadas por microscopia óptica (Leica DM 2500) para avaliar alterações celulares, como congestão, inflamação, infiltrados de células polimorfonucleares, bronquite, espessamento da parede alveolar, presença de conteúdo bronquiolar, broncoconstrição, hiperplasia e antracnose. As análises histopatológicas foram realizadas às cegas por um patologista veterinário. As lesões foram classificadas da seguinte forma: 0 (ausência de lesões), 0,5 (lesões menores),

1 (lesões moderadas), 2 (lesões marcadas) e 3 (lesões maciças).

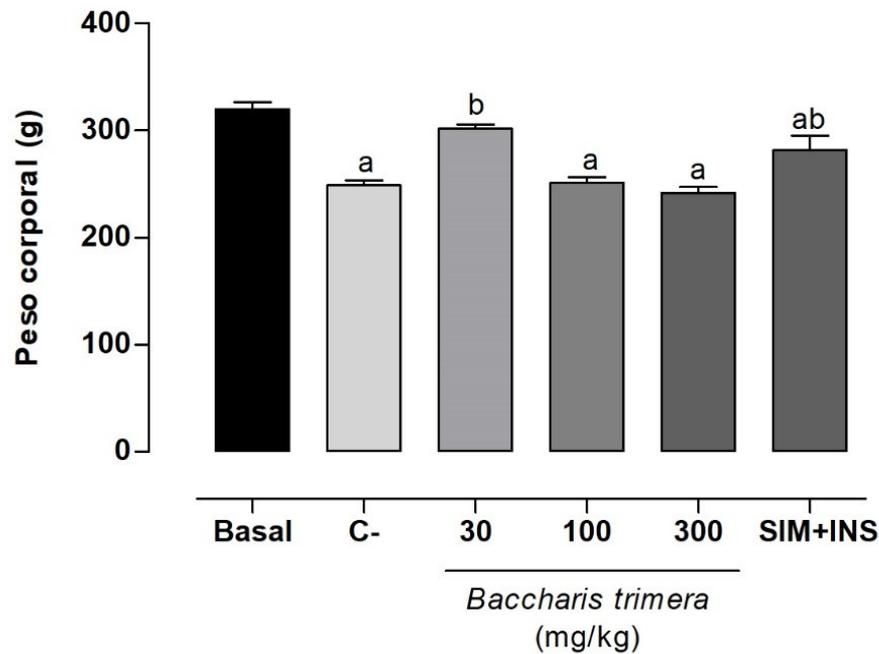
## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram primeiramente avaliados quanto à homogeneidade de variância e distribuição normal. Os dados foram então analisados usando análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Newman-Keuls. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. A análise estatística foi realizada com o software GraphPad Prism 5.0.

## RESULTADOS

### O MODELO EXPERIMENTAL ALTERA O PESO CORPORAL

A combinação de diabetes, dislipidemia e tabagismo reduziu o peso corporal final (Figura 1) no grupo C- ( $248,80 \pm 5,24$  g) em relação ao grupo basal ( $320,00 \pm 6,68$  g). O tratamento com 30 mg/kg de *Baccharis trimera* evitou a perda de peso ( $301,70 \pm 4,00$  g). No entanto, as outras doses de *B. trimera* não influenciaram a perda de peso corporal. O tratamento com SIM+INS induziu um efeito moderado no peso corporal ( $281,80 \pm 13,17$  g).

