

CARMELO SILVEIRA CARNEIRO LEÃO FILHO

PRÉ-CONDICIONAMENTO COM TERNATINA NO INFARTO DO  
MIOCÁRDIO INDUZIDO POR ISOPROTERENOL EM RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. José Glauco Lobo Filho

FORTALEZA  
2011

L p Leão Filho, Carmelo Silveira Carneiro

Pré-condicionamento com ternatina no infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos / Carmelo Silveira Carneiro Leão Filho. – Fortaleza-Ce, 2011.

f.: il

Orientador: Prof. Dr. José Glauco Lobo Filho.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.

Programa de Pós-Graduação em Cirurgia.

1. Infarto agudo do miocárdio. 2. Isoproterenol. 3. Ternatina. 4. Estresse oxidativo. I Lobo Filho, José Glauco. (Orient) II. Título

CDD:

CARMELO SILVEIRA CARNEIRO LEÃO FILHO

PRÉ-CONDICIONAMENTO COM TERNATINA NO INFARTO DO  
MIOCÁRDIO INDUZIDO POR ISOPROTERENOL EM RATOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia.

**Aprovada em: 14/09/2011**

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Doutor José Glauco Lobo Filho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Doutor Manoel Odorico de Moraes Filho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Doutor Mohammed Saad Lahlou  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A meus pais, Carmelo e Regina, que com seu amor permitiram minha existência. Com minha mãe, já falecida, convivi muito pouco, mas aprendi com meus avós que ela sempre foi muito estudiosa e lutadora, sendo um estímulo para mim. Meu pai, ser humano ímpar, soube ser pai e mãe além de um grande amigo, que apesar de não expressar muito por palavras seus sentimentos, por atitudes sempre deixou a vista todo seu amor.

A minha esposa, Paulinha. Seu amor me trouxe ao Ceará. Paulinha, obrigado por estar sempre presente em todos os momentos da minha vida, me incentivando e apoiando e pela compreensão pelas horas ausentes na realização desta pesquisa.

A meus filhos, Carmelinho e Camilinha. Com eles aprendi o que é o amor incondicional. Sei que poderia passar muito mais tempo com eles, mas o meu compromisso com aqueles que sofrem me afasta um pouco, espero que compreendam. A vocês, meus filhos, dedico este trabalho.

A minha avó Zezé que em momentos turbulentos de minha infância foi sempre meu porto seguro.

A Dona Islan que desde que eu vim morar no Ceará, me trata melhor que seus próprios filhos e Seu Leitão o homem mais sensível e bom que já conheci.

Aos meus irmãos Ricardo, Guilherme e Eduardo, meus companheiros de primeira hora e muito queridos, unidos pelo laço familiar, mas sobretudo pela amizade. No parágrafo dedicado aos irmãos, incluo minha cunhada Cláudia, amiga e incentivadora, uma grande irmã.

Aos meus mestres, aqui representados pelo Professor Saad e Professor Glauco. Saad é um pesquisador nato, muito dedicado e paciente com seus alunos. Professor Glauco, o maior cirurgião que vi operar, nele me inspiro nos momentos mais delicados e tensos de uma cirurgia, lembrando de uma frase: coragem, vai dar certo.

Aos meus amigos do peito, representados aqui por Gulherme Lima, José Bezerra, Aloísio Rosado e José Teixeira. Mesmo distantes, cada um construindo sua caminhada em diferentes cidades, estamos unidos pelo laço da amizade verdadeira, que independe da distância ou do tempo.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. JOSÉ GLAUCO LOBO FILHO, Professor Adjunto do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Membro Titular da Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular, pelo incentivo e orientação em todas as etapas da elaboração da dissertação.

Ao Prof. Dr. PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS, Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Coordenador do Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela dedicação nas suas atividades neste programa e pelo apoio e incentivo para elaboração desta dissertação.

Ao Prof. Dr. MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO, Professor Associado das disciplinas de Farmacologia Clínica e Oncologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio e incentivo para elaboração desta dissertação.

Ao Prof. Dr. JOSÉ TELMO VALENÇA JUNIOR, Professor Associado de Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela presteza, competência e agilidade no preparo e leitura dos estudos histopatológicos realizados neste trabalho.

Ao Laboratório de Neurofarmacologia do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará nas pessoas das Profas. Dras. GLAUCE BARROS VIANA e CLÉA FLORENÇO, farmacêutico FRANCISCO ARNALDO VIANA LIMA e mestrandas em farmacologia ALYNE MARA RODRIGUES DE CARVALHO, pela realização do exame de atividade de catalase.

Ao Dr. HERALDO GUEDIS LOBO FILHO, Cirurgião Cardiovascular e Mestre em Cirurgia pela UFC, grande amigo, obrigado pela ajuda imensurável em todas as etapas desta pesquisa.

Ao farmacêutico HEITOR RIBEIRO FILHO, diretor do Laboratório de Análises Clínicas Evandro Chagas, pela realização de todos os exames séricos desta pesquisa. Agradeço ainda pela forma acolhedora e amigável com a qual fui recebido em seu local de trabalho.

Ao químico CLÁUDIO COSTA DOS SANTOS, da Unidade de Farmacologia Clínica da UFC, pelo preparo das soluções de DMSO e ternatina utilizadas nesse estudo.

Ao Funcionário da Universidade Federal do Ceará Sr. BENTO FRANCISCO DE OLIVEIRA, pela colaboração insubstituível para os cuidados com os animais envolvidos na pesquisa, bem como com o Laboratório de Cirurgia Experimental.

Ao Médico Dr. EDUARDO REBOUÇAS DE CARVALHO, um colega e colaborador incansável em atividades de estudo e pesquisa, pela ajuda no tratamento estatístico deste trabalho.

Aos Estudantes de Medicina da Universidade Federal do Ceará NESTOR LEMOS FERREIRA, RAFAEL BEZERRA DE SOUZA e YILON LIMA CHENG, pela ajuda, motivação e injeções de esperança constantes em toda a evolução desta pesquisa.

Às Secretárias do Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA E MAGDA MARIA GOMES FONTENELE, Secretárias do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará ADELÂNIA ROQUE MARINHO E SHEYLA PRADO DOS SANTOS e a Técnica de Laboratório, também deste Departamento, SILVANA FREIRE DE FRANÇA, por auxílios fundamentais à efetivação desta pesquisa.

*“A coragem é a primeira das virtudes porque garante todas as outras”*

*“O prazer no trabalho aperfeiçoa a obra”*

*Aristóteles*

*(384 a.C-322 a.C.)*

## RESUMO

**PRÉ-CONDICIONAMENTO COM TERNATINA NO INFARTO DO MIOCÁRDIO INDUZIDO POR ISOPROTERENOL EM RATOS.** CARMELO SILVEIRA CARNEIRO LEÃO FILHO. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia. Universidade Federal do Ceará. Orientador: Professor Doutor José Glauco Lobo Filho

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma das principais causas de morte em nosso país. Com o envelhecimento da população a tendência é que se aumente a incidência desta afecção. Para se estudar efeitos de drogas sobre a lesão miocárdica decorrente de IAM, um dos modelos experimentais mais utilizados é a indução de infarto do miocárdio (IM) com administração de isoproterenol em ratos, uma vez que esta substância causa uma lesão miocárdica semelhante à observada em IAM nos humanos. Nesse estudo o pré-condicionamento com ternatina administrada por via intraperitoneal, na dose de 1 mg/kg do animal, por catorze dias consecutivos, foi avaliado no IM induzido por isoproterenol (120 mg/kg do animal) em ratos Wistar. A lesão miocárdica induzida pelo isoproterenol foi indicada pela elevação de marcadores bioquímicos, como transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e troponina I, redução da atividade da enzima catalase no tecido miocárdico, bem como por alterações histopatológicas avaliadas na região do ápice do ventrículo esquerdo. Avaliou-se ainda a mortalidade, as concentrações séricas de transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), hemoglobina, contagem de leucócitos e neutrófilos e marcadores da função renal. O pré-tratamento com ternatina apresentou efeitos protetores no infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos, uma vez que diminuiu a taxa de mortalidade, atenuou as elevações de TGO e troponina I; preservou a atividade da enzima catalase e reduziu o grau de alterações histopatológicas. Possíveis mecanismos de ação responsáveis pelos efeitos benéficos em reduzir o grau de lesão miocárdica neste modelo experimental podem estar relacionados a propriedades antioxidantes da ternatina.

Palavras-chave: infarto do miocárdio, isoproterenol, ternatina.



## **ABSTRACT**

**PRECONDITIONING WITH TERNATINA ON MYOCARDIAL INFARCTION INDUCED BY ISOPROTERENOL IN RATS.** CARMELO SILVEIRA CARNEIRO LEÃO FILHO. Dissertation (Master's degree). Post-Graduation Program (*Stricto Sensu*) in Surgery. Federal University of Ceará. Supervisor: Professor Doctor José Glauco Lobo Filho.

Acute myocardial infarction (AMI) is one of the most common causes of death in our country. As population ages, such illness have its prevalence rates increased. In order to analyse drug effects over myocardial lesions as a result of AMI, the myocardial infarction induction model by means of the administration of isoproterenol in rats is one of the most used at all, given the capability of that substance of mimicking the myocardial injury observed in humans. In the present study, preconditioning with intra-peritoneal ternatin, at a dose of 1 mg/kg was used. Fourteen consecutive days were assessed in the isoproterenol-induced MI (120 mg/kg) in Wistar rats. Myocardial lesions induced by isoproterenol was indicated by the rise in biochemical markers levels, such as SGOT (serum glutamic oxaloacetic transaminase) and troponin I, reduction in the activity of catalase enzyme in the myocardial tissue, as well as by histopathological changes assessed in the apex of the left ventricle. It was also evaluated mortality rates, hemoglobin and SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase) serum concentrations, leukocytes, neutrophils counts and renal function. Preconditioning with ternatin unveiled protective effects within the myocardial infarction induced by isoproterenol in rats, once it diminished mortality rates, attenuated SGOT and troponin I concentrations, preserved catalase levels in the myocardium and diminished histopathological changes in the apex of the left ventricle Possible pathways accountable for such good results, reducing the degree of myocardial injury in this experimental essay, might be related to the antioxidant properties attributable to ternatin.

Key words: myocardial infarction, isoproterenol, ternatin.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Estrutura molecular do isoproterenol.....	20
FIGURA 2. Estrutura básica dos flavonóides.....	23
FIGURA 3. Administração intraperitoneal das drogas anestésicas.....	33
FIGURA 4. Dissecção da aorta abdominal.....	36
FIGURA 5. Punção da aorta abdominal com jelco.....	37
FIGURA 6. Coleta da amostra de sangue no interior da seringa.....	37
FIGURA 7. Armazenamento da amostra de sangue em frascos específicos.....	38
FIGURA 8. Estudo histopatológico demonstrando tecido miocárdico com ausência de alterações histológicas (Grau 0).....	39
FIGURA 9. Estudo histopatológico demonstrando tecido miocárdico com alterações histológicas leves (Grau 1).....	40
FIGURA 10. Estudo histopatológico demonstrando tecido miocárdico com alterações histológicas moderadas (Grau 2).....	40
FIGURA 11. Estudo histopatológico demonstrando alterações histológicas acentuadas (Grau 3).....	41
FIGURA 12. Concentrações séricas de TGO nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	43
FIGURA 13. Concentrações séricas de TGP nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	44
FIGURA 14. Concentrações séricas de troponina I nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	44
FIGURA 15. Concentrações séricas de hemoglobina nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	45
FIGURA 16. Contagens de leucócitos nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	45
FIGURA 17. Contagens de neutrófilos nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	46
FIGURA 18. Concentrações séricas de uréia nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	46
FIGURA 19. Concentrações séricas de creatinina nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	47

FIGURA 20. Atividades da enzima catalase no tecido miocárdico nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.....	47
FIGURA 21. Concentrações séricas de TGO nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	49
FIGURA 22. Concentrações séricas de TGP nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	50
FIGURA 23. Concentrações séricas de troponina I nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	50
FIGURA 24. Concentrações séricas de hemoglobina nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	51
FIGURA 25. Contagens de leucócitos nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	51
FIGURA 26. Contagens de neutrófilos nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	52
FIGURA 27. Concentrações séricas de uréia nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	52
FIGURA 28. Concentrações séricas de creatinina nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	53
FIGURA 29. Atividades da enzima catalase no tecido miocárdico nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.....	53
FIGURA 30. Concentrações séricas de TGO nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	55
FIGURA 31. Concentrações séricas de TGP nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	56
FIGURA 32. Concentrações séricas de troponina I nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	56
FIGURA 33. Concentrações séricas de hemoglobina nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	57
FIGURA 34. Contagens de leucócitos nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	57
FIGURA 35. Contagens de neutrófilos nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	58
FIGURA 36. Concentrações séricas de uréia nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	58

FIGURA 37. Concentrações séricas de creatinina nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	59
FIGURA 38. Atividades da enzima catalase no tecido miocárdico nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....	59

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1. Comparação entre os grupos SIMULADO e INFARTO quanto ao grau histológico de lesão miocárdica.....	48
TABELA 2. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e DMSO quanto ao grau histológico de lesão miocárdica.....	54
TABELA 3. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA quanto ao grau histológico de lesão miocárdica.....	60

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CK	Creatinoquinase
CK-MB	Creatinoquinase fração MB
CT	Colesterol total
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
GPx	Glutathiona peroxidase
GR	Glutathiona redutase
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IM	Infarto do miocárdio
LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Radical superóxido
OH <sup>-</sup>	Radical hidroxila
RO	Radical alcoxila
SOD	Superóxido dismutase
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
UV	Ultravioleta

# SUMÁRIO

## RESUMO

## ABSTRACT

## LISTA DE FIGURAS

## LISTA DE TABELAS

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>1.1 Infarto agudo do miocárdio</b> .....	<b>17</b>
<b>1.2. Bases celulares e moleculares da injúria miocárdica isquêmica</b> .....	<b>18</b>
<b>1.3. Marcadores séricos de injúria miocárdica</b> .....	<b>19</b>
<b>1.4. Modelo experimental de infarto agudo do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos</b> .....	<b>20</b>
<b>1.5. Os Flavonóides</b> .....	<b>22</b>
<b>1.6. <i>Egletes viscosa</i></b> .....	<b>25</b>
<b>1.7. Ternatina</b> .....	<b>27</b>
<b>1.8. Dimetilsulfóxido (DMSO)</b> .....	<b>28</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>29</b>
<b>2.1. Geral</b> .....	<b>29</b>
<b>2.2. Específicos</b> .....	<b>29</b>
<b>3. MÉTODO</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1. Aspectos éticos</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2. Amostra</b> .....	<b>30</b>
<b>3.3. Ambiente de experimentação</b> .....	<b>30</b>
<b>3.4. Delineamento do Estudo</b> .....	<b>31</b>
3.4.1. Distribuição dos grupos .....	31
3.4.2. Procedimento anestésico .....	32
3.4.3. Indução do infarto do miocárdio com isoproterenol .....	33
3.4.4. Preparo e administração das drogas utilizadas .....	34
3.4.5. Obtenção das amostras .....	35
<b>3.5 Exames bioquímicos</b> .....	<b>38</b>
<b>3.6 Avaliação histopatológica</b> .....	<b>39</b>
<b>3.7 Avaliação da atividade da enzima catalase no miocárdio</b> .....	<b>41</b>
<b>3.8 Análise estatística</b> .....	<b>41</b>
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
<b>4.1. Validação do modelo de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos</b> .....	<b>43</b>
4.1.1. Mortalidade .....	43
4.1.2. Concentrações séricas de TGO e TGP .....	43
4.1.3. Concentrações séricas de troponina I .....	44
4.1.4. Concentrações séricas de hemoglobina .....	45
4.1.5. Contagens de leucócitos e neutrófilos no sangue .....	45
4.1.6. Concentrações séricas de uréia e creatinina.....	46
4.1.7. Atividade da enzima catalase no tecido miocárdico.....	47
4.1.8. Alterações histopatológicas no miocárdio .....	48
<b>4.2. Efeito do uso do pré-condicionamento com DMSO em ratos infartados. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e DMSO</b> .....	<b>49</b>
4.2.1. Mortalidade .....	49
4.2.2. Concentrações séricas de TGO e TGP .....	49

4.2.3. Concentrações séricas de troponina I .....	50
4.2.4. Concentrações séricas de hemoglobina .....	51
4.2.5. Contagens de leucócitos e neutrófilos no sangue .....	51
4.2.6. Concentrações séricas de uréia e creatinina.....	52
4.2.7. Atividade da enzima catalase no tecido tecido miocárdico.....	53
4.2.8. Alterações histopatológicas no miocárdio .....	54
<b>4.3. Efeito do pré-condicionamento com ternatina e DMSO em ratos infartados. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.....</b>	<b>55</b>
4.3.1. Mortalidade .....	55
4.3.2. Concentrações séricas de TGO e TGP .....	55
4.3.3. Concentrações séricas de troponina I .....	56
4.3.4. Concentrações séricas de hemoglobina .....	57
4.3.5. Contagens de leucócitos e neutrófilos no sangue .....	57
4.3.6. Concentrações séricas de uréia e creatinina .....	58
4.3.7. Atividade da enzima catalase no tecido miocárdico .....	59
4.3.8. Alterações histopatológicas no miocárdio .....	60
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>68</b>
<b>7. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>69</b>



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Infarto Agudo do Miocárdio

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é a morte da célula cardíaca decorrente da inadequada relação entre a oferta e a demanda de oxigênio. A principal causa de infarto é a aterosclerose coronariana. Há um acúmulo de lipídeos em macrófagos no interior da camada íntima, formando inicialmente estrias gordurosas. Com o envelhecimento e exposição a fatores pró-ateroscleróticos, tais como, dislipidemia, fumo, diabetes melitus e hipertensão, ocorre progressão da lesão, com formação de placas de lipídeos entre as camadas íntima e média. Além de gordura, o interior das placas ateroscleróticas contém elementos de tecido conjuntivo produzidos por células musculares lisas que passam a ter função secretora. O núcleo da placa é extremamente trombogênico e existe uma capa fibrosa que evita o contato do sangue com os elementos do núcleo (SCHOEN, 2000).

Quando ocorrem alterações súbitas na placa aterosclerótica, tais como hemorragia, ruptura da capa fibrótica e exposição de elementos trombogênicos do interior da placa, há trombose aguda da artéria coronária e isquemia acentuada dos cardiomiócitos. Quanto maior o grau de estenose de uma placa, maior o risco de complicação, entretanto placas não tão estenóticas podem complicar, devido principalmente a perda da capa fibrótica protetora. Reação inflamatória na placa está relacionada à instabilidade da mesma. Estados pós-operatórios são conhecidos por exacerbar a atividade inflamatória, o que poderia explicar o aumento da incidência de IAM no pós-operatório de grandes cirurgias (ANDERSON, 2008).