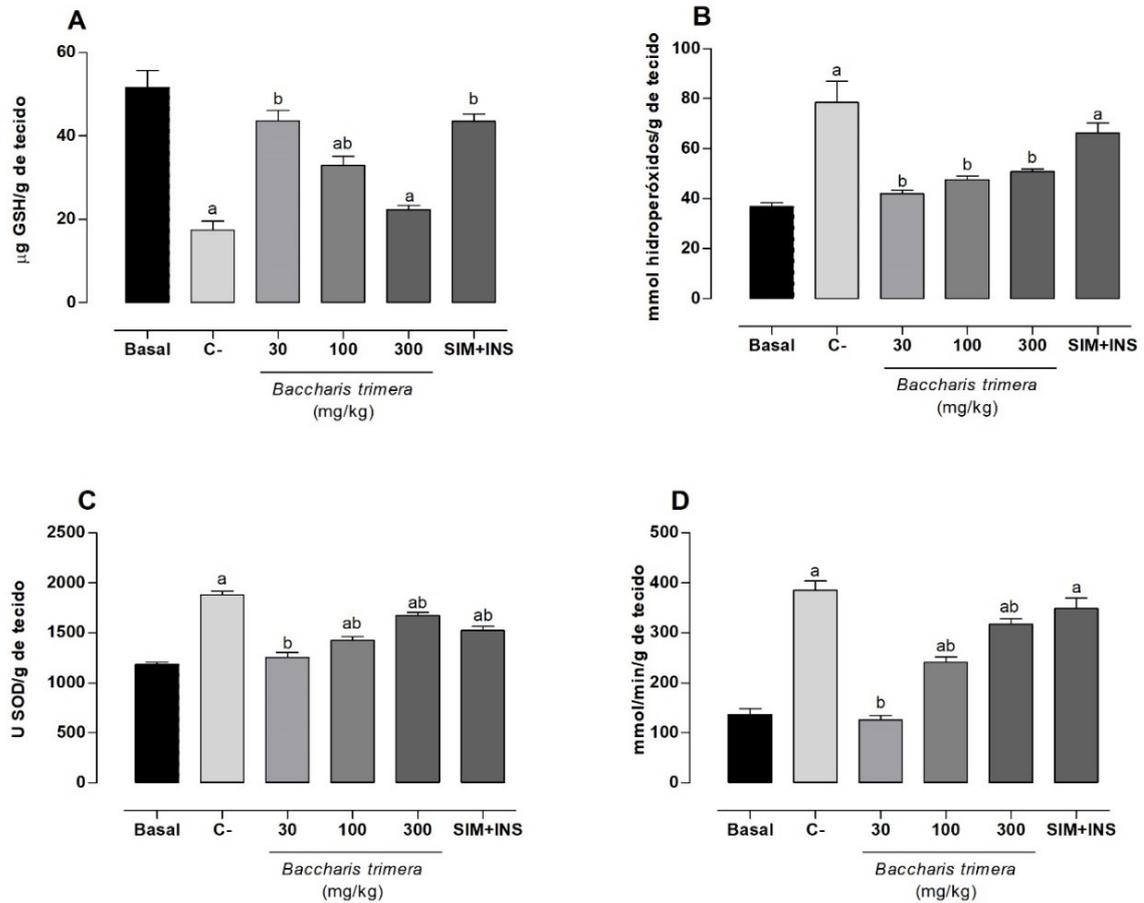


**Figura 1.** Peso corporal de ratos Wistar normoglicêmicos, não dislipidêmicos e não fumantes (grupo basal) e ratos Wistar diabéticos, dislipidêmicos e fumantes que foram tratados com veículo (controle negativo [C-]), *Baccharis trimera* (30, 100 e 300 mg/kg) ou simvastatina + insulina (SIM+INS). Os dados são expressos como média  $\pm$  SEM. <sup>a</sup>p < 0,05, vs. basal; <sup>b</sup>p < 0,05, vs. C- (ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Newman-Keuls).

#### *Baccharis trimera* NORMALIZA O ESTADO REDOX PULMONAR EM RATOS

Os três fatores de risco induziram estresse oxidativo pulmonar em ratos. Uma diminuição nos níveis de GSH ( $17,35 \pm 2,15$   $\mu$ g GSH/g de tecido; Figura 2A) e um aumento nos níveis de lipoperoxidação ( $78,49 \pm 8,50$  mmol hidroperóxidos/min/g de tecido; Figura 2B) foram observados no grupo C- comparado com o grupo basal ( $51,66 \pm 4,10$   $\mu$ g GSH/g de tecido e  $36,79 \pm 1,63$  mmol hidroperóxidos/min/g de tecido, respectivamente). O tratamento com todas as doses de *B. trimera* normalizou os níveis de lipoperoxidação, mas apenas 30 mg/kg de *B. trimera* normalizou os níveis de GSH.

O tratamento com *B. trimera* (30 mg/kg) reverteu os aumentos na atividade da SOD (Figura 2C) e catalase (Figura 2D) que foram observados no grupo C- em comparação com o grupo basal (atividade da SOD:  $1182,00 \pm 26,43$  U SOD/g de tecido; catalase:  $136,90 \pm 10,94$  mmol/min/g de tecido). O tratamento com SIM+INS normalizou os níveis de GSH e reverteu parcialmente a atividade da SOD, mas não reverteu a atividade da lipoperoxidação ou da catalase.

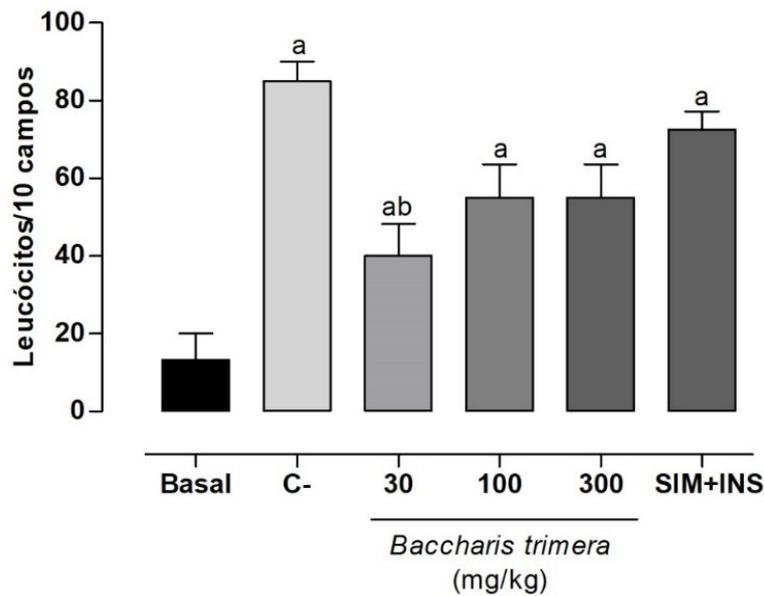


**Figura 2.** Efeitos antioxidantes de *Baccharis trimera*. Níveis pulmonares de (A) glutatona reduzida, (B) lipoperoxidação, (C) superóxido dismutase e (D) catalase em ratos Wistar normoglicêmicos, não dislipidêmicos e não fumantes (grupo basal) e Wistar diabéticos, dislipidêmicos e fumantes ratos que foram tratados com veículo (controle negativo [C-]), *Baccharis trimera* (30, 100 e 300 mg/kg), ou com sinvastatina + insulina (SIM+INS). Os dados são expressos como média  $\pm$  SEM. <sup>a</sup> $p < 0,05$ , vs. basal; <sup>b</sup> $p < 0,05$ , vs. C- (ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Newman-Keuls).

### *Baccharis trimera* PROMOVE EFEITOS ANTIINFLAMATÓRIOS PULMONARES MODERADOS EM RATOS

A presença de leucócitos nos pulmões é mostrada na Figura 3. A combinação de diabetes, tabagismo e dislipidemia induziu uma resposta

inflamatória pulmonar ( $85,00 \pm 5,00$  leucócitos/10 campos) em comparação com o grupo basal ( $13,33 \pm 6,66$  leucócitos/10 campos). O tratamento com *B. trimera* (30 mg/kg) promoveu efeito antiinflamatório pulmonar moderado ( $40 \pm 8,16$  leucócitos/10 campos). Os demais tratamentos não exerceram efeitos antiinflamatórios.