Cirurgias cardíacas estão relacionadas à ocorrência potencial de injúria miocárdica, seja por parada do coração em cirurgias valvares e revascularização do miocárdio (RM) com circulação extracorpórea (CEC), seja por isquemia regional em casos de cirurgia de RM sem CEC (BULKLEY; HUTCHINS, 1977; SOLTOSKI *et al.*, 2000). Além disso, a principal causa de morte após cirurgias vasculares arteriais, como correção de aneurismas, disseções e revascularizações de membros inferiores, é o infarto do miocárdio, em virtude de, tais procedimentos, serem realizados em pacientes de idade avançada, portadores também de aterosclerose coronariana (BECKER; BONAMIGO; FACCINI, 2002).

## 1.2. Bases celulares e moleculares da injúria miocárdica isquêmica

A injúria miocárdica isquêmica ocorre quando a perfusão coronariana é inadequada para suprir as demandas metabólicas teciduais. É mais frequentemente causada por obstrução ou estreitamento coronariano secundário a aterosclerose, trombose ou espasmo (SCHOEN, 2000).

Em virtude do importante déficit de perfusão de sangue oxigenado, ocorre desvio do metabolismo aeróbico para o anaeróbico com conseqüente redução de produção de ATP. Quando ocorre consumo dos estoques de ATP e creatino-fosfato, inúmeras alterações intracelulares ocorrem, dentre as quais os distúrbios da homeostase iônica celular, que se processam precocemente (DE GROOT; RAUEN, 2007). Com um substancial declínio das concentrações de ATP, e conseqüente redução da atividade da bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, há resultante aumento da concentração de  $\text{Na}^+$  intracelular e do efluxo de  $\text{K}^+$  para o meio extracelular (BUJA, 2005). O influxo de  $\text{Na}^+$  é acompanhado por  $\text{Cl}^-$  e, conseqüentemente, por ganho isosmótico de água, o que resulta em edema celular. A acentuada concentração de  $\text{Na}^+$  intracelular causa mudança na atividade normal do trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$  que, ao invés de propiciar influxo de  $\text{Na}^+$  e efluxo de  $\text{Ca}^{++}$ , passa a agir de forma inversa, aumentando a concentração de  $\text{Ca}^{++}$  intracelular (DONG *et al.*, 2006; FIOLET; BAARTSCHEER, 2000).

O  $\text{Ca}^{++}$  exerce importantes funções no desenvolvimento da lesão celular, como ativação de fosfolipases, principalmente fosfolipase A2, proteases, endonucleases, ATPases e dano mitocondrial, resultando em queda mais acentuada da produção energética, além da liberação de proteínas pró-apoptóticas aprisionadas entre as membranas mitocôndriais externa e interna (FIOLET; BAARTSCHEER, 2000; DONG *et al.*, 2006; DE GROOT; RAUEN, 2007).

Durante a reperfusão acentua-se a sobrecarga intracelular de cálcio. Em associação aos níveis elevados de  $\text{Ca}^{++}$  intracelular, ocorre aumento importante na produção de radicais livres de oxigênio devido à reperfusão com sangue oxigenado. Radicais livres como superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ) e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), extremamente reativos, estão associados à lesão de componentes celulares de maneira indistinta, potencializando as lesões celulares induzidas pela isquemia. As conseqüências clínicas variam desde disfunção miocárdica reversível até necrose miocárdica (BUJA, 2005).

### 1.3. Marcadores séricos de injúria miocárdica

O primeiro marcador de injúria miocárdica utilizado na prática clínica foi a enzima transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), que se eleva algumas horas até 15 dias após um IAM. O pico é após 2 ou 3 dias, com retorno aos níveis normais em um período de sete dias (LADUE *et al.*, 1954).

A creatinoquinase (CK) é uma enzima que se encontra altamente concentrada no cérebro, no miocárdio e no músculo esquelético. É composta de dois dímeros, denominados M e B. A isoenzima CK-MM origina-se predominantemente do músculo esquelético, a CK-BB origina-se do cérebro, dos pulmões e de muitos outros tecidos, e a CK-MB origina-se principalmente do miocárdio, embora quantidades variáveis possam ser encontradas no músculo esquelético. A atividade total da CK começa a aumentar dentro de duas a quatro horas após o início do IAM, atinge um pico em cerca de 24 horas e normaliza-se dentro de, aproximadamente, 72 horas. O pico é acelerado em pacientes que apresentaram reperfusão. A atividade total da CK é sensível, porém não é específica visto que a enzima também está elevada em outras condições, como lesão do músculo esquelético. A especificidade é aumentada por meio da determinação da fração CK-MB. A CK-MB aumenta dentro de quatro a oito horas após o evento isquêmico, atinge um pico em 18 horas e, em geral, volta aos níveis normais em 48 a 72 horas (KUMAR; ABUL, 2000).

As troponinas são proteínas que regulam a contração do músculo cardíaco e do músculo esquelético mediada pelo cálcio. A troponina I (TnI) e a troponina T (TnT) não são normalmente detectadas na circulação, e existem diferentes genes que codificam essas proteínas no músculo esquelético mediada pelo cálcio. Por conseguinte, as elevações séricas são anormais, e a forma cardíaca e a do músculo esquelético podem ser distinguidas por anticorpos específicos, que também permitem a realização de ensaios imunológicos quantitativos. Após o IAM, tanto os níveis de TnI quanto TnT aumentam aproximadamente ao mesmo tempo que a CK-MB. A sensibilidade diagnóstica da determinação da troponina cardíaca assemelha-se àquela da CK-MB nos estágios iniciais. Entretanto, os níveis de troponina permanecem elevados durante sete a dez dias após o evento agudo, permitindo o diagnóstico de IAM, bem depois da normalização dos níveis de CK-MB (ADAMS, 1993). Os limites de referência variam em diversos estudos, porém considera-se o diagnóstico de IAM valores superiores a 0,1 ng/mL. Com esse critério, a sensibilidade para o diagnóstico de IAM aproxima-se a 100% (MARTINS, 2009; KOCIOL *et al.*, 2010).

#### 1.4. Modelo experimental de infarto agudo do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos

Os modelos experimentais de indução do infarto do miocárdio em ratos mais utilizados na literatura envolvem o modelo da ligadura coronariana e o modelo em que a injúria miocárdica é induzida pelo isoproterenol. No primeiro, o coração é exposto através de uma incisão de toracotomia esquerda e uma ligadura da porção proximal da artéria coronariana esquerda é realizada. Trata-se de um modelo experimental mais complexo, que além da necessidade de toracotomia está associado ao uso de suporte ventilatório e analgesia pós-operatória. Apresenta maior incidência de eventos de morbidez e mortalidade não relacionados ao IM, como infecção e pneumotórax, alcançando uma mortalidade de cerca de 50% (GOLDMAN; RAYA, 1995).

Desde a década de 1970, inúmeros trabalhos são publicados utilizando o modelo de IM induzido por isoproterenol, com o intuito de se avaliar os efeitos de diferentes drogas no contexto da lesão miocárdica, tendo se mostrado um modelo experimental prático e eficaz (BLOOM; DAVIS, 1972).

O isoproterenol é um potente agonista não seletivo de todos os receptores  $\beta$ , com afinidade muito baixa pelos receptores  $\alpha$ . É considerada, então, uma catecolamina que causa dano severo ao miocárdio gerando necrose semelhante à produzida no IAM em humanos (WEXLER, 1978). A estrutura molecular desta substância pode ser observada abaixo (FIGURA 1).

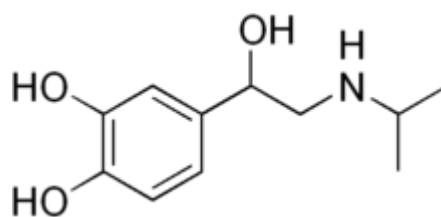


Figura 1 – Estrutura molecular do isoproterenol

Dentre os vários mecanismos propostos para explicar o dano miocárdico induzido pelo isoproterenol, a geração de radicais livres altamente citotóxicos, decorrente da auto-oxidação de catecolaminas, tem sido implicada como um dos importantes fatores causadores (RATHORE *et al.*, 2000).. Isoproterenol também aumenta a atividade de enzimas lisossômicas. Esta substância reduz a atividade da  $\text{Ca}^{2+}$ ATPase e  $\text{Mg}^{2+}$ ATPase, podendo ser responsável por uma quebra de balanço iônico que causa dano à membrana celular (BLOOM; DAVIS, 1972). Também é apontado como indutor da ativação de diversas hidrolases

lisossômicas, responsáveis pela destruição celular (SATHISH; EBENEZAR; DEVAKI, 2003). Está relacionado ao aumento dos níveis séricos de CK, lactato-desidrogenase (LDH), TGO, transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), colesterol total (CT) e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (MOHAN; BLOOM, 1999). Estudos indicam que quinonas derivadas do isoproterenol reagem com o oxigênio, produzindo ânions superóxido e peróxido de hidrogênio, acentuando o estresse oxidativo (RATHORE *et al.*, 2000).

O efeito cardiotoxico do isoproterenol também está associado à sobrecarga de  $Ca^{++}$ . Estudos sugerem que a entrada de  $Ca^{++}$  em miócitos cardíacos após a administração de isoproterenol ocorre em duas fases: uma fase inicial rápida, seguida por uma fase lenta que se inicia cerca de uma hora após sua administração, levando a concentrações de  $Ca^{++}$  ao pico após cerca de quatro horas (MOHAN; BLOOM, 1999). Produz também isquemia miocárdica pelo excesso de produção de radicais livres, resultado do metabolismo oxidativo de catecolaminas (SINGAL; BEAMISH; DHALLA, 1983).

Mohan e Bloom (1999) observaram que o isoproterenol induz lipólise no miocárdio de ratos. Este fenômeno resultaria em ácidos graxos livres, sendo que estes, ou os produtos de sua degradação, apresentam-se tóxicos às células cardíacas pelos danos causados à membrana plasmática.

Rathore *et al.*, (2000) concluíram que a administração de isoproterenol em ratos altera o sistema antioxidante dos eritrócitos. Afirmam que o isoproterenol, ao sofrer oxidação, produz quinonas que reagem com o oxigênio para produzir ânions superóxido e peróxido de hidrogênio.

Bloom e Davis (1972) relataram que após a administração de isoproterenol em ratos, a concentração de cálcio miocárdico total encontrou-se aumentada. Os autores postularam que o isoproterenol exerce um efeito de distribuição do  $Ca^{2+}$  pelas organelas celulares, sendo que o incremento de  $Ca^{2+}$  nas mitocôndrias leva a um desbalanço iônico que prejudica a síntese de ATP, assim danificando o metabolismo energético dos miócitos. Singal, Beamish e Dhalla (1983) observaram que o isoproterenol causa isquemia miocárdica pelo excesso de produção de radicais livres, causado pelo metabolismo oxidativo das catecolaminas.

Em uma série de estudos se observa que as concentrações de antioxidantes como ceruloplasmina e glutathione e as atividades de enzimas antioxidantes como a superóxido-dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione-peroxidase (GPx), glutathione-redutase (GR) e glutathione S-transferase diminuem, enquanto há aumento de marcadores de injúria miocárdica como TGO, transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), lactato-desidrogenase (LDH), CPK, CK-MB e troponina em ratos em que se administrou isoproterenol (RATHORE *et al.*, 2000;

AHMED; RANA; DIXIT, 2004; TRIVEDI *et al.*, 2006; ANANDAN *et al.*, 2007; PRINCE *et al.*, 2008; SANGEETHA; QUINE, 2008; UPAGANLAWAR; GANDHI; BALARAMAN, 2009).

Assim, vários são os mecanismos pelos quais o isoproterenol causa dano nos cardiomiócitos de ratos, sendo um modelo científico amplamente utilizado em diversos estudos que avaliam o possível efeito de drogas no metabolismo cardíaco.

### **1.5. Os Flavonóides**

Na década de 1930, uma nova substância química foi isolada da laranja e acreditava-se tratar de mais um membro da família das vitaminas, sendo designada como vitamina P, verificando-se mais tarde tratar-se de um flavonóide, a rutina. Os flavonóides representam um dos grupos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem de plantas e são amplamente distribuídas no reino vegetal (MIDDLETON, 1988).

Diversas funções são atribuídas aos flavonóides nas plantas. Entre elas, pode-se citar a proteção contra raios ultravioleta e microrganismos patogênicos, ação antioxidante, ação alelopática e inibição enzimática (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002).

Os flavonóides representam um grande grupo de antioxidantes naturais. São metabólitos secundários de plantas, biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides. São compostos por um núcleo comum de fenilcromanona com substituição em uma ou mais hidroxilas, incluindo derivados ligados a açúcares. (BIRT; HENDRICH; WANG, 2001).

As atividades bioquímicas dos flavonóides e de seus metabólitos dependem de sua estrutura química, que podem variar com substituições incluindo hidrogenação, hidroxilações, metilações, malonilações, sulfatações e glicosilações. Os flavonóides são subdivididos nas principais classes: flavonas, flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, flavanas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas e neoflavonóides (BRAVO, 1998). Mais de 8.000 flavonóides já foram identificados (PIETTA, 2000).

A estrutura molecular básica dos flavonóides pode ser observada a seguir (FIGURA 2).

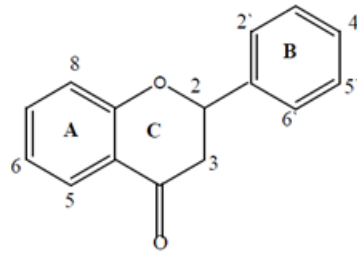
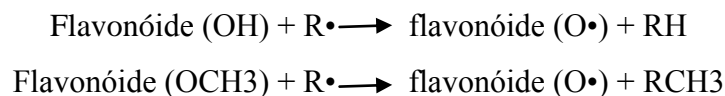


Figura 2 – Estrutura molecular básica dos flavonóides

O interesse na pesquisa acerca da atividade dos flavonóides é decorrente de suas diferentes propriedades. Ensaio biológicos usando combinações isoladas revelam que os flavonóides exibem uma grande ação sobre os sistemas biológicos demonstrando efeitos antimicrobiano, antiviral, antiulcerogênico, citotóxico, antitumoral, antioxidante, anti-hepatotóxico, anti-hipertensivo, hipolipidêmico, anti-inflamatório e antiplaquetário. Também demonstrou redução na permeabilidade capilar e inibição da exsudação protéica e migração de leucócitos (PELZER *et al.*, 1998).

Um importante efeito dos flavonóides é a sua capacidade antioxidante. Quimicamente, os flavonóides são substâncias doadoras de elétrons, sendo capazes de estabilizar radicais livres envolvidos no processo oxidativo (BIRT; HENDRICH; WANG, 2001).

A ação antioxidante dos flavonóides é desempenhada de acordo com as equações abaixo (DÉGASPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004):



Shoskes (2008) demonstrou que o flavonóide quercetina reduz o dano renal por isquemia-reperfusão, interferindo na atividade de oxido-nítrico sintase induzida. Cos *et al.* (2002) relataram que a luteolina é um potente inibidor de xantina oxidase, uma fonte de espécies reativas de oxigênio.

Outra ação bastante estudada dos flavonóides é a sua atividade anti-inflamatória. As enzimas ciclooxygenase e lipoxigenase são importantes mediadores da inflamação e estão envolvidas na liberação de ácido araquidônico, responsável pela resposta inflamatória em geral. Foi demonstrado que alguns compostos fenólicos são capazes de inibir a via da

ciclooxigenase e a da 5-lipoxigenase (FERRANDIZ; ALCARAZ, 1991). O mecanismo pelo qual os flavonóides inibem essas vias ainda não foi esclarecido, mas está sendo extensivamente pesquisado (NIJVELTD *et al.* 2001).

Foi demonstrado que a quercetina, em particular, é capaz de inibir tanto a atividade da ciclooxigenase quanto da lipoxigenase. Estudos têm demonstrado que flavonóides como quercetina e apigenina possuem ação anti-inflamatória por inibir a enzima ciclooxigenase-2. Uma redução da resposta inflamatória também pode ser obtida por flavonóides, como a quercetina e a luteolina, por reduzirem a ativação do sistema complemento e conseqüentemente diminuïrem a adesão de células inflamatórias ao endotélio (ROBAK; GRYGLEWSKI, 1996; KIM *et al.* 1998).

PELZER *et al.* (1998), em seu estudo sobre o efeito anti-inflamatório de trinta flavonóides das classes flavanonas, flavonas e flavonóis, demonstraram que as flavanonas hesperidina e eriodictiola, a flavona 7,4'-di-O-metilapigenina e os flavonóis quercetina, 3-O-metilquercetina e morina são capazes de reduzir significativamente o edema induzido nas patas de ratos por processos inflamatórios, sendo que o flavonol rutina e a flavona jaceosidina são os flavonóides que apresentaram melhor efeito anti-inflamatório.

Alguns flavanóides apresentam efeito protetor na injúria miocárdica. Stanley e Priya (2010) obtiveram evidências histológicas e *in vitro* de que a rutina protege as enzimas lisossomais cardíacas em ratos submetidos à IM induzido por isoproterenol em ratos. Esse resultado é devido ao seqüestro de radicais livres e à propriedade antioxidante da rutina, bem como de sua capacidade de estabilizar a membrana celular, todas atribuídas a esse flavonóide.

Punithavathi, Shanmugapriya e Prince (2010) observaram os efeitos protetores da rutina *in vivo* e *in vitro* em ratos que apresentavam cardiotoxicidade induzida por isoproterenol. Os mecanismos sugeridos para explicar essas constatações são: seqüestro de radicais livres, redução de peróxidos lipídicos e das concentrações de  $Ca^{++}$ , além do aumento dos níveis de glutatona e trifosfato de adenosina (ATP) de forma a melhorar a estrutura e a função mitocondrial no coração.

Prince e Sathya (2010) observaram que a quercetina diminuiu a elevação do segmento ST e os níveis de produtos da peroxidação no plasma e no coração de ratos infartados com isoproterenol. Houve também redução dos níveis de colesterol total, triglicérides, ácidos graxos livres, lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade nos ratos tratados com esse flavonóide. Em contrapartida, constatou-se aumento significativo de lipoproteína de alta densidade, que apresenta efeitos benéficos no sistema cardiovascular. Portanto, a atividade antioxidante da quercetina inibe a peroxidação lipídica e previne o



acúmulo de lipídios, além de alterações nas lipoproteínas e no eletrocardiograma de ratos, cuja cardiotoxicidade foi induzida por isoproterenol.

Por fim, Punithavathi e Prince (2009) avaliaram o efeito combinado da quercetina e do  $\alpha$ -tocoferol no metabolismo lipídico e nos componentes de glicoproteínas em um modelo de IM induzido por isoproterenol, observando efeitos benéficos dessas substâncias, sobretudo quando usadas em associação.

Em virtude dos importantes efeitos protetores dos flavonóides em modelos de injúria miocárdica, buscamos avaliar os efeitos da ternatina, um flavonóide extraído da planta *Egletes viscosa*.