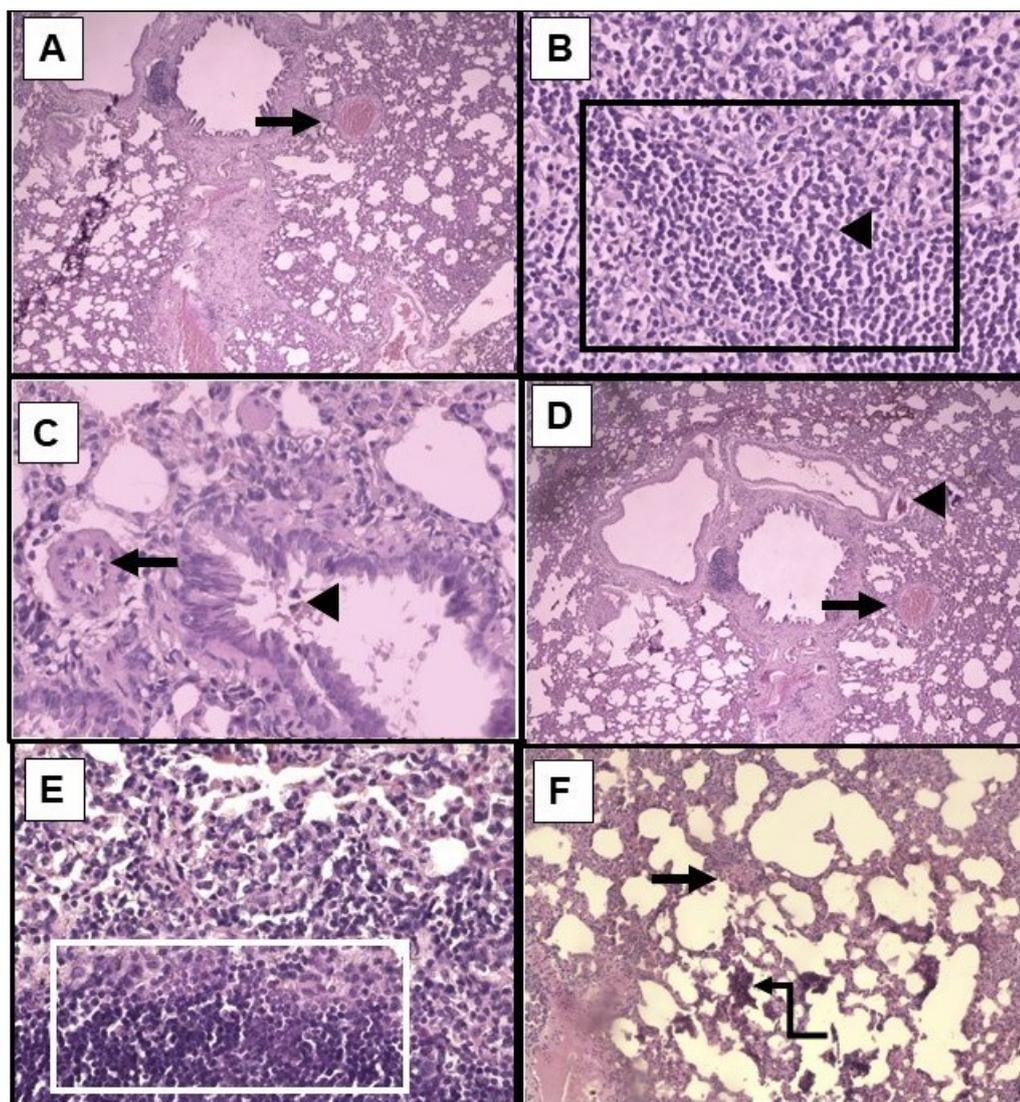


**Figura 3.** Efeitos anti-inflamatórios pulmonares de *Baccharis trimera*. Número de leucócitos encontrados em 10 campos/lâminas de pulmão em ratos Wistar normoglicêmicos, não dislipidêmicos e não fumantes (grupo basal) e ratos Wistar diabéticos, dislipidêmicos e fumantes que foram tratados com veículo (controle negativo [C-]), *Baccharis trimera* (30, 100 e 300 mg/kg), ou com sinvastatina + insulina (SIM+INS). Os dados são expressos como média ± SEM. <sup>a</sup>p < 0,05, vs. basal; <sup>b</sup>p < 0,05, vs. C- (ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Newman-Keuls).