### **1.6. *Egletes viscosa***

*Egletes viscosa* Less, ou mais popularmente conhecida como Macela-da-terra, é um vegetal pertencente à família Asteracea, que integra o panteão das plantas empiricamente medicinais. Por ser autóctone das Américas intertropicais, *E. viscosa* é bastante comum no nordeste brasileiro (VIEIRA, 2006), onde chás e infusões a partir de extratos da planta são amplamente utilizados com finalidade terapêutica na medicina popular. Relatos do século XVII apontam que a Macela-da-terra já era utilizada na prática médica durante a primeira epidemia de febre amarela no Brasil, embora não houvesse evidências claras que ratificassem a eficácia de seu uso para esse fim (ALMEIDA *et al.*, 2008).

A literatura refere que compostos extraídos da *E. viscosa* apresentam propriedades anti-hepatotóxica (RAO *et al.*, 1994), antiperoxidativa (SOUZA *et al.*, 1997), gastroprotetora e antidiarréica (RAO *et al.*, 1997), hepatoprotetora (SOUZA; RAO; SILVEIRA, 1998), antitrombótica (SOUZA *et al.*, 1994), antianafilática e anti-inflamatória (SOUZA; RAO; SILVEIRA, 1992; RAO *et al.*, 2003). Além disso, estudos químico-farmacológicos, utilizando-se os capítulos florais dessa espécie, permitiram identificar dois quimiotipos distintos a ela pertencentes, o quimiotipo A, cujo constituinte principal do óleo é o acetato de *trans*-pinocarveíla e o quimiotipo B, caracterizado pela presença de acetato de *cis*-isopinocarveíla, como composto majoritário (SILVEIRA; PESSOA, 2005).

Quanto às características morfofisiológicas dessa planta, ela é descrita como sendo uma herbácea anual (LIMA, 1996), cujo crescimento se dá ao longo das margens de cursos d'água, após a quadra invernososa (SOUZA *et al.*, 1994). Suas flores e sementes (capítulos florais) são designadas também por cabecinha (MATOS, 1990), regiões estas detentoras das características medicinais da Macela-da-terra. Além disso, constata-se que o processo de

formação de mudas a partir das sementes de *E. viscosa* enfrenta algumas dificuldades, que envolvem, além das etapas iniciais de obtenção e manuseio das sementes, a fase de semeadura. As razões para esses entraves devem-se à anatomia dos frutos (aquênios) da planta, que, em virtude de serem pequenos e não se destacarem facilmente dos capítulos, apresentam também um processo de germinação lento e irregular, de forma a dificultar a multiplicação das sementes. Desse modo, a propagação vegetativa passou a representar, portanto, um viés alternativo de reprodução para tal espécie (BEZERRA *et al.*, 2002). A estaquia, por exemplo, permite que a parte da planta que foi subtraída regenere as demais que lhe faltam, constituindo, assim, um processo de gênese de uma planta inteira. Esse fenômeno ocorre pelo fato de as células vegetais serem totipotentes (HARTMANN *et al.*, 1997). Além disso, Bezerra e Medeiros (2003) constataram que o quimiotipo B da Macela-da-terra se propaga facilmente por meio da estaquia, utilizando-se estacas herbáceas como matéria-prima para execução dessa técnica. Observou-se também que a produção e a composição química da macela podem ser avaliadas em função da época de colheita. Biomassa e capítulos florais, por exemplo, estão diretamente relacionados, de forma linear, com o avanço das épocas de ceifa. Caule, folhas e capítulos, por sua vez, obtiveram maiores rendimentos de extratos etanólico e clorofórmico do que as raízes. Ademais, os constituintes majoritários do óleo essencial (acetato de *trans*-pinocarveíla, acetato de mirtenila e  $\beta$ -pineno) apresentaram padrões distintos de variação em épocas diferentes de colheita (BEZERRA *et al.*, 2008).

Em relação aos compostos existentes nessa planta, Vieira *et al.* (2006) identificaram alguns deles, por meio de estudos fitoquímicos dos quimiotipos A e B, que, conforme anteriormente mencionados possuem, respectivamente, o acetato de *trans*-pinocarveíla e o acetato de *cis*-isopinocarveíla, como constituintes principais. Nesse ensaio, a análise dos botões florais pertencentes ao quimiotipo A permitiu a extração de ternatina, ácido centipédico, lactona do ácido 12-acetóxi-hawtriwaico e um novo diterpeno, o 12-acetóxi-7-hidróxi-3,13(14)-clerodandieno-18,19:15,16-diolídeo. O quimiotipo B, por sua vez, originou esse mesmo diterpeno, a 12-epi-bacchotricuneatina e a escopoletina, além da ternatina, que também pode ser isolada.

## 1.7. Ternatina

A ternatina, 5-4'-dihidróxi-3,7,8,3'-tetrametoxiflavona, é um bioflavonóide extraído da *Egletes viscosa*, Less, que, em condições ambiente, encontra-se na sua forma pulverizada, sólida, e apresenta tonalidade amarelada (LIMA *et al.*, 1966). Esta substância foi descoberta em 1989, (SILVEIRA;LIMA; MACEDO, 1989) , dessa forma, o acervo científico que discorre sobre as propriedades desse composto ainda é reduzido.

Apesar disso, já existem relatos na literatura acerca de algumas de suas propriedades, entre elas antimicrobiana (SILVA FILHO *et al.*, 2006) e anti-inflamatória (RAO *et al.*, 2003). É capaz também de influenciar a maturação folicular em caprinos (LIMA-VERDE *et al.*, 2009), de proteger contra peroxidação lipídica (GUIMARÃES, 2005), bem como de influenciar no processo natural de regeneração hepática (SOUZA MELO, 2006).

Melo (1991) mostrou a eficácia da ternatina na inibição da gênese do edema, em um modelo experimental de inflamação aguda em patas de ratos induzida por carragenina e na restrição da permeabilidade capilar, de forma dose-dependente. Esta mesma pesquisa demonstrou efeitos antitérmico, gastroprotetor e lentificador do trânsito gastrointestinal atribuídos à ternatina.

Rao *et al.*, em 2003, observaram, em um modelo animal experimental de colite induzida por ácido acético que a ternatina apresentou efeito anti-inflamatório. Apesar de não se ter certeza quanto ao exato mecanismo envolvido nessa proteção, sugeriu-se uma via antioxidante, haja vista a redução dos níveis de mieloperoxidase paralelamente à supressão da elevação dos níveis de malonaldeído conferidas pelo uso da ternatina (KETTLE *et al.*, 1997).

Guimarães (2005), em um modelo de torção de cordão espermático em ratos demonstrou que a ternatina foi capaz de reduzir o estresse oxidativo gerado por esse modelo de injúria tecidual.

Por fim, outro modelo de estresse oxidativo, em animais, investigou os efeitos do ômega-3, do ômega-6, do dimetilsulfóxido e da ternatina na hiperplasia compensatória de lobos hepáticos (SOUZA MELO, 2006). Para isso, utilizou-se o modelo de Higgins Anderson para realização da hepatectomia parcial, ou seja, havendo ressecção do lobo mediano e do lobo lateral esquerdo do fígado de ratos Wistar. Em seguida, foram administrados nos animais os referidos compostos por um período de catorze dias. O intuito, como anteriormente mencionado, foi avaliar o efeito das substâncias no tocante ao fenômeno do estresse oxidativo e à existência de influência sobre regeneração hepática, como também à manutenção do metabolismo do órgão ressecado em vias de regeneração. Os resultados apontaram que a

ternatina, o dimetilsulfóxido e o ômega-3 foram capazes de reduzir a velocidade do processo de regeneração hepática nesse modelo experimental.

Em virtude dessa comprovada ação protetora da injúria tecidual em diversos órgãos e da ausência de estudos que avalie essa droga na injúria miocárdica, teorizamos que a ternatina poderia ter um efeito protetor no IM induzido por isoproterenol em ratos.

A ternatina não é solúvel em solução salina. Na maioria dos estudos a ternatina é diluída com a substância dimetilsulfóxido (DMSO), que é um solvente com atividades anti-inflamatória e antioxidante.

### **1.8. Dimetilsulfóxido (DMSO)**

O dimetilsulfóxido (DMSO) foi sintetizado na década de 1860 na Alemanha pelo químico de nacionalidade russa Alexander Saytzeff, que descreveu sua notável capacidade solvente. A partir da década de 1940, o DMSO passou a ser bastante utilizado como solvente para fins industriais. Estudos realizados na década de 1980, mostrando propriedades anti-inflamatórias e citoprotetora do DMSO, impulsionaram a pesquisa com este agente farmacêutico (BRAYTON, 1986).

O DMSO é um composto químico orgânico de fórmula  $C_2H_6SO$  (ROSEBAUN; HERSCHLER; JACOB, 1965), peso molecular 78 (CARPENTER; ANGEL; MORGAN, 1994) e temperatura de congelamento  $18,5^\circ C$ . A elevada capacidade higroscópica, tendência a absorver a umidade do ar, decorre da sua intensa afinidade pelo hidrogênio, formando pontes mais fortes que às formadas entre moléculas de água (BRAYTON, 1986). Apresenta propriedade de neutralizar a ação lesiva dos radicais hidroxil (ARDEN *et al.* 1989; MACKAY, 1992). Possui ainda atividade anti-inflamatória por meio do antagonismo de substâncias originadas do ácido aracdônico (STONE, 1993) e da inibição da infiltração de polimorfonucleares (ALSUP; DEBOWES, 1984). Outra ação ainda citada é a vasodilatadora, resultante de atividade histaminogênica e anticolinesterásica (BRAYTON, 1986).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. GERAL:**

- Avaliar os efeitos do pré-condicionamento com ternatina no infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos.

### **2.2. ESPECÍFICOS:**

- Validar, em nosso meio, o modelo de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos, na dose de 120 mg/kg do animal por dia durante dois dias.
- Investigar o efeito do pré-condicionamento com DMSO e com TERNATINA sobre:
  - Mortalidade
  - Marcadores séricos de lesão miocárdica.
  - Atividade da catalase no miocárdio.
  - Alterações histopatológicas no miocárdio.

### **3. MÉTODO**

#### **3.1. Aspectos éticos**

Os procedimentos experimentais utilizados nesse trabalho foram feitos de acordo com os padrões éticos estabelecidos pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo (41/11). Foram obedecidas às normas estabelecidas pelo Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS) e os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA.

#### **3.2. Amostra**

Foram utilizados 32 ratos jovens, machos, com 175 a 280g, da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará – Faculdade de Medicina, criados e mantidos sob condições ambientais e alimentares semelhantes.

#### **3.3. Ambiente de Experimentação**

Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, providas de tampa com grade metálica de aço inoxidável e forradas com maravalhas, alojadas em dependências refrigeradas ( $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Observou-se a alternância dos ciclos claro/escuro a cada 12 horas. Os ratos foram alimentados com uma dieta padrão com a seguinte composição: 22% de proteína, 1,4% de cálcio, 0,6% de fósforo, 5% de extrato etéreo, 8% de matéria fibrosa, 10% de matéria mineral, 12% de umidade. A dieta era enriquecida com as seguintes substâncias, por quilograma do produto: vitamina A 13.200 UI, vitamina D3 2.000 UI, vitamina B1 5,0 mg, vitamina B2 6,0 mg, vitamina B12 23 mcg, vitamina E 35 mg, vitamina K3 5 mg, biotina 0,05 mg, niacina 60 mg, colina 650 mg, lisina 100 mg, metionina 300 mg, cobre 10 mg, manganês 60 mg, ferro 50 mg. A água oferecida era potável. A higienização das gaiolas e o exame dos animais foram realizados diariamente pelo técnico responsável e pelo pesquisador, respectivamente.

Os ratos foram previamente aclimatados por um período de sete dias antes da realização dos experimentos. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em ambiente refrigerado, no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará.

### 3.4. Delineamento do Estudo

#### 3.4.1. Distribuição dos grupos

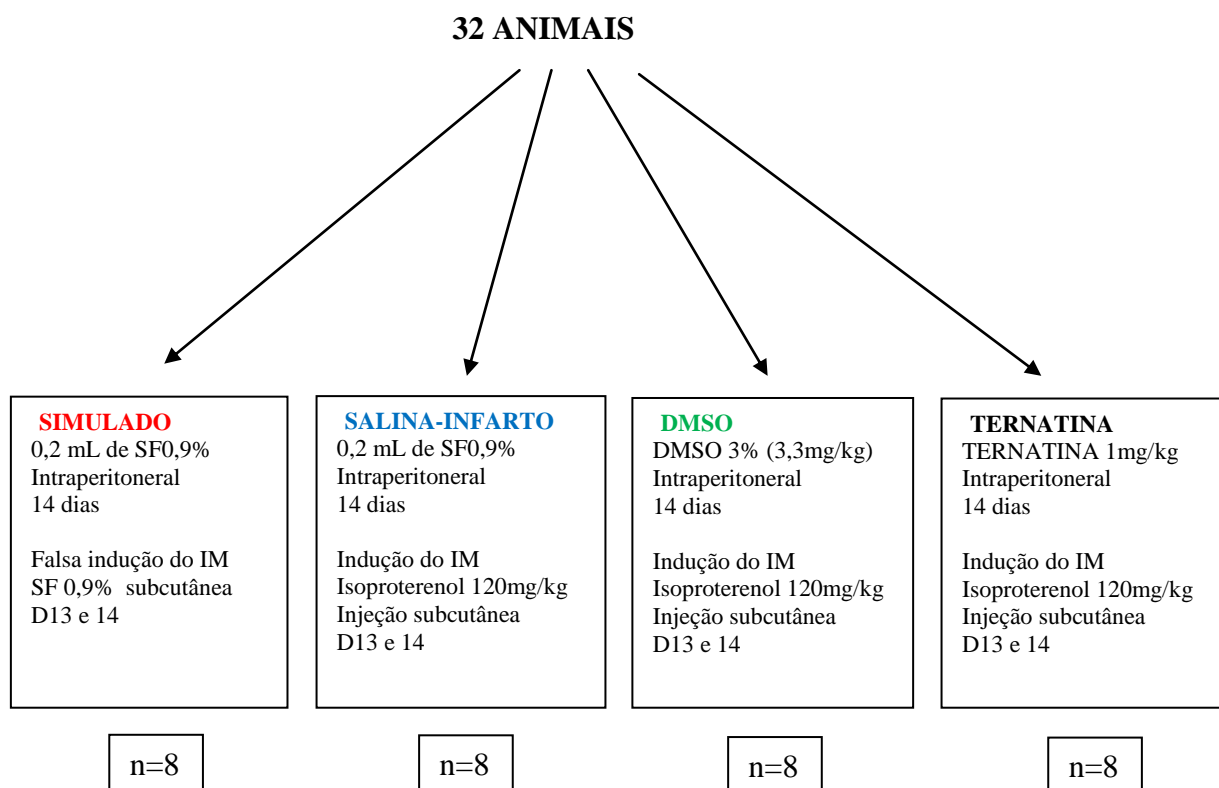
O grupo de 32 ratos foi distribuído ao acaso em quatro grupos:

- **Grupo SIMULADO (n: 8):** recebeu administração diária durante catorze dias de 0,2 mL de solução salina a 0,9%, por via intraperitoneal, e nos dias 13 e 14, foi realizada falsa indução de infarto do miocárdio com solução salina.

- **Grupo SALINA-INFARTO (n:8):** recebeu administração diária durante catorze dias de 0,2 mL de solução salina a 0,9%, por via intraperitoneal, e nos dias 13 e 14, foi realizada indução de infarto do miocárdio com isoproterenol.

- **Grupo DMSO (n:8):** foi administrado durante catorze dias por via intraperitoneal DMSO, e nos dias 13 e 14, foi realizada indução de infarto do miocárdio com isoproterenol.

- **Grupo TERNATINA (n:8):** foi administrado durante catorze dias por via intraperitoneal ternatina diluída em DMSO e, nos dias 13 e 14, foi realizada indução de infarto do miocárdio com isoproterenol.



<b>D1</b>	D2	D3	D4	D5	D6	<b>D7</b>	D8	D9	D10	D11	<b>D12</b>	D13	D14	D15
<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D5</b>	<b>D6</b>	<b>D7</b>	<b>D8</b>	<b>D9</b>	<b>D10</b>	<b>D11</b>	<b>D12</b>	<b>D13</b>	<b>D14</b>	D15
D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	<b>D13</b>	<b>D14</b>	D15
D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13	D14	<b>D15</b>

**D2-D7-D12** : Pesagem do animais

**D1-D14**: SF 0,9% via IP nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO

DMSO 3% no grupo DMSO

TERNATINA 1mg/Kg no grupo TERNATINA

**D13-D14**: Falsa indução do IM com salina SC no grupo SIMULADO

Indução do IM com isoproterenol 120 mg/Kg nos demais grupos

**D15**: Procedimento anestésico com cetamina e xilasina

Coleta de sangue da aorta abdominal

Exérese do coração

Os ratos de cada grupo foram pesados individualmente, no primeiro dia (D1), no sétimo dia (D7) e no décimo segundo dia (D12) do experimento, para permitir o cálculo das doses das drogas administradas no curso do estudo.

Os animais permaneceram em jejum e sem oferta de água a partir de 12 horas antecedentes à realização da anestesia que precedeu o sacrifício, para coleta de sangue, com intuito de se realizar hemograma completo e as dosagens de uréia, creatinina, TGO, TGP e troponina I, retirada de segmento apical do ventrículo esquerdo para exame histopatológico e fragmentos do ventrículo esquerdo, para avaliação da atividade da catalase.

#### 3.4.2. Procedimento anestésico

Foram utilizados cloridrato de cetamina, na dose de 50 mg/kg do animal e cloridrato de xilasina, na dose de 10 mg/kg do animal, ambas administradas por via



intraperitoneal (FIGURA 3). O animal foi considerado anestesiado quando se apresentava imóvel ao manuseio com ausência de resposta a estímulos nociceptivos, enquanto mantinha frequência e amplitude respiratórias normais.



Figura 3 - Administração intraperitoneal das drogas anestésicas

#### 3.4.3 Indução do Infarto do Miocárdio com Isoproterenol

A indução do infarto do miocárdio foi realizada mediante a administração subcutânea de isoproterenol, numa dose de 120 mg/kg/dia diluída em 2 mL de solução salina, durante dois dias consecutivos, dias 13 e 14, com um intervalo de 24 horas entre as aplicações. A falsa indução do infarto do miocárdio foi realizada por meio da administração subcutânea de 2 mL de solução salina durante dois dias consecutivos com um intervalo de 24 horas entre as aplicações. A injeção subcutânea é a administração de solução sob a pele do animal, a qual deve ser levantada antes da aplicação. A injeção subcutânea foi realizada com agulha hipodérmica curta (25x5 mm), passando apenas pela derme, o mais próximo da superfície, formando uma pápula após a administração da substância. As áreas dorsolaterais do pescoço, ombro e flancos foram as regiões de escolha. É uma via que raramente induz dor e é realizada em animais conscientes. Antes de injetar a substância, deve-se aspirar exercendo uma leve pressão no êmbolo da seringa para assegurar que a agulha não esteja penetrando em um vaso sanguíneo.

### 3.4.4 Preparo e administração das drogas utilizadas

#### Solução salina

A solução salina (cloreto de sódio a 0,9%) administrada por via subcutânea, no grupo SIMULADO, e utilizada no preparo da solução de isoproterenol nos grupos SALINA-INFARTO, DMSO e TERNATINA foi produzida pela empresa Halex Istar Indústria Farmacêutica (Goiás- Brasil).

#### Isoproterenol

O cloridrato de isoproterenol foi obtido da empresa Sigma-Aldrich (EUA), na forma de frascos contendo, em cada um, um grama do pó do princípio ativo puro. As doses administradas nos grupos infartados foram calculadas baseadas nos pesos dos animais avaliados no D12. Para a aferição do peso do princípio ativo (120 mg/kg do animal) foi utilizada uma balança de precisão. De posse da quantidade exata da substância, foi composta uma solução com 2 mL de solução salina para administração subcutânea.

#### Cloridrato de Cetamina

O cloridrato de cetamina foi obtido da empresa König (Argentina), em frasco com concentrações de 50 mg/mL. Por ocasião do dia do sacrifício foi administrada, por via intraperitoneal, uma dose de 50 mg/kg do animal.

#### Cloridrato de Xilasina

O cloridrato de xilasina foi obtido da empresa König (Argentina), em frasco com concentrações de 20 mg/mL. Por ocasião do dia do sacrifício foi administrada, por via intraperitoneal, uma dose de 10 mg/kg do animal.

#### DMSO

Trata-se de um composto orgânico contendo enxofre em sua fórmula estrutural, líquido a temperatura ambiente, incolor, límpido, solúvel em uma grande variedade de solventes orgânicos.

O DMSO foi preparado pela Unidade de Farmacologia Clínica (UNIFAC) da Universidade Federal do Ceará, como uma solução aquosa a 3%, obtida pela junção de 97 mL de solução fisiológica a 0,9% com 3 mL de DMSO puro. Cada mL da solução resultante

contém 3,3 mg de DMSO e a dose diária utilizada foi de 0,1mL para cada 100g do rato, perfazendo uma dose de 3,3 mg/Kg do animal.

#### TERNATINA

A ternatina utilizada foi extraída, isolada e purificada pelo Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica do Centro de Ciências da UFC e certificada pelo CENAREMN-Centro Nordestino de Aplicação e uso da Ressonância Magnética Nuclear da UFC, sob a coordenação e responsabilidade do Prof Dr. Edilberto Rocha Silveira.

Os capítulos florais de *E. viscosa* L., localmente adquiridos e adequadamente identificados, após secagem ambiente foram reduzidos a pó, desengordurados com hexano frio e extraídos com EtOH a frio. Após evaporação foi obtido um resíduo viscoso de cor amarronzada, a seguir cromatografado em sílica gel por eluição com hexano,  $\text{CHCl}_3$  puro, ETOAc e MeOH, originando um precipitado amarelo na fração  $\text{CHCl}_3$ . Após filtração e recristalização com MeOH obteve-se o flavonóide (ponto de fusão 215-216 ° C), que foi identificado pela espectrometria de massa como ternatina (4',5-diidróxi-3,3',7,8-tetrametoxiflavona).

Cem miligramas de ternatina, em forma de pó puro, foram diluídos em 100 mL de DMSO 3%, uma vez que não apresenta solubilidade em solução salina, e ser esta forma a mais utilizada em estudos envolvendo a ternatina. Esta diluição foi realizada pela UNIFAC da UFC.

A dose de ternatina administrada foi de 1mg/kg do animal, o que correspondeu a 0,1mL da solução em questão por 100g de peso do animal.

#### 3.4.5. Obtenção das Amostras

Vinte e quatro horas após a indução do infarto, verdadeiro ou simulado, os ratos foram anestesiados conforme descrito acima. Após adequado plano anestésico foi realizada uma incisão se estendendo do pescoço ao púbis em T invertido.

#### Coleta de sangue

Obteve-se acesso ao retroperitônio, sendo dissecada a aorta abdominal, em sua porção infra-renal (FIGURA 4). A coleta do sangue foi então efetuada por meio de uma

punção da aorta abdominal com um jelco descartável de número 24 (24 gauge) (FIGURA 5). Dessa forma, a aorta era cateterizada com o jelco, sendo desprezado o mandril, agulha presente no interior do jelco. Com o uso de uma seringa descartável de 5 mL, acoplada ao jelco, eram colhidos 5 mL de sangue (FIGURA 6). Deste volume, 2 mL eram armazenados em um tubo para realização de hemograma completo e 3 mL em um tubo para as dosagens bioquímicas (uréia, creatinina, TGO, TGP e troponina I) (FIGURA 7). Os tubos, devidamente identificados, eram então postos em um isopor com gelo.



Figura 4 - Dissecção da aorta abdominal

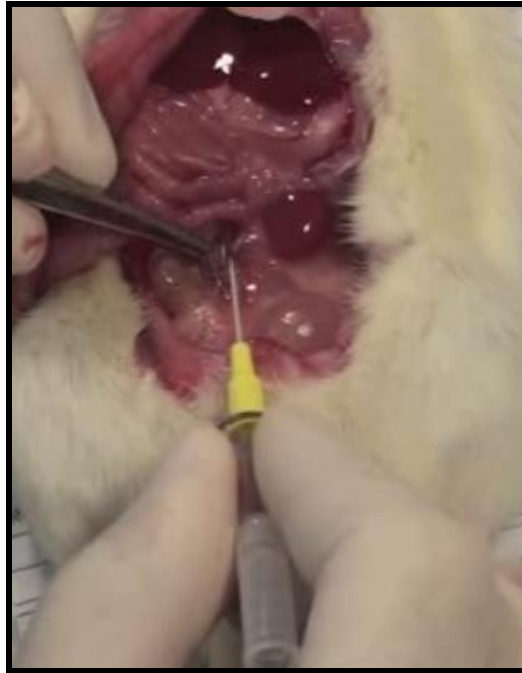


Figura 5 - Punção da aorta abdominal com jelco



Figura 6 - Coleta da amostra de sangue no interior da seringa



Figura 7 - Armazenamento da amostra de sangue em frascos específicos

#### Coleta do ápice cardíaco para estudo histopatológico

Após a fase de coleta do sangue, procedeu-se de forma imediata a abertura do tórax e retirada do coração, por secção da aorta, artéria pulmonar, veia cava e átrio esquerdo. O coração era então lavado com solução salina e o segmento apical do ventrículo esquerdo era posto em um frasco, devidamente identificado, contendo solução de formalina a 10% tamponada.

#### Coleta de fragmentos do miocárdio para mensuração da atividade da enzima catalase

Após a fase de retirada do ápice cardíaco, procedeu-se de forma imediata a ressecção de dois fragmentos da musculatura do ventrículo esquerdo. Estes fragmentos eram pesados e colocados, separadamente, no interior de criotubos devidamente identificados, sendo postos em recipiente contendo nitrogênio líquido. Os criotubos foram então armazenados em um *freezer* numa temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$ , até a realização da análise, em um período de até duas semanas.

### 3.5. Exames bioquímicos

Os exames bioquímicos foram realizados no Laboratório Evandro Chagas, localizado no edifício da Casa de Saúde e Maternidade São Raimundo, em Fortaleza, cadastrado sob número 2529157 na Agência Nacional de Saúde (ANS).

### 3.6. Avaliação histopatológica

Os exames histopatológicos foram realizados no Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Os ápices dos corações, fixados em solução de formalina a 10% tamponada foram embebidos em parafina, em um período de cerca de 24 horas após o início da fixação. Cortes medindo quatro micrômetros foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE) e observados microscopicamente. A gravidade e extensão do infarto do miocárdio foram observadas para cada caso. O patologista não tinha conhecimento prévio a qual grupo correspondia cada lâmina. Os achados foram classificados nos seguintes graus: (0) sem alterações; (1) Leve (dano miócito focal ou pequena degeneração multifocal com ligeiro grau de processo inflamatório); (2) Moderado (extensa degeneração miofibrilar e/ou processo inflamatório difuso); (3) Acentuado (necrose com processo inflamatório difuso) (ACIKEL *et al.*, 2005), conforme observados nas figuras abaixo (FIGURAS 8 a 11), que exemplificam o nível de IM.

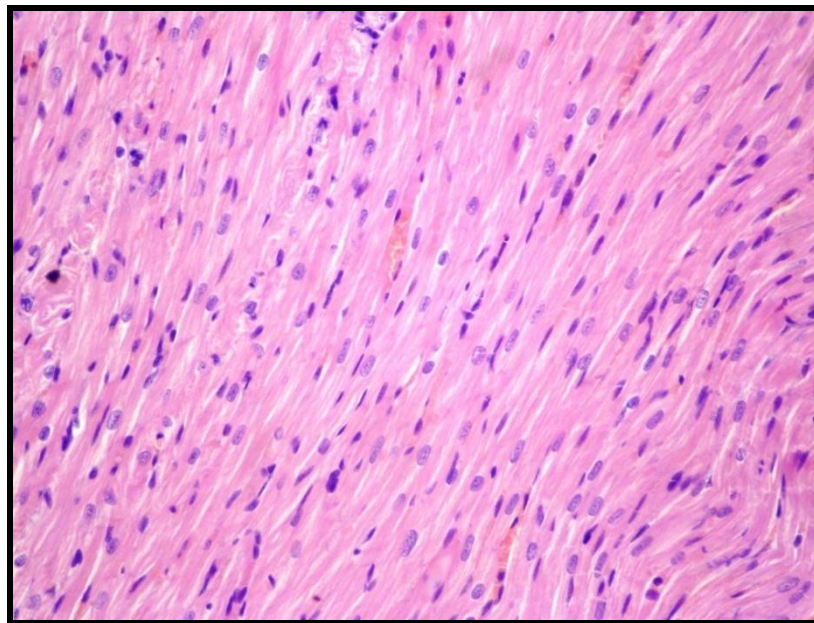


Figura 8 – Estudo histopatológico demonstrando tecido miocárdico com ausência de alterações histológicas (Grau 0)

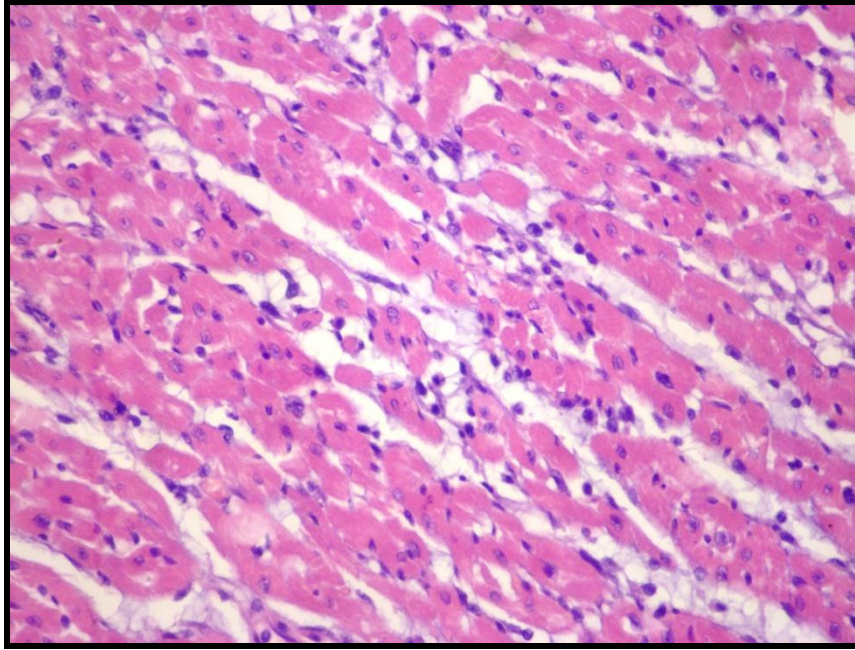


Figura 9 - Estudo histopatológico demonstrando tecido miocárdico com alterações histológicas leves (Grau 1)

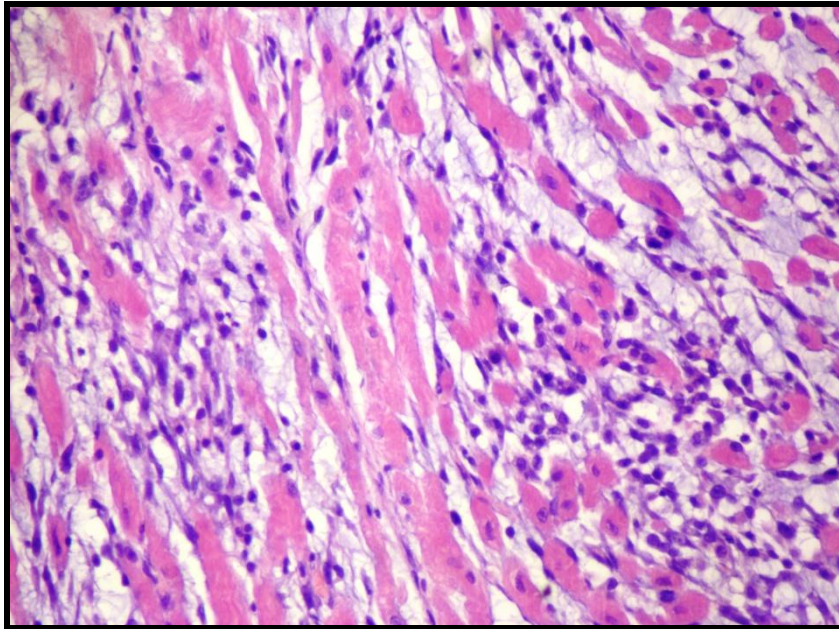


Figura 10 - Estudo histopatológico demonstrando tecido miocárdico com alterações histológicas moderadas (Grau 2)



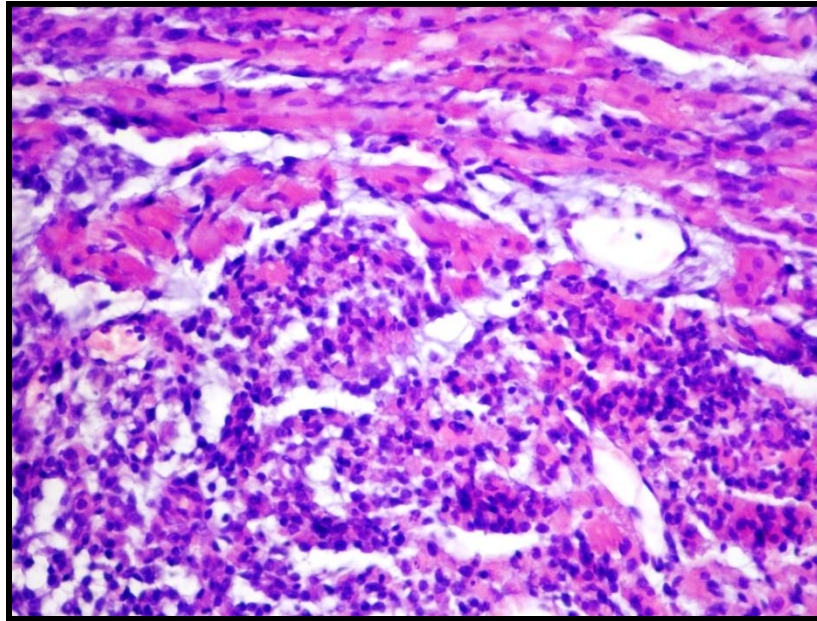


Figura 11 – Estudo histopatológico demonstrando alterações histológicas acentuadas (Grau 3)

### 3.7. Avaliação da atividade da enzima catalase no miocárdio

A atividade da catalase foi realizada no Laboratório de Neurofarmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Vinte  $\mu\text{L}$  do homogenato do tecido a 5% em tampão fosfato (50mM, Ph=7) foram adicionados a 2 mL de tampão fosfato de potássio (50mM, pH=7) contendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  10mM. A atividade da catalase foi definida como a quantidade da enzima requerida para decompor 1 nmol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por minuto, a 25 °C e pH=7. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 230 nm. Os resultados foram expressos como milimols por minuto por grama de tecido (mmol/min.g tecido).

### 3.8. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* estatístico SPSS® para *Windows* (v.16, SPSS Inc. Chicago, IL). As variáveis quantitativas que apresentaram distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov foram apresentadas por média e desvio padrão. A troponina e a escala histológica de lesão miocárdica foram as únicas variáveis que não apresentaram distribuição normal, sendo representada pela mediana e pelo intervalo interquartil.

Para a comparação dos grupos em relação à troponina e à escala histológica de lesão miocárdica foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney. O teste *t* de

Student foi realizado para comparação das médias entre os grupos de todas as outras variáveis.

Os resultados foram expressos em forma de tabelas e gráficos, os quais foram elaborados com o software GraphPad® (v.5, GraphPad Software, San Diego, CA).

Em todas as análises estabeleceu-se 0,05 como probabilidade  $\alpha$  do erro tipo I, sendo considerado estatisticamente significativo o valor de  $p < 0,05$  (IC 95%).

## 4. RESULTADOS

A descrição dos resultados está dividida em três etapas. Inicialmente é exposta a comparação entre os grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO com o intuito de se avaliar os efeitos decorrentes do IM induzido por isoproterenol em ratos, na dose de 120mg/kg por dia durante dois dias. Em uma segunda etapa, comparam-se os resultados entre os grupos SALINA-INFARTO e DMSO, com o fito de se averiguar, em ratos infartados, a influência do uso do DMSO sobre os diversos parâmetros estudados. Em uma terceira etapa, comparam-se os resultados entre os grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA, com o objetivo de se analisar, a influência do uso da ternatina dissolvida em DMSO em ratos infartados.

### 4.1 Avaliação dos efeitos do infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos, por meio da comparação entre os grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.

#### 4.1.1. Mortalidade

Não houve mortalidade no grupo SIMULADO, enquanto a mortalidade no grupo SALINA-INFARTO foi de 25%.

#### 4.1.2. Concentrações séricas de TGO e TGP

A concentração sérica média de TGO foi  $106,86 \pm 30,09$  U/L no grupo SIMULADO e  $253,17 \pm 149,02$  U/L no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,016$ ) (FIGURA 12).

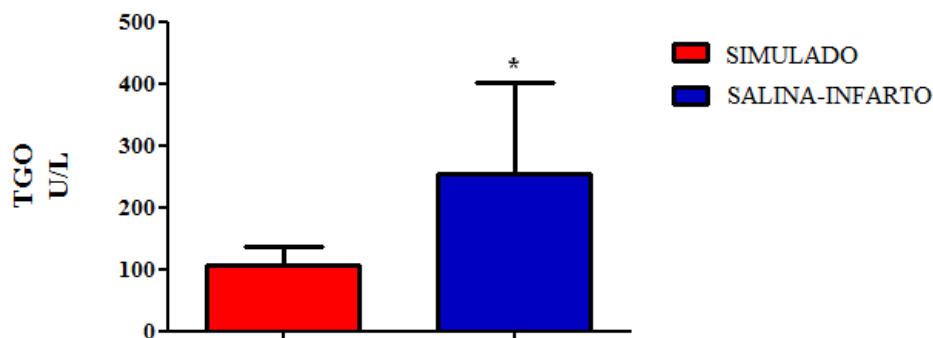


Figura 12. Média e desvio padrão das concentrações séricas de TGO (U/L) nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.