### *Baccharis trimera* REVERTE ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS PULMONARES EM RATOS

Não foram encontradas alterações nos pulmões dos ratos do grupo basal (escore 0; Figura 4A). Diabetes, tabagismo e dislipidemia induziram congestão nos vasos peribrônquicos, inflamação dos bronquíolos, infiltrados de células polimorfonucleares no tecido conjuntivo peribrônquico, bronquite morfonuclear, espessamento da parede alveolar, presença

de conteúdo bronquiolar, broncoconstrição, broncopneumonia focal extensa, hiperplasia linfocítica folicular e antracnose (escore) de 3; Figura 4B). O tratamento com 30 mg/kg de *B. trimera* atenuou essas alterações (escore de 0,5; Figura 4C). As doses de 100 mg/kg (escore de 1; Figura 4D) e 300 mg/kg (escore de 1; Figura 4E) de *B. trimera* foram menos eficazes na reversão dessas alterações. O tratamento com SIM+INS exerceu efeito pneumoprotetor moderado (escore 2; Figura 4F).



**Figura 4.** Análise histopatológica pulmonar. (A) ratos Wistar normoglicêmicos, não dislipidêmicos e não fumantes (grupo basal) e ratos Wistar diabéticos, dislipidêmicos e fumantes que foram tratados com (B) veículo (controle negativo [C-]), (C) 30 mg/kg de *Baccharis trimera*, (D) 100 mg/kg de *Baccharis trimera*, (E) 300 mg/kg de *Baccharis trimera* e (F) sinvastatina + insulina. As setas pretas indicam o congestionamento dos vasos. As pontas de seta mostram células polimorfonucleares. A seta em ângulo indica antracnose. Quadrado preto mostra broncopneumonia extensa. Quadrado branco mostra congestão e hiperplasia folicular de linfócitos. Ampliação de 20x, coloração de hematoxilina/eosina.

Source: Souza *et al.*<sup>17</sup>

## DISCUSSÃO

Modelos animais que incorporam vários fatores de risco simultaneamente são relativamente incomuns. Esses modelos podem imitar melhor a realidade da população atual em comparação com

avaliações de fatores de risco individuais isoladamente. Tais combinações de fatores de risco podem resultar em maior agressividade fisiopatológica por meio de efeitos sinérgicos entre fatores de risco e aceleração da doença. O desenho experimental multifatorial empregado no

presente estudo incluiu três fatores de risco cardiovascular específicos para DPOC: diabetes, dislipidemia e tabagismo. O presente modelo experimental diminuiu o peso corporal, induziu estresse oxidativo pulmonar e desencadeou uma resposta inflamatória no parênquima pulmonar. Segundo Gold<sup>5</sup>, a DPOC é caracterizada por sintomas respiratórios persistentes e limitação de fluxo, que ocorrem por anormalidades alveolares ou de vias aéreas. Geralmente é causado pela exposição a partículas de fumaça ou gases nocivos. Para o diagnóstico de DPOC, a espirometria é obrigatória, o que revela a reversibilidade limitada do fluxo das vias aéreas. A base histopatológica da DPOC é uma resposta inflamatória anormal, que danifica as vias aéreas e desencadeia bronquite, bronquiolite, elevações de polimorfonucleares e fibrose intersticial e peribrônquica, levando ao espessamento da parede alveolar<sup>5</sup>. Todas essas alterações foram observadas nos ratos do presente estudo. No entanto, não podemos diagnosticar especificamente a DPOC nesses ratos porque a espirometria não pode ser realizada. No entanto, nosso modelo imitou de forma confiável a condição humana, causando alterações histopatológicas que são comumente observadas na DPOC humana.