\*  $p=0,016$

A concentração sérica média de TGP foi  $23,98 \pm 5,50$  U/L no grupo SIMULADO e  $62,68 \pm 41,62$  U/L no grupo INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,022$ ) (FIGURA 13).

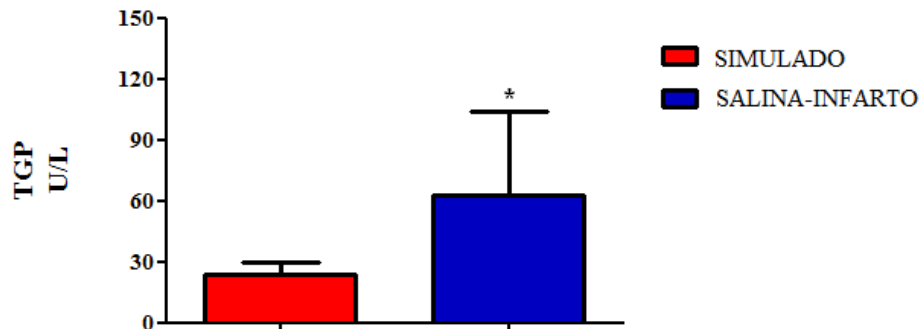


Figura 13. Média e desvio padrão das concentrações séricas de TGP (U/L) nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO  
\* $p=0,022$

#### 4.1.3. Concentrações séricas de troponina I

A mediana da concentração sérica de troponina I foi 0,015 ng/mL e intervalo interquartil de 0,02 ng/mL no grupo SIMULADO e 2,54 e intervalo interquartil de 13,32 ng/mL no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,002$ ) (FIGURA 14 ).

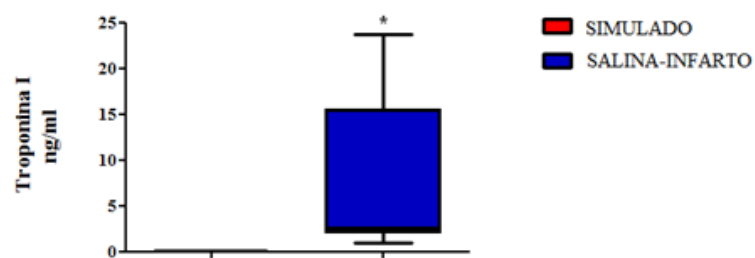


Figura 14 . Mediana e intervalo interquartil das concentrações séricas de troponina I (ng/mL) nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.  
\*  $p=0,002$

#### 4.1.4. Concentrações séricas de hemoglobina

A concentração média de hemoglobina foi  $13,25 \pm 0,55$  mg/dL no grupo SIMULADO e  $15,15 \pm 0,56$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,000$ ) (FIGURA 15).

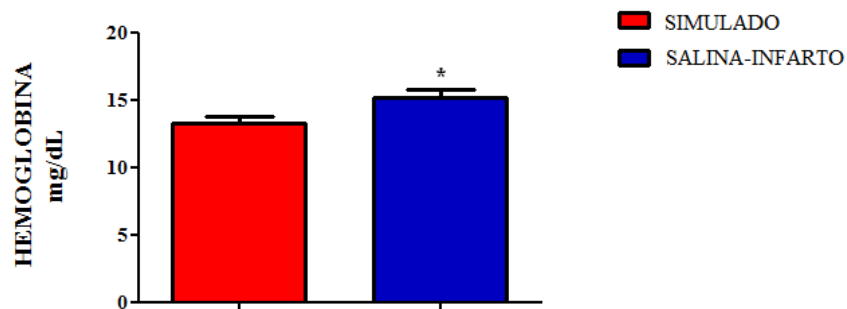


Figura 15 . Média e desvio padrão das concentrações séricas de hemoglobina (mg/dL) nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO ( $p=0,000$ ).

#### 4.1.5. Contagens de leucócitos e neutrófilos no sangue

A contagem média de leucócitos por  $\text{mm}^3$  de sangue foi  $5.918 \pm 815$  no grupo SIMULADO e  $11.634 \pm 2.504$  no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,000$ ) (FIGURA 16).

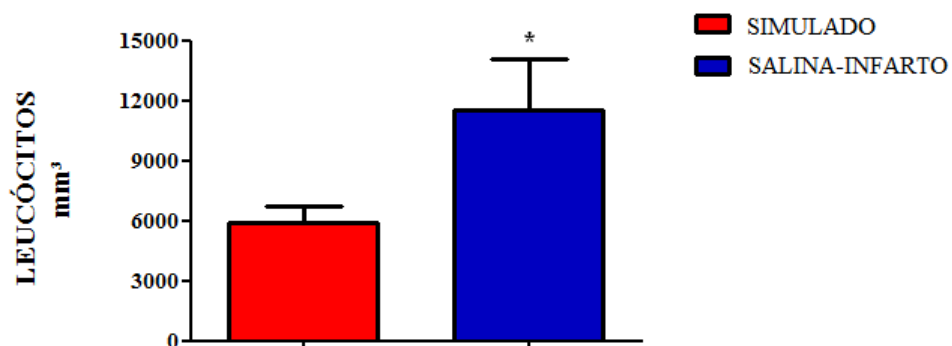


Figura 16 . Média e desvio padrão das contagens de leucócitos por  $\text{mm}^3$  de sangue nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.

\*  $p=0,000$

A contagem média de neutrófilos por  $\text{mm}^3$  de sangue foi  $711,5 \pm 148,7$  no grupo SIMULADO e  $3921 \pm 1286$  no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,000$ ) (FIGURA 17).

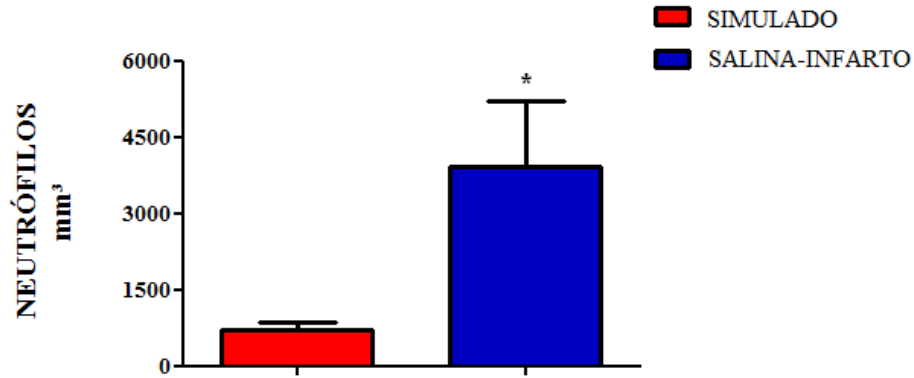


Figura 17. Média e desvio padrão das contagens de neutrófilos por  $\text{mm}^3$  de sangue nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.

\* $p=0,000$

#### 4.1.6. Concentrações séricas de uréia e creatinina

A concentração sérica média de uréia foi  $29,50 \pm 5,55$  mg/dL no grupo SIMULADO e  $55,00 \pm 2,82$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,000$ ) (FIGURA 18).

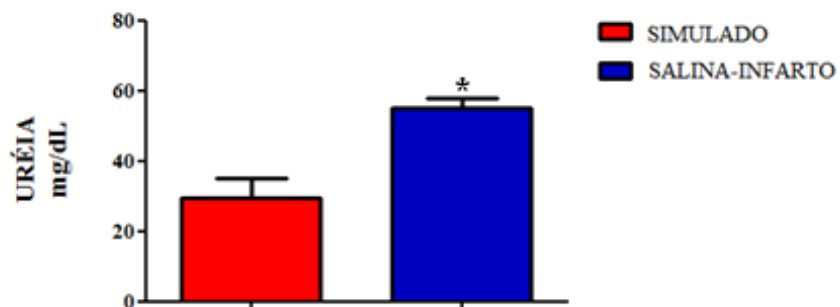


Figura 18. Média e desvio padrão das concentrações séricas de uréia (mg/dL) nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.

\*  $p=0,000$

A concentração média de creatinina foi  $0,43 \pm 0,17$  mg/dL no grupo SIMULADO e  $0,66 \pm 0,51$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,007$ ) (FIGURA 19).

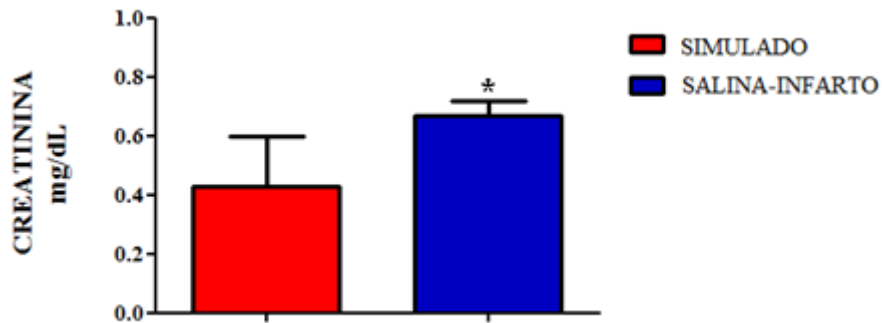


Figura 19. Média e desvio padrão das concentrações séricas de creatinina (mg/dL) nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO

\* $p=0,007$

#### 4.1.7. Atividade da enzima catalase no tecido miocárdico

A média de atividade da enzima catalase no tecido miocárdico foi  $397 \pm 183$  mmol/min.g no grupo SIMULADO e  $183 \pm 43,02$  mmol/min.g no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,017$ ) (FIGURA 20).

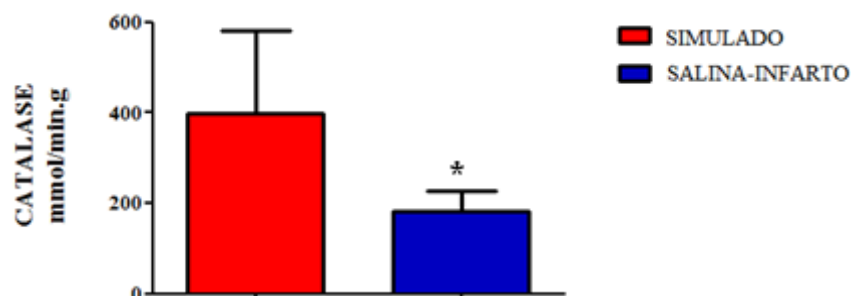


Figura 20. Média e desvio padrão das atividades da enzima catalase (mmol/min.g) nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO.

\*  $p=0,017$

#### 4.1.8. Alterações histopatológicas no miocárdio

O grupo SALINA-INFARTO apresentou maior pontuação na escala histológica de lesão miocárdica em relação ao grupo SIMULADO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,001$ ). TABELA 1.

Tabela 1. Comparação entre os grupos SIMULADO e INFARTO quanto ao grau histológico de lesão miocárdica

	MEDIANA	INTERVALO INTERQUARTIL
SIMULADO	0	0
SALINA-INFARTO	3 <sup>*</sup>	3

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à escala histológica de lesão miocárdica

\*  $p=0,001$



4.2. Efeito do uso do pré-condicionamento com DMSO em ratos infartados. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e DMSO.

#### 4.2.1. Mortalidade

A mortalidade no grupo SALINA-INFARTO foi de 25% e no grupo DMSO de 12,5%.

#### 4.2.2. Concentrações séricas de TGO e TGP

A concentração sérica média de TGO foi  $253,17 \pm 149,02$  U/L no grupo SALINA-INFARTO e  $180,00 \pm 46,34$  U/L no grupo DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,241$ ) (FIGURA 21).

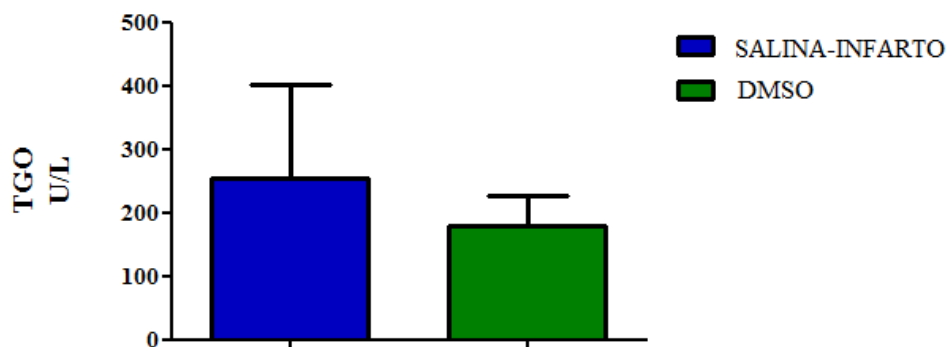


Figura 21. Média e desvio padrão das concentrações séricas de TGO (U/L) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO ( $p=0,241$ ).

A concentração sérica média de TGP foi  $62,68 \pm 41,62$  U/L no grupo SALINA-INFARTO e  $38,04 \pm 11,64$  U/L no grupo DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,160$ ) (FIGURA 22).

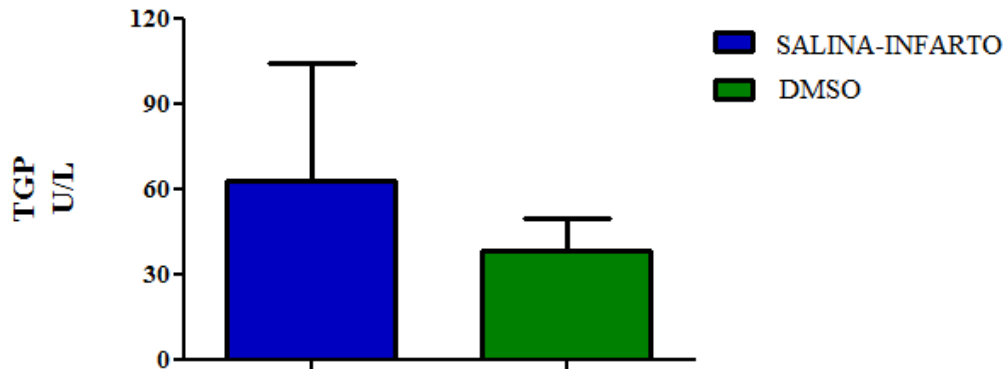


Figura 22. Média e desvio padrão das concentrações séricas de TGP (U/L) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO ( $p=0,160$ ).

#### 4.2.3. Concentrações séricas de troponina I

A mediana da concentração sérica de troponina I foi 2,54 ng/mL e intervalo interquartil de 13,32 ng/mL no grupo SALINA-INFARTO e 0,97 ng/mL e intervalo interquartil de 0,77 ng/mL no grupo DMSO, sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p=0,007$ ) (FIGURA 23).

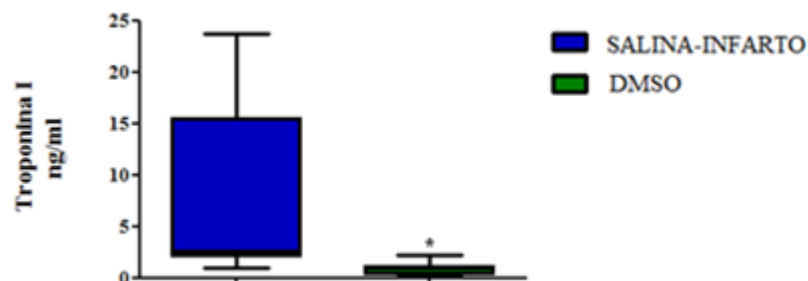


Figura 23. Mediana e intervalo interquartil das concentrações séricas de troponina I (ng/mL) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO

\* $p=0,007$

#### 4.2.4. Concentrações séricas de hemoglobina

A concentração média de hemoglobina foi  $15,15 \pm 0,56$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO e  $14,55 \pm 1,41$  mg/dL no grupo DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,360$ ) (FIGURA 24).

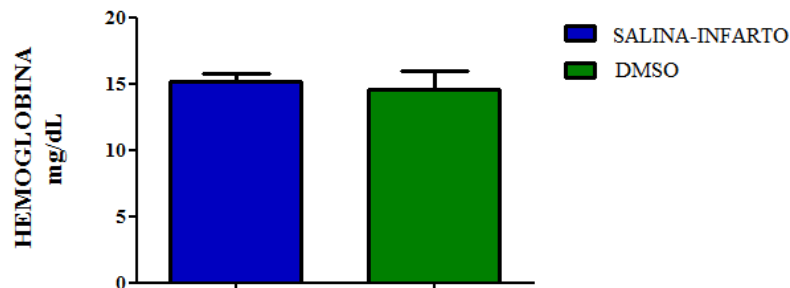


Figura 24. Média e desvio padrão das concentrações séricas de hemoglobina (mg/dL) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO ( $p=0,360$ ).

#### 4.2.5. Contagens de leucócitos e neutrófilos no sangue

A contagem média de leucócitos por  $\text{mm}^3$  de sangue foi  $11.634 \pm 2.504$  no grupo SALINA-INFARTO e  $9.828 \pm 1.991$  no grupo DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p= 0,194$ ) (FIGURA 25).

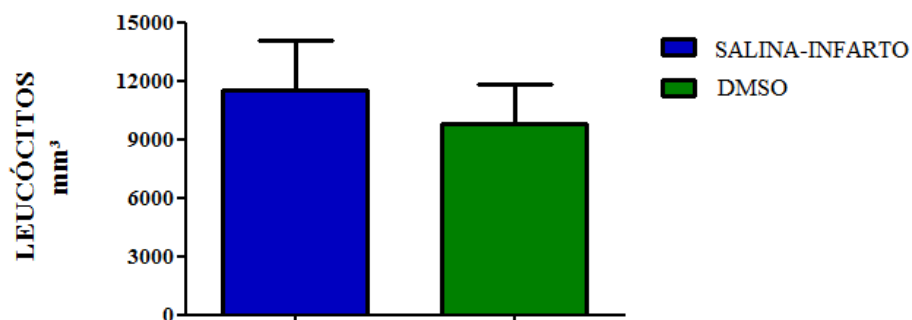


Figura 25 . Média e desvio padrão das contagens de leucócitos por  $\text{mm}^3$  de sangue nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO ( $p=0,194$ ).

A contagem média de neutrófilos por  $\text{mm}^3$  de sangue foi  $3.921 \pm 1286$  no grupo SALINA-INFARTO e  $2.898 \pm 1675$  no DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,194$ ) (FIGURA 26).

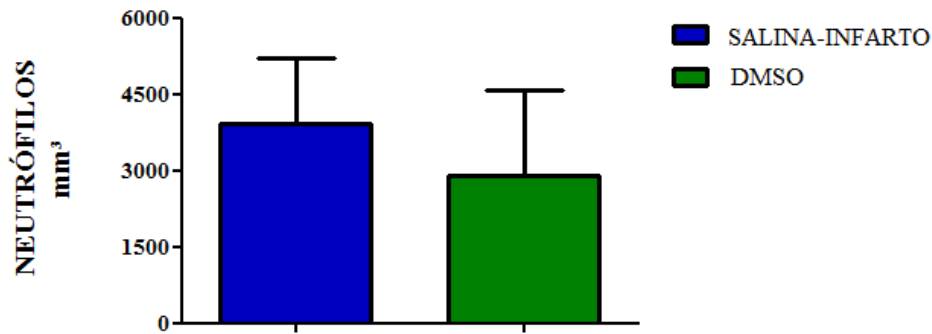


Figura 26. Média e desvio padrão das contagens de neutrófilos por  $\text{mm}^3$  de sangue nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO ( $p=0,194$ ).

#### 4.2.6. Concentrações séricas de uréia e creatinina

A concentração sérica média de uréia foi  $55,00 \pm 2,82$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO e  $49,85 \pm 9,37$ mg/dL no grupo DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,224$ ) (FIGURA 27).

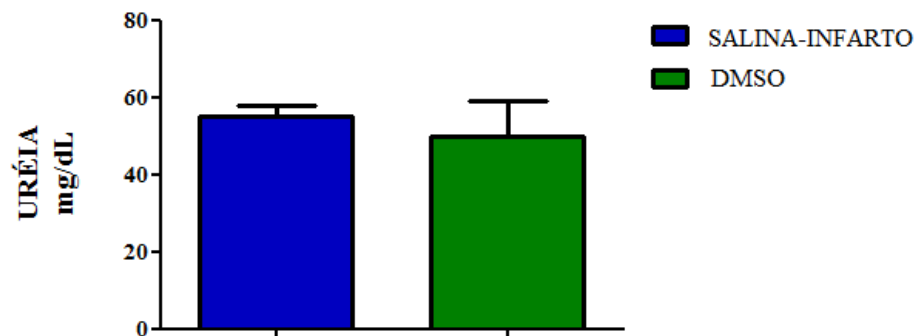


Figura 27. Média e desvio padrão das concentrações séricas de uréia (mg/dL) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.

A concentração sérica média de creatinina foi  $0,66 \pm 0,05$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO e  $0,65 \pm 0,11$  mg/dL no grupo DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,854$ ) (FIGURA 28).

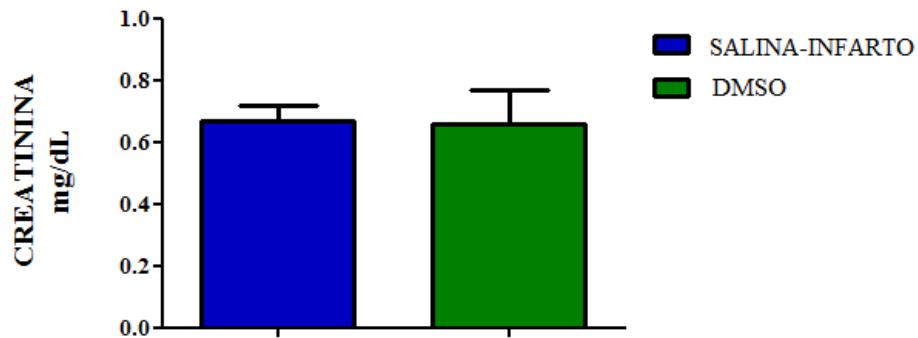


Figura 28. Média e desvio padrão das concentrações séricas de creatinina (mg/dL) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO ( $p=0,854$ ).

#### 4.2.7. Atividade da enzima catalase no tecido miocárdico

A média de atividade da enzima catalase no miocárdio foi  $183 \pm 43,02$  mmol/min.g no grupo SIMULADO e  $236 \pm 70,73$  mmol/min.g no grupo DMSO, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,138$ ) (FIGURA 29).

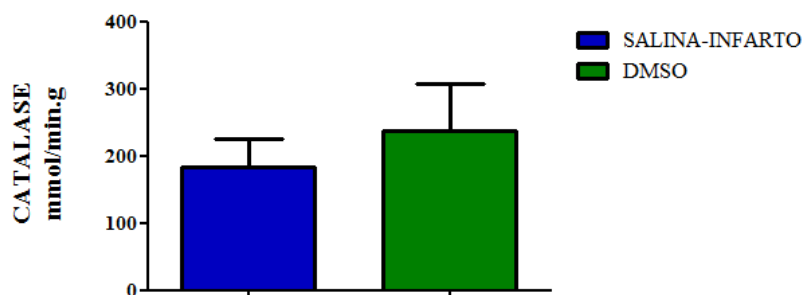


Figura 29. Média e desvio padrão das atividades da enzima catalase (mmol/min.g) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO ( $p=0,138$ ).

#### 4.2.8. Alterações histopatológicas no miocárdio

O grupo SALINA-INFARTO apresentou pontuação semelhante na escala histológica de lesão miocárdica em relação ao grupo DMSO ( $p=0,073$ ). TABELA 2.

Tabela 2. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e DMSO quanto ao grau histológico de lesão miocárdica

	MEDIANA	INTERVALO INTERQUARTIL
SALINA-INFARTO	3	3
DMSO	2	2 – 3

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à escala histológica de lesão miocárdica ( $p=0,073$ )

4.3. Efeito do pré-condicionamento com ternatina e DMSO em ratos infartados. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.

#### 4.3.1. Mortalidade

A mortalidade do grupo SALINA-INFARTO foi de 25%, enquanto no grupo TERNATINA não houve mortalidade.

#### 4.3.2. Concentrações séricas de TGO e TGP

A concentração sérica média de TGO foi  $253,17 \pm 149,02$  U/L no grupo SALINA-INFARTO e  $113,56 \pm 27,25$  U/L no grupo TERNATINA, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,022$ ) (FIGURA 30).

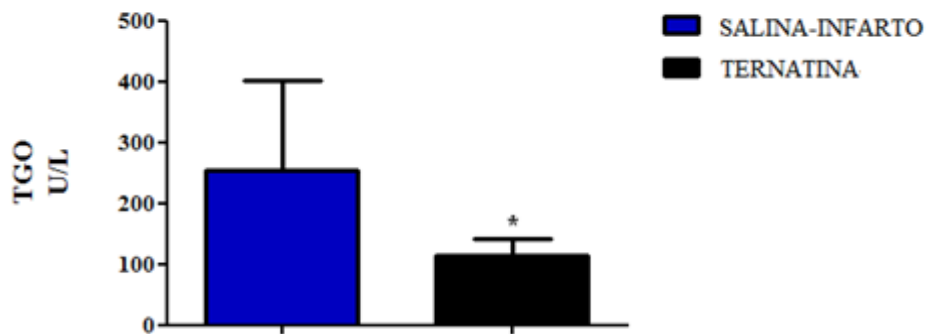


Figura 30. Média e desvio padrão das concentrações séricas de TGO (U/L) nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.

\*  $p=0,022$

A concentração sérica média de TGP foi  $62,68 \pm 41,62$  U/L no grupo SALINA-INFARTO e  $41,86 \pm 8,69$  U/L no grupo TERNATINA, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,189$ ) (FIGURA 31).

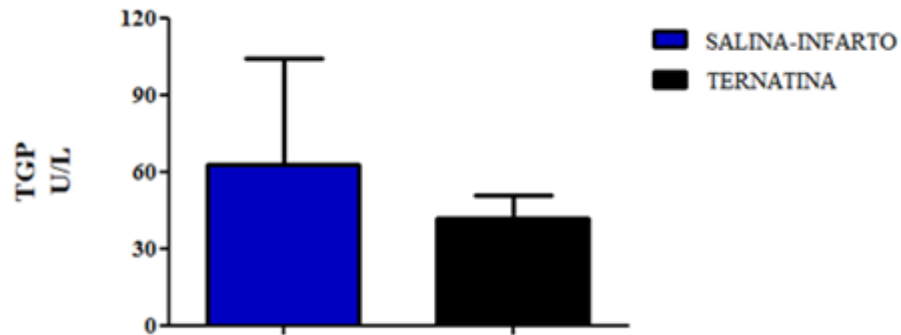


Figura 31. Média e desvio padrão das concentrações séricas de TGP (U/L) nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA ( $p=0,189$ ).

#### 4.3.3. Concentrações séricas de troponina I

A mediana da concentração sérica de troponina I foi 2,54 ng/mL e intervalo de interquartil de 13,32 ng/mL no grupo SALINA-INFARTO e 0,31ng/mL e intervalo interquartil de 0,94 ng/mL no grupo TERNATINA, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,004$ ) (FIGURA 32).

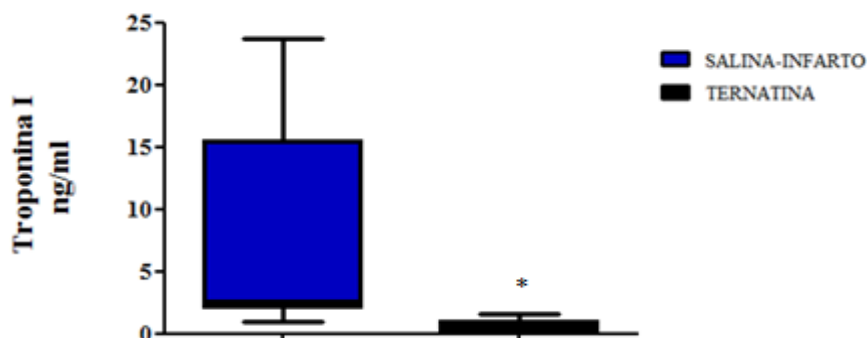


Figura 32. Mediana e intervalo interquartil das concentrações séricas de troponina I (ng/mL) nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA.

\*  $p=0,004$



#### 4.3.4. Concentrações séricas de hemoglobina

A concentração média de hemoglobina foi  $15,15 \pm 0,56$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO e  $15,47 \pm 1,16$  mg/dL no grupo TERNATINA, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,543$ ) (FIGURA 33).

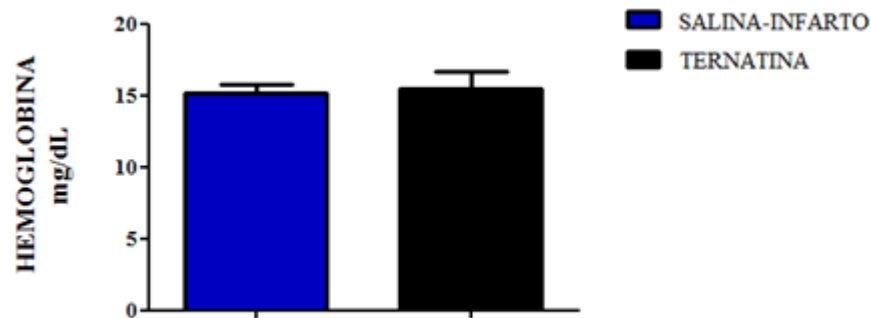


Figura 33. Média e desvio padrão das concentrações séricas de hemoglobina (mg/dL) nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA ( $p=0,543$ ).

#### 4.3.5. Contagens de leucócitos e neutrófilos no sangue

A contagem média de leucócitos por  $\text{mm}^3$  de sangue foi  $11.634 \pm 2.504$  no grupo SALINA-INFARTO e  $9.275 \pm 2522$  no grupo TERNATINA, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,120$ ) (FIGURA 34).

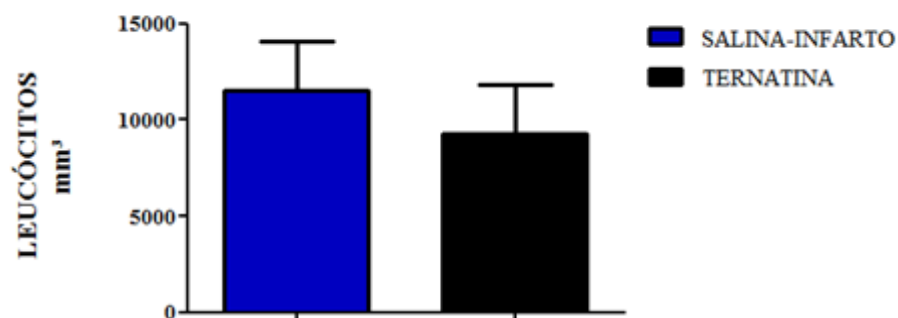


Figura 34. Média e desvio padrão das contagens de leucócitos por  $\text{mm}^3$  de sangue nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA ( $p=0,120$ ).

A contagem média de neutrófilos por  $\text{mm}^3$  de sangue foi  $3.921 \pm 1.286$  no grupo SALINA-INFARTO e  $3.206 \pm 1875$  no grupo TERNATINA, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,440$ ) (FIGURA 35).

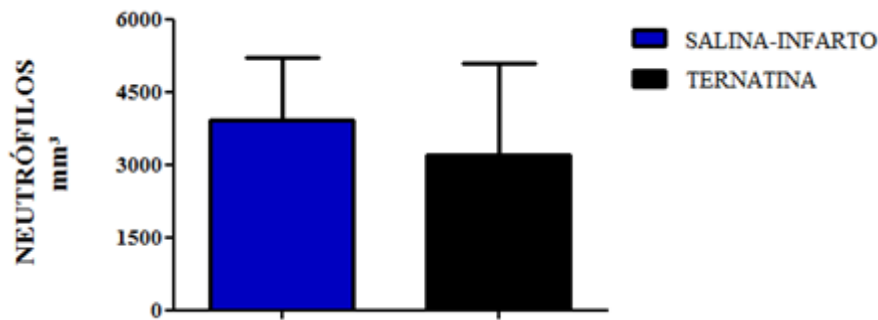


Figura 35. Média e desvio padrão das contagens de neutrófilos por  $\text{mm}^3$  de sangue nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA ( $p=0,440$ ).

#### 4.3.6. Concentrações séricas de uréia e creatinina

A concentração média de uréia foi  $55,00 \pm 2,82$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO e  $40,75 \pm 8,18$  mg/dL no grupo TERNATINA, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,002$ ) (FIGURA 36).

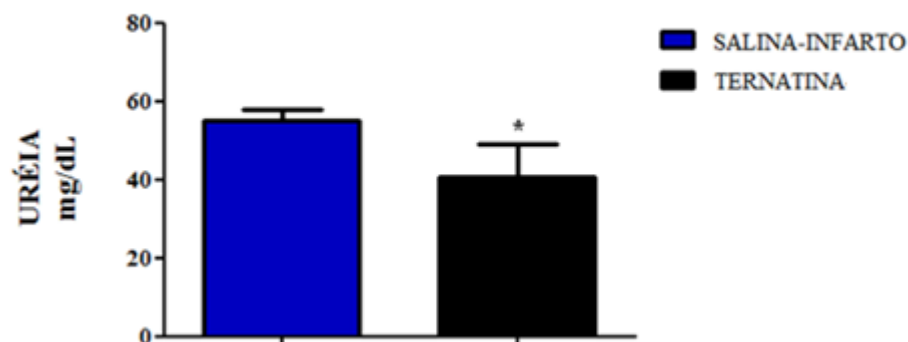


Figura 36. Média e desvio padrão das concentrações séricas de uréia (mg/dL) nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA

\* $p=0,002$

A concentração média de creatinina foi  $0,66 \pm 0,05$  mg/dL no grupo SALINA-INFARTO e  $0,67 \pm 0,07$  mg/dL no grupo TERNATINA, não havendo diferença estatisticamente significativa ( $p=0,812$ ) (FIGURA 37).

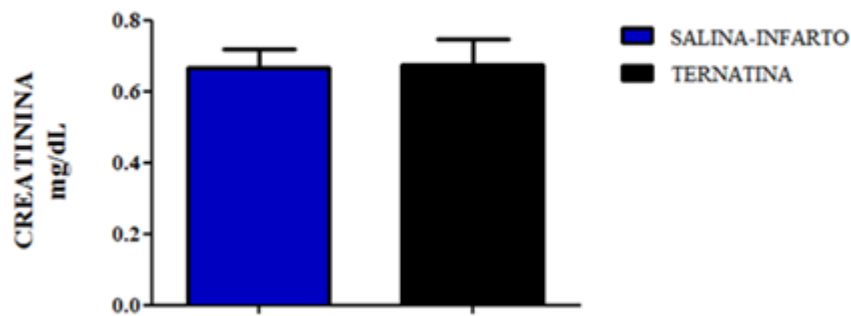


Figura 37. Média e desvio padrão das concentrações séricas de creatinina (mg/dL) nos grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA ( $p=0,812$ ).

#### 4.3.7. Atividade da enzima catalase no tecido miocárdico

A média de atividade da enzima catalase no tecido miocárdico foi de  $183 \pm 43$  mmol/min.g no grupo SALINA-INFARTO e  $390 \pm 70$  mmol/min.g no grupo TERNATINA, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,000$ ) (FIGURA 38).

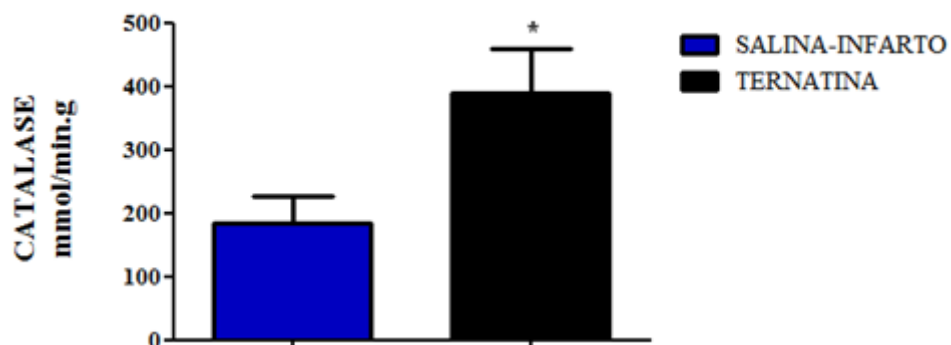


Figura 38. Média e desvio padrão das atividades da enzima catalase (mmol/min.g) nos grupos SALINA-INFARTO e DMSO.

\*  $p=0,000$

#### 4.3.8. Alterações histopatológicas no miocárdio

Os grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA apresentaram diferença estatisticamente significativa de pontuação na escala histológica de lesão miocárdica ( $p=0,013$ ). TABELA 3.

Tabela 3. Comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA quanto ao grau histológico de lesão miocárdica

	MEDIANA	INTERVALO INTERQUARTIL
SALINA-INFARTO	3	3
TERNATINA-DMSO	2*	1 – 2

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos quanto à escala histológica de lesão miocárdica ( $p=0,013$ )

## 5. DISCUSSÃO

Este estudo foi realizado com o intuito de avaliar o potencial efeito da ternatina sobre a injúria miocárdica induzida por isoproterenol em ratos. Além da ternatina foi testado o DMSO, outra droga removedora de radicais livres.

Utilizamos o rato como animal de experimentação por tratar-se de um mamífero de baixo custo de manutenção, com alta resistência a infecção (FESTING, 1979). Estudos prévios utilizaram o rato para análise dos efeitos de outros flavonóides em modelos de injúria miocárdica (PRINCE e SATHIA, 2010) e da ternatina em outros tecidos, tais como, injúria hepática (SOUZA MELO, 2006) e injúria testicular (GUIMARÃES, 2005).