As alterações estruturais e inflamatórias que ocorrem nas vias aéreas durante a DPOC persistem mesmo após a cessação do tabagismo. O aumento do estresse oxidativo e o excesso de proteinases nos pulmões provavelmente são

responsáveis por modificar a inflamação pulmonar, perpetuando o ciclo<sup>25</sup>. No presente estudo, observamos estresse oxidativo nos pulmões, provavelmente responsável pelo quadro inflamatório pulmonar e confirmado pela avaliação histopatológica. O tratamento com *B. trimera* reverteu efetivamente o estresse oxidativo e, portanto, a inflamação na dose de 30 mg/kg, indicando a reversão das alterações histopatológicas causadas pelos três fatores de risco.

Kozma *et al.*<sup>20</sup> relataram que 8-36 semanas (média: 6 meses) de exposição à fumaça do cigarro são necessárias para induzir enfisema em ratos Wistar. O presente estudo expôs os ratos à fumaça de cigarro por 4 semanas, e a avaliação celular pulmonar mostrou inflamação significativa. Pode-se inferir um efeito potencializador entre os múltiplos fatores de risco, que difere da simples soma dos efeitos isolados dos fatores de risco individuais isoladamente. Também se analisou a perda de peso durante o processo sistêmico de inflamação pulmonar. Mediadores inflamatórios na circulação sanguínea em pacientes com DPOC podem contribuir para a perda de músculo esquelético, justificando assim a perda de peso que foi observada nos animais. No entanto, um possível efeito na perda de peso atribuído popularmente à *B. trimera* não foi comprovado no presente estudo, pois a dose de 30 mg/kg preservou o peso corporal dos animais.

Souza *et al.*<sup>17</sup> empregaram o mesmo modelo multifatorial que foi utilizado no

presente estudo para investigar a aterogênese, que é um agravamento das variáveis hemodinâmicas que causa disfunção endotelial, espessamento da aorta abdominal e presença de hiperatividade vascular mesentérica. Além disso, esses autores descreveram importantes alterações dos estados redox cardíacos e renais, refletidos pelo aumento dos níveis de lipoperoxidação e diminuição dos níveis de GSH e da atividade da SOD. No presente estudo, observamos essas alterações em nível pulmonar e o tratamento com *B. trimera* (30 mg/kg) reverteu essas alterações, enquanto as outras doses de *B. trimera* não foram efetivas. Notavelmente, semelhante a Souza *et al.*<sup>17</sup>, a dose mais eficaz de *B. trimera* foi a menor (30 mg/kg), que teve melhores efeitos antiinflamatórios do que até mesmo o tratamento convencional. A dose mais baixa de *B. trimera* também exerceu os efeitos antioxidantes mais eficazes. Embora todas as doses tenham diminuído a lipoperoxidação, apenas a dose mais baixa normalizou os níveis de GSH e reverteu o aumento da atividade da SOD e da catalase. O tratamento com insulina mais sinvastatina normalizou os níveis de GSH, mas reverteu apenas parcialmente a atividade da SOD, demonstrando novamente a superioridade desta dose de *B. trimera* sobre as outras doses e o tratamento convencional. Os efeitos antioxidantes e antiinflamatórios de *B. trimera* podem explicar a melhora da inflamação pulmonar, refletida pela reversão do quadro histopatológico, reversão do estresse

oxidativo, diminuição da peroxidação lipídica e normalização de GSH e SOD. O efeito antioxidante de *B. trimera* ocorre através de sua capacidade de eliminação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e aumento da atividade do sistema antioxidante<sup>10,14-18</sup>.