Utilizou-se, no presente estudo, a anestesia por administração de cetamina (50mg/Kg) e xilazina (10mg/Kg) por via intraperitoneal em todos os animais, precedida por um jejum de 12 horas, antes da realização do sacrifício.

A cetamina é um anestésico geral de ação rápida que produz um estado anestésico caracterizado por profunda analgesia mas com reflexos laringofaríngeos preservados. É conhecido como um anestésico dissociativo, pelo fato de interromper seletivamente o percurso das vias associativas cerebrais, antes de ser estabelecido o bloqueio somestésico. É muito utilizado para anestesia em pequenos animais. A xilazina provoca nos animais um estado de sedação e um alto grau de analgesia. A analgesia é produzida por estimulação dos alfa-receptores periféricos e centrais. A sedação é induzida, principalmente por estimulação dos alfa-2-receptores centrais (FLECKNELL, 1994).

Optou-se, neste estudo, por utilizar o modelo em que a injúria miocárdica é induzida pelo isoproterenol. Tal modelo é utilizado desde a década de 1970, com o intuito de se avaliar os efeitos de diferentes drogas no contexto da lesão miocárdica, tendo-se mostrado um modelo prático e eficaz (BLOOM; DAVIS, 1972).

O isoproterenol é um potente agonista não seletivo de todos os receptores  $\beta$ . É uma catecolamina que causa dano severo ao miocárdio gerando necrose semelhante à produzida no IAM em humanos (WEXLER, 1978).

Estudos com modelo experimental de IM induzido por isoproterenol em ratos, demonstram que doses entre 85 e 150 mg/kg do animal por dia, durante dois dias, são eficazes em induzir o dano miocárdico (GRIMM *et al.*, 1998). Em recente estudo desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa foi avaliado a dose de 150 mg/kg de isoproterenol para indução de IM em ratos (LOBO FILHO, 2011). Iniciamos o presente estudo utilizando a

dose de 150mg/kg, entretanto houve mortalidade excessiva em todos os grupos, o que atribuímos a maior peso e idade dos animais em relação ao estudo anterior, e por isso passamos a utilizar a dose de 120mg/kg por via subcutânea.

Dentre os vários mecanismos propostos para explicar o dano miocárdio induzido pelo isoproterenol, a geração de radicais livres altamente citotóxicos, decorrentes da auto-oxidação de catecolaminas, tem sido implicada como um dos importantes fatores causadores (BLOOM; DAVIS,1972).

Utilizamos neste estudo duas drogas com reconhecida atividade antioxidante, a ternatina e o DMSO. A ternatina, objeto principal da nossa análise, e o DMSO, o qual foi utilizado como solvente para administração de ternatina e em um grupo com injeção de DMSO isoladamente, para avaliar a influência do DMSO na injúria miocárdica.

A ternatina é um flavonóide extraído da planta *Egletes viscosa*, vegetal comum no nordeste brasileiro (VIEIRA, 2006). É uma herbácea anual que cresce ao longo das margens dos cursos d'água, após o inverno (SOUZA *et. al.*, 1994; LIMA, 1996). Suas flores e sementes são as regiões detentoras das características medicinais da planta (MATOS, 1990). O processo de obtenção e manuseio de sementes, bem como o processo de formação de mudas a partir das sementes são etapas que apresentam dificuldades (BEZERRA *et. al.*, 2002). Além disso, foi observado que a produção e a composição química deste espécime variam conforme a época da colheita (BEZERRA *et. al.*, 2008). Dessa forma observamos complexidade para obtenção dessa substância.

A ternatina já foi testada em outros modelos de injúria tecidual. A dose total dessa substância utilizada por Guimarães (2005) para avaliar sua ação em modelo de torção testicular em ratos foi de 30 mg/Kg do animal, administrada por via intraperitoneal durante um período de 24 horas. Souza Melo (2006), em modelo de regeneração hepática, utilizou dose de 1mg/Kg do animal com administração diária durante 14 dias da droga por via intraperitoneal. Afora o estudo de Souza Melo todos os demais estudos sobre a ternatina utilizaram doses entre 12 a 50 mg/Kg da ternatina, porém com menor tempo de tratamento ou pré-condicionamento (MELO, 1991; RAO *et. al.*, 1997; GUIMARÃES, 2005; VIEIRA *et. al.*, 2006) . Optamos por utilizar uma dose diária de 1mg/Kg do animal administrada por via intraperitoneal durante 14 dias com base no estudo de Souza Melo (2006). A via intraperitoneal foi adotada devido ser esta a forma de administração mais comum nos estudos com ternatina.

A ternatina foi diluída em DMSO 3%, fundamentado no trabalho de RAO *et al.* (2003). Concentrações variáveis da diluição do DMSO (2% a 3%) foram utilizadas por Souza

(1993), Rao *et al.* (1997), Souza *et al.* (1999) e Rao *et al.* (2003). A partir de 1997 esses pesquisadores utilizaram, como padrão, a diluição da ternatina em solução contendo 3% de DMSO. Em nosso estudo, a mesma solução de DMSO a 3% utilizada para diluir a ternatina foi utilizada no grupo DMSO, para avaliar o efeito isolado do DMSO no modelo de injúria miocárdica em questão e, portanto, saber a influência do DMSO nos resultados obtidos com solução ternatina diluída em DMSO.

Para a validação do modelo de injúria miocárdica induzida pelo isoproterenol compararam-se os resultados obtidos nos grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO, ambos submetidos à administração de solução salina 0,9% (0,2 ml) por via intraperitoneal por 14 dias, com falsa indução de IM no grupo SIMULADO e com indução de IM no grupo SALINA-INFARTO.

Não houve mortalidade no grupo SIMULADO, enquanto no grupo SALINA-INFARTO, a mortalidade foi de 25%, o que está de acordo com os dados da literatura que mostram mortalidade média de 30%, no IM induzido por isoproterenol em ratos (WEXLER, 1978).

Houve aumento significativo dos níveis séricos de TGO, TGP, troponina, uréia, creatinina, leucócitos e neutrófilos nos ratos infartados. Tais achados corroboram com outros estudos que mostraram resultados semelhantes (AHMED; RANA; DIXIT, 2004; VIMAL; DEVAKI, 2004; ACIKEL *et al.*, 2005). Os níveis plasmáticos dos marcadores de lesão miocárdica estudados no presente estudo são positivamente relacionados ao grau de lesões necróticas presentes no miocárdio, e dessa forma servem como bons marcadores de dano ao tecido miocárdio (GEETHA; SANKAR; THANKAMANI, 1990; ACIKEL *et al.*, 2005).

A média de atividade da enzima catalase no tecido miocárdico foi  $397 \pm 183$  mmol/min.g no grupo SIMULADO e  $183 \pm 43,02$  mmol/min.g no grupo SALINA-INFARTO, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,017$ ). A atividade da enzima catalase no tecido miocárdico é diminuída na vigência de estresse isquêmico (RATHORE *et al.*, 2000), o que foi corroborado por este estudo.

A análise histopatológica do ápice do ventrículo esquerdo não mostrou alterações no grupo SIMULADO enquanto no grupo SALINA-INFARTO foi detectado alterações acentuadas, caracterizadas por necrose miocárdica, degeneração mio-fibrilar difusa e alterações inflamatórias disseminadas, demonstrando adequada indução do IM neste estudo.

A influência da administração de isoproterenol sobre os níveis de hemoglobina é pouco citada na literatura. Sangeetha e Quine (2008) observaram um aumento na contagem total de eritrócitos e concentrações de hemoglobina em ratos submetidos à indução de IM com isoproterenol. No presente estudo houve aumento significativo da concentração de

hemoglobina nos ratos do grupo SALINA-INFARTO comparados aos ratos do grupo SIMULADO.

O modelo foi adequadamente validado, haja vista que, na comparação entre os grupos SIMULADO e SALINA-INFARTO, a administração subcutânea de isoproterenol gerou mortalidade, ocasionou aumento dos marcadores de lesão miocárdica TGO, TGP, troponina I, reduziu a atividade da enzima catalase no tecido miocárdico e induziu alterações histopatológicas como processo inflamatório, degeneração miofibrilar e necrose. Além desses achados, causou aumento das contagens de leucócitos, neutrófilos e das concentrações séricas de hemoglobina, uréia e creatinina.

Após a validação do modelo de indução do infarto do miocárdio em ratos utilizando isoproterenol na dose de 120mg/kg, passaremos a discutir o efeito do DMSO e da TERNATINA comparando-os com o grupo SALINA-INFARTO.

Os ratos do grupo DMSO foram tratados com DMSO 3%, na dose de 3,3mg/Kg do animal, por via intraperitoneal, durante 14 dias, sendo submetidos à indução do IM por isoproterenol nos dias 13 e 14.

A inclusão de um grupo submetido ao pré-condicionamento apenas com DMSO se fez necessário visto que esta droga foi utilizada como diluente para compor a solução de ternatina e por apresentar efeitos antioxidantes e antiinflamatórios que poderiam contribuir para proteção miocárdica. Dessa forma, por meio da comparação entre os grupos SALINA-INFARTO e DMSO, foi avaliado o efeito dessa substância neste modelo experimental

A mortalidade no grupo DMSO foi de 12,5% e no grupo SALINA- INFARTO foi de 25%. Dos demais parâmetros avaliados apenas a troponina mostrou diferença estatisticamente significativa. Houve uma redução importante da troponina no grupo DMSO em relação ao grupo SALINA-INFARTO. A mediana da concentração sérica de troponina I foi 2,54 ng/mL e intervalo interquartil de 13,32 ng/mL no grupo SALINA-INFARTO e 0,97 ng/mL e intervalo interquartil de 0,77 ng/mL no grupo DMSO, sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p=0,007$ ).

O DMSO apresenta ação antiinflamatória resultante de mecanismos múltiplos, tais como: inibição da cascata do ácido aracdônico (STONE, 1993), inibição da infiltração de polimorfonucleares (ALSUP, 1984). Além disso, Brayton (1986) demonstrou que o DMSO tem efeito anti-agregante plaquetário. Outra importante ação do DMSO é como removedor de radicais livres. O DMSO tem propriedade de neutralizar a ação lesiva dos radicais hidroxila (ARDEN at al. 1989; MACKAY, 1992). Apresenta ainda ação vasodilatadora, resultante de



ação histaminogênica (BRAYTON, 1986; STONE,1993) e anticolinesterásica (BRAYTON, 1986).

No presente estudo, os níveis de troponina do grupo DMSO foram menores que no grupo SALINA-INFARTO, havendo, portanto indícios de proteção desta droga sobre a injúria miocárdica induzida por isoproterenol. O mecanismo desta suposta proteção é incerto, mas pode estar associado aos efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antiagregantes e vasodilatadores já descritos em relação ao DMSO. Entretanto no que concerne à análise histológica e aos níveis de catalase, bem como nas concentrações de TGO, TGP, uréia, creatinina, hemoglobina, leucócitos e neutrófilos não houve diferença entre estes grupos.

A diminuição dos níveis de troponina observado no grupo DMSO foi estatisticamente significativa, entretanto nos pareceu estranho a não correspondência com os resultados obtidos nos outros parâmetros estudados. Uma redução dessa magnitude na troponina, um dos principais marcadores de injúria tecidual, deveria mostrar correspondente manutenção, por exemplo, da atividade da catalase, bem como menor grau de lesão histológica, o que não foi observado no estudo. Dessa forma inferimos que não houve proteção miocárdica conferida pelo DMSO, na dose de 3,3mg/Kg do animal, haja vista não ter influência sobre os níveis de TGO, não ter reduzido o grau de lesão histopatológica, bem como não ter conservado a atividade da catalase.

Na avaliação dos efeitos do pré-condicionamento com TERNATINA em ratos infartados, comparando-se os grupos TERNATINA e SALINA-INFARTO, detectou-se que o grupo tratado com essa substância não apresentou mortalidade, enquanto no grupo SALINA-INFARTO houve mortalidade de 25%.

A concentração sérica média de TGO foi  $253,17 \pm 149,02$  U/L no grupo SALINA-INFARTO e  $113,56 \pm 27,25$  U/L no grupo TERNATINA, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,022$ ). A enzima transaminase glutâmico-oxalacético (TGO) foi o primeiro marcador de injúria miocárdica utilizado, conforme estudo publicado em 1954 (LADUE *et al.*, 1954). No IM induzido por isoproterenol em ratos há um aumento da TGO conforme diversos trabalhos presentes na literatura (AHMED; RANA; DIXIT, 2004; VIMAL; DEVAKI, 2004; ACIKEL *et al.*, 2005).

A troponina é um dos marcadores de injúria miocárdica mais utilizados na prática clínica, com uma sensibilidade muito elevada (GODOY *et al.*, 1998). Estudos prévios demonstraram que kits para dosagem de troponina T e I pra humanos podem ser usados em ratos (CHOCRON *et al.* 1996).

No presente estudo, a mediana da concentração sérica de troponina I foi 2,54 ng/mL e intervalo de interquartil de 13,32 ng/mL no grupo SALINA-INFARTO e 0,31ng/mL e intervalo interquartil de 0,94 ng/mL no grupo TERNATINA, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,004$ ).

A ternatina além de ser reponsável por menor elevação da TGO e troponina I manteve a atividade da catalase no miocárdio dos ratos tratados. A média de atividade da enzima catalase no tecido miocárdico foi de  $183 \pm 43$  mmol/min.g no grupo SALINA-INFARTO e  $390 \pm 70$  mmol/min.g no grupo TERNATINA, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p=0,000$ ). Durante o IAM, radicais superóxido modulam a catalase resultando em perda da atividade dessa enzima e acúmulo de radicais superóxido, que causa dano ao miocárdio (SARAVANAN; PRAKASH, 2004). O pré-condicionamento com ternatina preservou a atividade da catalase no grupo TERNATINA indicando possível aumento da remoção de radicais superóxido, e dessa forma, reduzindo o dano miocárdico causado por radicais livres.

Na análise histopatológica do ápice do ventrículo esquerdo os grupos SALINA-INFARTO e TERNATINA apresentaram diferença estatisticamente significativa de pontuação na escala histológica de lesão miocárdica ( $p=0,013$ ).

Portanto a ternatina apresentou efeito protetor na injúria miocárdica induzida por isoproterenol, conforme demonstrado nos resultados dos marcadores de lesão miocárdica, no grau de lesão histopatológica, bem como na conservação da atividade da enzima catalase no tecido miocárdico.

A literatura aponta que outros flavonóides apresentam efeito protetor na injúria miocárdica. A rutina protegeu as enzimas lisossomais cardíacas em ratos submetidos à IM induzido por isoproterenol em ratos (STANLEY; PRIYA, 2010). Esse resultado foi devido ao seqüestro de radicais livres e à propriedade antioxidante dessa substância, bem como de sua capacidade de estabilizar a membrana celular, todas atribuídas a esse flavonóide.

Prince e Sathya (2010) observaram que a quercetina diminuiu a elevação do segmento ST e os níveis de produtos da peroxidação no plasma e no coração de ratos infartados com isoproterenol.

Punithavathi, Shanmugapriya e Prince (2010) observaram os efeitos protetores da rutina *in vivo* e *in vitro* em ratos que apresentavam cardiotoxicidade induzida por isoproterenol. Os mecanismos sugeridos para explicar essas constatações são: seqüestro de radicais livres, redução de peróxidos lipídicos e das concentrações de  $Ca^{++}$  cálcio, além do

aumento dos níveis de glutatona e trifosfato de adenosina (ATP) de forma a melhorar a estrutura e a função mitocondrial no coração.

Em estudos prévios, a ternatina exerceu ação protetora contra o estresse oxidativo em modelos experimentais em outros órgãos, tais como o fígado (SOUZA MELO, 2006) e testículo (GUIMARÃES, 2005). Foi demonstrado ainda que a ternatina previniu a cistite hemorrágica em ratos, induzida por ciclofosfamida e isofosfamida (VIEIRA, 2004), bem como a hepatotoxicidade induzida por acetaminofeno em camundongos (SOUZA, 1998).

A ternatina exerceu proteção inequívoca na injúria miocárdica induzida por isoproterenol no presente estudo. Seus efeitos sobre a atividade da catalase permitem inferir que o mecanismo protetor dessa substância esteja relacionado à sua atividade antioxidante.

O coração é um órgão altamente sensível a isquemia em comparação a outros órgãos. Tomando como exemplo a experiência em transplantes de órgãos, temos que um rim após ser retirado do doador pode ser utilizado em até 30 horas se adequadamente resfriado e embebido com soluções protetoras. O fígado também pode ser utilizado até 24 horas após a cirurgia de retirada do órgão, já o coração após 4 a 5 horas apresenta necrose importante e torna-se inviável para ser transplantado (DANOVITCH, 1996; JAMIESON *et al.*, 1987; BOURGE *et al.*, 1992). Uma droga que proteja o miocárdio do estresse oxidativo, que é um célula altamente exigente, poderia portanto ser utilizada como solução protetora e aumentar o tempo de isquemia sem lesão em todos os órgãos que são transplantados, incluindo o coração. Isso poderia beneficiar milhares de pacientes.

Estudos posteriores devem ser realizados em busca da dose ideal de ternatina, bem como descobrir uma maneira de tornar sua molécula solúvel em água, mantendo ou até potencializando sua atividade antioxidante.

## 6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados expostos, concluímos que o modelo de infarto do miocárdio induzido pela administração subcutânea de isoproterenol na dose de 120 mg/kg do animal por dia durante dois dias foi adequadamente reproduzido e validado e causou aumento de mortalidade e dos marcadores de lesão miocárdica TGO, TGP e troponina I, redução da atividade da catalase e alterações histopatológicas.

Concluímos que o pré-condicionamento com ternatina administrada por via intraperitoneal, na dose de 1 mg/kg de peso do animal, por catorze dias, apresentou efeitos protetores em ratos submetidos a infarto do miocárdio induzido por isoproterenol, uma vez que:

- Reduziu a mortalidade
- Atenuou as elevações de TGO e troponina I
- Preservou a atividade da enzima catalase no tecido miocárdico
- Reduziu o grau de alterações histopatológicas

## 7. REFERÊNCIAS

ACIKEL, M.; BUYUKOKUROGLU, M.E.; ERDOGAN, F.; AKSOY, H.; BOZKURT, E.; SENOCAK, H. Protective effects of dantrolene against myocardial injury induced by isoproterenol in rats: biochemical and histological findings. *Int J Cardiol*, v. 98, p.389–394, 2005.

ADAMS, J.E. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation*, v. 88, p.750-763, 1993.

AHMED, K.K.; RANA, A.C.; DIXIT, V.K. Effect of Calotropis procera latex on isoproterenol induced myocardial infarction in albino rats. *Phytomed*, v. 11, n. 4, p.327-330, 2004.