De acordo com Arnett *et al.*<sup>26</sup>, populações empobrecidas têm acesso limitado a estilos de vida saudáveis e apresentam alta prevalência de tabagismo, o que predispõe ao desenvolvimento de DPOC. Pacientes com DPOC também apresentam prevalência aumentada de fatores de risco clássicos para doenças cardiovasculares, como dislipidemia, diabetes e hipertensão arterial sistêmica<sup>27</sup>. A coexistência de DPOC e doença cardiovascular tem importante impacto nos desfechos clínicos, pois em pacientes com DPOC leve e moderada, as causas mais frequentes de morte são câncer e doença cardiovascular, enquanto naqueles com DPOC grave a principal causa de morte é a doença respiratória<sup>6</sup>. De fato, em pacientes com DPOC, as doenças cardiovasculares são responsáveis por aproximadamente 50% de todas as internações e 20% de todas as mortes, ressaltando a inter-relação entre DPOC e doenças cardiovasculares<sup>8</sup>.

Devido à alta prevalência de doenças e fatores de risco relacionados ao sistema cardiovascular e respiratório, estudos científicos que avaliem meios alternativos de tratamento devem ser considerados para desenvolver medicamentos mais eficazes, baratos e com menor incidência de efeitos adversos. Os

efeitos farmacológicos de *B. trimera*, a rusticidade e facilidade de obtenção da sua biomassa associados ao seu potencial medicinal, além de ser uma das 71 plantas listadas na Lista Nacional de Plantas Medicinais de interesse do Sistema Único de Saúde do Brasil, tornam a carqueja um possível agente farmacológico pneumoprotetor, com atenção especial às doenças desencadeadas pela associação de dislipidemia, diabetes e tabagismo, visto que há poucos estudos correlacionando-os. Considerando a importante atividade pneumoprotetora da *B. trimera* e os baixos custos de produção e fácil acessibilidade da planta medicinal, os resultados presentes apoiam o uso terapêutico da *B. trimera* como tratamento adjuvante e/ou preventivo da DPOC, especialmente condições associadas a múltiplas doenças cardiovasculares fatores de risco.

## CONCLUSÃO

A combinação de diabetes mellitus, dislipidemia e tabagismo induziu estresse oxidativo, inflamação e alterações nas células pulmonares em ratos. O tratamento com *Baccharis trimera* (30 mg/kg) reverteu parcialmente a inflamação e reverteu completamente as alterações celulares e oxidativas, demonstrando assim suas ações pneumoprotetoras. Mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos pelos quais *B. trimera* exerce esses efeitos benéficos.

## CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram que não há conflitos de interesse nesta pesquisa.

## FINANCIAMENTO

Esta pesquisa foi apoiada por bolsas da Coordenadoria de Pós-Graduação (COPG, UNIPAR, Brasil), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação Araucária, Paraná/SETI (Brasil, CP 20/2018, 014/2020).

## REFERÊNCIAS

1. Agustí A, Hogg JC. Update on the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2019;381:1248–56.
2. Barnes PJ, Stockey RA. COPD: current therapeutic interventions and future approaches. *Eur Resp J*. 2005;25:1084-1106.
3. Barnes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. *Eur Resp J*. 2009;33:1165-85.
4. Lucas-Ramos P, Izquierdo-Alonso JL, Moro JMRG, Bellón-Cano JM, Ancochea-Bermúdez J, Calle-Rubio M, *et al*. Cardiovascular risk factors in chronic obstructive pulmonary disease: results of the ARCE study. *Arch Bronconeumol*. 2008;5:233-8.
5. Gold 2020. REPORT 2019. Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: 1–141.
6. Feary JR, Rodrigues LC, Smith CJ, Hubbard RB, Gibson JE. Prevalence

- of major comorbidities in subjects with COPD and incidence of myocardial infarction and stroke: a comprehensive analysis using data from primary care. *Thorax*. 2010;65:956-62.
7. Donaldson GC, Hurst JR, Smith CJ, Hubbard RB, Wedzicha JA. Increased risk of myocardial infarction and stroke following exacerbation of COPD. *Chest*. 2010;137:1091-97.
  8. Sin DD, Man SF. Impact of cancers and cardiovascular disease in chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin in Pulm Med*. 2008;14: 115-21.
  9. Correa MP. Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional; 1978. 74 p.
  10. Rabelo ACS, Costa DC. A review of biological and pharmacological activities of *Baccharis trimera*. *Chem Biol Interac*. 2018;296:65–75.
  11. Alonso JR. 1998. Tratado de Fitomedicina - bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires, Argentina: ISIS Ediciones SRL; 1998. 354 p.
  12. Verdi LG, Brighente IMC, Pizzolati MG. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Quim Nova*. 2005;28:85-94.
  13. Feijó AM, Bueno MEN, Ceolin T, Linck CL, Schwartz E, Lange C, *et al*. Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. *Rev Bras Plantas Med*. 2012;14:50-56.
  14. Livero FAR, Martins GG, Queiroz Telles JE, Beltrame OC, Petris Biscaia SM, Cavicchiolo Franco CR, *et al*. 2016. Hydroethanolic extract of *Baccharis trimera* ameliorates alcoholic fatty liver disease in mice. *Chem Biol Interac*. 2016;260:22–32.
  15. Livero FAR, Silva LM, Ferreira DM, Galuppo LF, Borato DG, Prando TBL, *et al*. *Baccharis trimera* hydroethanolic extract promotes gastroprotection and healing of gastric lesions induced by acute and chronic ethanol consumption. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2016;2016:1-16.
  16. Barbosa RJ, Silva GR, Cola IM, Kuchler JC, Coelho N, Barboza LN, *et al*. Promising therapeutic use of *Baccharis trimera* (Less.) DC. as a natural hepatoprotective agent against hepatic lesions that are caused by multiple risk factors. *J Ethnopharmacol*. 2020;254:112729.
  17. Souza MMQ, Silva GR, Cola IM, Silva AO, Schaedler MI, Guarnier LP, *et al*. *Baccharis trimera* (Less.) DC: an innovative cardioprotective herbal medicine against multiple risk factors for cardiovascular disease. *J Med Food*. 2020;23:676-684.
  18. Mendes TC, Silva GR, Silva AO, Schaedler MI, Guarnier LP, Palozzi RA, *et al*. Hepato-and cardioprotective effects of *Baccharis trimera* (Less.) DC. against multiple risk factors for chronic noncommunicable diseases. *An Acad Bras Cienc*. 2021;93:e20200899.
  19. Sert NP, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, *et al*. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2020;18:7.
  20. Kozma RLH, Alves EM, Barbosa-Oliveira VA, Lopes FDTQ, Guardia RC, Buzo HV, *et al*. A new experimental model of cigarette smoke-induced emphysema in Wistar rats. *J Bras Pneumol*. 2014;40:46-54.

21. Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. In: Methods Enzymol. Academic Press. p. 121-6.
22. Gao R, Yuan Z, Zhao Z, Gaob X. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination os superoxide dismutase enzyme activity. Bioelectrochem Bioenerg. 1998;45:41-5.
23. Jiang ZY, Hunt JV, Wolff SP. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. Anal Biochem. 1992;202:384-9.
24. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal Biochem. 1968;25:192-205.
25. Niemann B, Rohrbach S, Miller MR, Newby DE, Fuster V, Kovacic JC. Oxidative Stress and Obesity, Diabetes, Smoking and Pollution: Part 3 of a 3-Part Series. J Am Coll Cardiol. 2017; 70: 230-51.
26. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, *et al.* ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. JACC. 2019;74:e177–e 232.
27. Lucas-Ramos P, Izquierdo-Alonso JL, Moro JMRG, Bellón-Cano JM, Ancochea-Bermúdez J, Calle-Rubio M, *et al.* Cardiovascular risk factors in chronic obstructive pulmonary disease: results of the ARCE study. Arch Bronconeumol. 2008;5:233-8.