ALMEIDA, A.V. Plantas medicinais brasileiras usadas pelo Dr. João Ferreyra da Rosa na “Constituição Pestilencial de Pernambuco” no final do século XVII *Biotemas*, v.21, n.4, p.39-48, 2008.

ANANDAN, R.; MATHEW, S.; SANKAR, T.V.; VISWANATHA, N.P.G. Protective effect of n-3 polyunsaturated fatty acids concentrate on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, v. 76, n. 3, p.153-158, 2007.

ANDERSON, J.L. **ST.segment elevation acute myocardial infarction and complications of myocardial infarction.** In: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D.; (Eds.). *Cecil medicine*. Philadelphia: W.B.Saunders, 2008. cap. 72.

ARDEN, W.A.; STICK, J. A.; PARKS, A H.; CHOU, C.C.; SLOCOMBE, R.F. Effects of ischemia and dimethyl sulfoxide on equine jejunal vascular resistance, oxygen consumption, intraluminal pressure, and potassium loss. *Am. J. Vet. Res.* v.50, p.380-387, 1989.

BECKER, M.; BONAMIGO, T.P.; FACCINI, F.P. Avaliação da mortalidade cirúrgica em aneurismas infra-renais da aorta abdominal. *J Vasc Br*, v.1, n.1, p. 15-21, 2002.

BEZERRA, A.M.E.; FREITAS, J.B.S.; CUNHA, A.N.; MEDEIROS FILHO, S.; SILVEIRA, E.R. Germinação de sementes e época adequada de colheita dos capítulos florais de macela (*Egletes viscosa*). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v. 4, n. 2 , p. 7-11, 2002.

BEZERRA, A.M.E.; MEDEIROS FILHO, S.; FREITAS, J.B.S. Maturidade fisiológica e germinação de sementes de macela (*Egletes viscosa* (L.) Less.) submetidas à secagem. *Horticultura Brasileira*, v. 21, n. 3, p. 549-552, 2003.

BEZERRA A.M.E.; MEDEIROS FILHO S.; OLIVEIRA L.D.M.; SILVEIRA E.R. Produção e composição química da macela em função da época de colheita. *Horticultura Brasileira*, v.26, p. 26-9, 2008.

BHAGAT, B.; SULLIVAN, J.M.; FISCHER, V.W.; NADEL, E.M.; DHALLA, N.S. cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. **Recent Adv Stud Card Struct Metab**, v. 12, p.465–470, 1978.

BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonóides and isoflavonoids. **Pharmacology Therapeutics**, v.90, p.157-177, 2001.

BLOOM, S.; DAVIS, D.L. Calcium as mediator of isoproterenol-induced myocardial necrosis. **Am J Pathol**, v. 69, p.459-470, 1972.

BORS, W.; MICHAEL, C.; SARAN, M.; LENGFELDER, E. The involvement of oxygen radicals during the autooxidation of adrenaline. **Biochem Biophys Acta**, v. 540, p.162–172, 1978.

BOURGE, R.C.; NAFTEL, D.C.; CONSTANZO-NORDIN M., KIRKLIN, J.K., YOUNG, J. Risk Factors for Death after Cardiac Transplantation: A Mult-Institutional Study. **J Heart Lung Transplant**; 11: 191, 1992.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutr Rev**, v.56, p.317-333, 1998.

BRAYTON, C.F. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. **Cornell Vet.** v.76-90, 1986.

BUJA, L.M. Myocardial ischemia and reperfusion injury. **Cardiovasc Pathol**, v. 14, p.170-175, 2005.

BULKLEY, B.H.; HUTCHINS, G.M. Myocardial consequences of coronary artery bypass surgery: the paradox of necrosis in areas of revascularization. *Circulation*, v.56, p.906, 1977.

CARPENTER, R.J., ANGEL, M.F., MORGAN, R.F. Dimethyl sulfoxide increases the survival of primarily ischemic island skin flaps. **Otolaring. Head Neck Surg.** v.110, p.228-231, 1994.

CHOCRON, S.; ALWAN, K.; TOUBIN, G.; KANTELIP, B.; CLEMENT, F.; KANTELIP, J.P.; ETIEVENT, J.P. Effects of myocardial ischemia on the release of cardiac troponin I in isolated rat hearts. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 112, p.508– 513, 1996.

COS, P; YING, L.; CALOMME, M.; HU, J.P.; CIMANGA, K.; VAN POEL, B.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J.; VANDEN BERGHE, D. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. **J Nat Prod**, v.61, p.71-76, 1998.

DE GROOT, H.; RAUEN, U. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. **Transplant Proc**, v. 39, p.481–484, 2007.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.

DONG, Z.; SAIKUMAR, P.; WEINBERG, J.M.; VENKATACHALAM, M.A. Calcium in cell injury and death. **Annu Rev Pathol Mech Dis**, v. 1, p.405-434, 2006.

DANOVITCH GM, editor. **Handbook of kidney transplantation**. 2nd edition. Boston: Little, Brown and Company; 1996.

FERRANDIZ, M.L.; ALCARAZ, M.J. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. **Agents Actions**, v.32, p.283-288, 1991.

FIOLET, J.W.T.; BAARTSCHEER, A. Cellular calcium homeostasis during ischemia; a thermodynamic approach. **Cardiovasc Res**, v. 45, p.100-106, 2000.

FLECKNELL, P.A. Refinement of animal use – assessment and alleviation of pain and distress. **Laboratory Animals**, v.28, p.222-231, 1994.

GEETHA, A.; SANKAR, R.; THANKAMANI, M.; DEVI, C.S. a-tocopherol reduces dexorubicin induced toxicity in rats histological and biochemical evidence. **Indian J Pharmacol**, v. 34, p.94–100, 1990.

GODOY, M.F de; BRAILE, D.M; PURINI NETO, J. A Troponina Como Marcador de Injúria Celular Miocárdica. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 71, n. 4, Oct. 1998

GOLDMAN, S.; RAYA, T.E. Rat infarct model of myocardial infarction and heart failure. **J Card Fail**, v.1, p.169-177, 1995.

GRIMM, D.; ELSNER, D.; SCHUNKERT, H.; PFEIFER, M.; GRIESE, D.; BRUCKSCHLEGEL, G.; MUDERS, F.; RIEGGER, A.J.; KROMER, E.P. Development of heart failure following isoproterenol administration in the rat: role of the rennin-angiotensin system. **Cardiovasc Res**, v. 37, p.91-100, 1998.

GUIMARAES, S.B. **Efeitos do pré-tratamento com dimetilsulfóxido, ácido lipóico ou ternatina sobre o estresse oxidativo em ratos jovens submetidos à torção do cordão espermático**. 2005. 127p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.55, p.481-504, 2000.

HARTMAN, P.E.; SHANKEL, D.M. Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. **Environ Mol Mutagen**, v. 15, n. 3, p.145-182, 1990.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES Jr., F.T.; GENEVE, R.L. Plant propagation: principles and practices. 6nd ed. New Jersey: **Prentice Hall International**, 1997. 770 p.

HEIM, E. K.; TAGLIAFERRO, R. A.; BOBILYA, J. D. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n.1, p. 572-584, 2002.

JAMIESON, NV; SUNDBER, GR; LINDELL, S. **Successful 24-hour liver preservation: a preliminary report**. *Proceedings of the International Organ Transplant Forum*, Pittsburgh, EUA, 74; 1987.

KEMP, M.; DONOVAN, J.; HIGHAM, H.; HOOPER, J. Biochemical markers of myocardial injury. **Br J Anaesth**, v. 93, n. 1, p.63-73, 2004.

KETTLE, A.J.; GEDYE, C.A.; WINTERBOURN, C.C. Mechanism of inactivation of myeloperoxidase by 4-aminobenzoic acid hydrochloride. **Biochem. J.**, v.321, p.503-08. 1997.

KIM, H.P.; MANI, I.; IVERSEN, L.; ZIBOH, V.A. Effects of naturally-occurring flavonoids and bioflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v.58, p.17-24,1998.

KOCIOL, R.D.; PANG, P.S.; GHEORGHIADU, M.; FONAROW, G.C.; O'CONNOR, C.M.; FELKER, G.M. Troponin Elevation in Heart Failure - Prevalence, Mechanisms, and Clinical Implications. **JACC**, v. 56, n. 14, p.1071-1078, 2010.

KUMAR, V.; ABUL, K. **Patologia celular I: lesão e morte da célula** In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. (Eds.). Patologia estrutural e funcional. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p.1-26.

LADUE, JS; WROBLESKI, F; KARMEN, A. Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase Activity in Human Acute Transmural Myocardial Infarction. **Science**, 1954; 120:497.

LIMA, M.A.S.; SILVEIRA, E.R.; MARQUES, M.S.L.; SANTOS, R.H.; GAMBARDELA, M.T.P. Biologically Active Flavonoids and Terpenoids from *Egletes viscosa*. **Phytochem.**, v.41, p.217-23, 1966.

LIMA, E.O.; GOMPERTZ, O.F.; GIESBRECHT, A.M.; PAULO, M.Q. In vitro antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. **Mycoses**, v. 36, p.333-336, 1993.

LIMA, M.A.; SILVEIRA, E.R.; MARQUES, M.S.L.; SANTOS, R.H.A.; GAMBARDELA, M.T.P. Biologically active flavonoids and terpenoids from *Egletes viscosa*. **Phytochemistry**, v.41, n.1, p. 217- 23, 1996.

LIMA-VERDE, I.B.; MATOS, M.H.T.; BRUNO, J.B.; MARTINS, F.S; SANTOS, R.R., BAO, S.N.; LUQUE, M.C.A. Effects of  $\alpha$ -tocopherol and ternatin antioxidants on morphology and activation of goat preantral follicles *in vitro* cultured. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.61, n.1, p.57-65, 2009.

LOBO FILHO, H.G. **Pré-condicionamento com óleo essencial de *Alpinia zerumbet* no infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos.** 2011. 111 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

MACKAY, R.J. Endotoxemia. In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine.** 3. Philadelphia: Saunders. p.501, 1992.

MARTINS, C.S. Troponina: Estrutura, Fisiopatologia e Importância Clínica para Além da Isquemia Miocárdica. **Arquimed**, v. 23, n. 6, p.221-240, 2009.

MATOS, F.J.A. Plantas Medicinais Brasileiras: Um Desafio para a Química Orgânica. **Ver. Ext. UFC**, v.1, p.5-13, 1990.



MELO, C.L. **Estudo farmacológico da ternatina, um flavonóide isolado de Egletes viscosa, LESS.** 1991. 106p. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1991.

MIDDLETON, E.J. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. **Adv Exp Med Biol**, v.439, p.175-182, 1988.

MOHAN, P.; BLOOM, S. Lypolysis in a important determinant of isoproterenol-induced myocardial necrosis. **Cardiovasc Phathol**, v. 8, p.255-261, 1999.

NIJVELDT, R.J.; NOOD, E.V.; HOORN, D.E.C.V.H.; BOELEN, P.G.; NORREN, K.V.; LEEUWEN, P.A.M.V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Am J Clin Nutr**, v.74, p.418-425, 2001.

O'BRIEN, P.J.; DAMERON, G.W.; BECK, M.L.; KANG, Y.J.; ERICKSON, B.K.; DI BATTISTA, T.H.; MILLER, K.E.; JACKSON, K.N.; MITTELSTADT, S. Cardiac troponin T is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. **Lab Anim Sci**, v. 47, n. 5, p.486-495, 1997.

PELZER, L.E.; GUARDIA, T.; OSVALDO, J.A.; GUERREIRO, E. Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. **Farmaco**, v.53, n.6, p.421-424, 1998.

PIETTA, G. Flavonoids as antioxidants. **J Nat Prod**, v.63, p.1035-42, 2000.

PRINCE, P.S.M.; PRISCILLA, H.; DEVIKA, P.T. Gallic acid prevents lysosomal damage in isoproterenol induced cardiotoxicity in Wistar rats. **Eur J Pharmacol**, v. 139, p.139-143, 2009.

PRINCE, P.S.; SATHYA, B. Pretreatment with quercetin ameliorates lipids, lipoproteins and marker enzymes of metabolism in isoproterenol treated cardiotoxic male Wistar rats. **Eur J Pharmacol**, v. 635, n. 1-3, p142-148, 2010.

PRINCE, P.S.; SUMAN, S.; DEVIKA, P.T.; VAITHIANATHAN, M. Cardioprotective effect of 'Marutham' a polyherbal formulation on isoproterenol induced myocardial infarction in Wistar rats. **Fitoterapia**, v. 79, n. 6, p.433-438, 2008.

PUNITHAVATHI, V.R.; PRINCE, P.S. Combined effects of quercetin and alpha-tocopherol on lipids and glycoprotein components in isoproterenol induced myocardial infarction Wistar rats. **Chem Bio Interact**, v. 181, n. 3, p.322-327, 2009.

PUNITHAVATHI, V.R.; PRINCE, S.M. Protective effects of combination of quercetin and ascorbic acid on mitochondrial dysfunction and myocardial infarction in Wistar rats: biochemical, transmission electron microscopic, and macroscopic enzyme mapping evidences. **J Biochem Mol Toxicol**, v. 24, n. 5, p.303-312, 2010.

PUNITHAVATHI, V.R.; SHANMUGAPRIYA, K.; PRINCE, P.S. Protective effects of rutin on mitochondrial damage in isoproterenol-induced cardiotoxic rats: an *in vivo* and *in vitro* study. **Cardiovasc Toxicol**, v. 10, n. 3, p.181-189, 2010.

RAO, V.S.N.; FIGUEIREDO, E.G.; MELO, C.L.; VIANA, G.S.B.; MENEZES, D.M.E.; MATOS, M.F.; SILVEIRA, E.R. Protective effect of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less. in experimental liver injury. **Pharmacology**, v. 48, p.392-97, 1994.

RAO, V.S.; SANTOS, F.A.; SOBREIRA, T.T.; SOUZA, M.F.; MELO, C.L.; SILVEIRA, E.R. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Med.**, v. 63, n. 2, p.146-49, 1997.

RAO, V.S.N.; PAIVA, L.A.F.; SOUZA, M.F.; CAMPOS, A.R.; RIBEIRO, R.A.; BRITO, G.A.C.; TEIXEIRA, M.J.; SILVEIRA, E.R. Ternatin, an anti-inflammatory flavonoid, inhibits thioglycolate-elicited rat peritoneal neutrophil accumulation and LPS-activated nitric oxide production in murine macrophages. **Planta Med.**, v. 69, n. 9, p. 851-53, 2003.

RATHORE, N.; KALE, M.; JOHN, S.; BHATNAGAR, D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in isoproterenol-induced oxidative stress in rat erythrocyte. **Ind J Physiol Pharmacol**, v. 44, p.161-166, 2000.

ROBAK, J.; GRYGLEWSKI, R.J. Bioactivity of flavonoids. **Pol J Pharmacol**, v.48, p.555-64, 1996.

ROSENBAUM, E.E., HERSCHLER, R.J., JACOB, S.W. Dimethyl sulfoxide in musculoskeletal disorders. **J. Am. Med. Assoc.** v.192, p.309-313, 1965.

SANGEETHA, T.; QUINE, S.D. Protective effect of S-allyl cysteine sulphoxide (alliin) on glycoproteins and hematology in isoproterenol induced myocardial infarction in male Wistar rats. **J Appl Toxicol**, v. 28, n. 5, p.710-716, 2008.

SATHISH, V.; EBENEZAR, K.K.; DEVAKI, T. Synergistic effect of nicorandil and amilopine on lysosomal hydrolases during experimental myocardial infarction in rats. **Biomed Pharmacother**, v. 57, p.309-313, 2003.

SCHOEN, F. J. **O coração**. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. (Eds.). Patologia estrutural e funcional. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p.486-539.

SHOSKES, D.A. Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. **Transplantation**, v.66, p.147-152, 1998.

SILVA FILHO, F. A.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R.; MELO, V. M. M. Constituintes voláteis do óleo essencial da *Egletes viscosa* em diferentes estágios ontogenéticos e avaliação da atividade antimicrobiana. **Soc. Bras. Qui.**, 2006.

SILVEIRA, E.R.; LIMA, M.A.S.; MACEDO, L.M.B. Contribuição do conhecimento químico de plantas do nordeste. *Egletes viscosa* Less. **Cienc. Cult.**, v. 41, p. 511, 1989.

SILVEIRA, E.R.; PESSOA, O.D.L. Constituintes micromoleculares de plantas do nordeste com potencial farmacológico: com dados de RMN 13 C. Fortaleza: Expressão Gráfica e Editora, p.216, 2005.

SINGAL, P.K.; BEAMISH, R.E.; DHALLA, N.S. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. **Adv Exp Med Biol**, v. 161, p.391–440, 1983.

SINGAL, P.K.; KAPUR, N.; DHILLON, K.S.; BEAMISH, R.E.; DHALLA, N.S. Role of free radicals in catecholamine-induced cardiomyopathy. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 60, p.1390–1397, 1982.

SOLTOSKI, P.R.; D'ANCONA, G.; BARROZO, C.A.M.; SANT'ANNA, F.M.; PEREIRA, A.W.; BERGSLAND, J.; SALERNO, T.A.; PANOS, A.L. Enzimas miocárdicas na cirurgia de revascularização sem circulação extracorpórea. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, v.15, n.2, p.105-8, 2000;

SOUZA, M.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Antianaphylactic and anti-inflammatory effects of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa* Less. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.25, p.1029-32, 1992.

SOUZA, M.F.; CUNHA, G.M.A.; FONTENELE, J.B.; VIANA, G.S.B.; RAO, V.S.N. Antithrombotic activity of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytother. Res.**, v.4, p.478-81, 1994.

SOUZA, M.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity by ternatin, a bioflavonoid from *Egletes viscosa* Less. **Phytof. Res.**, v.12, p.557- 61, 1998.

SOUZA MELO, J.U. **Ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, dimetilsulfóxido e ternatina na regeneração hepática e no estresse oxidativo em ratos**. 2006. 173p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

STANELY, M.P.P.; PRIYA, S. Preventive effects of rutin on lysosomal enzymes in isoproterenol induced cardiotoxic rats: biochemical, histological and *in vitro* evidences. **Eur J Pharmacol**, v. 649, n. 1-3, p.229-235, 2010.

STONE, R.W. Clinical updates on the use of dimethyl silfoxide. **Canine Pract.** v.18, p.16-19, 1993.

TRIVEDI, C.J.; BALARAMAN, R.; MAJITHIVA, J.B.; BOTHARA, S.B. Effect of atorvastatin treatment on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. **Pharmacol**, v. 77, n. 1, p.25-32, 2006.

UPAGANLAWAR, A.; GANDHI, C.; BALARAMAN, R. Effect of green tea and vitamin E combination in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. **Plant. Foods. Hum. Nutr.**, v. 64, n. 1, p.75-80, 2009.

VIEIRA, G.A.B.; LIMA, M.A.S.; BEZERRA, A.M.E.; SILVEIRA, E.R. Chemical composition of teas from two cultivated chemotypes of *Egletes viscosa* (“Macela-daterra”). **J. Braz. Chem. Soc.**, v.17, p.43-47, 2006.

VIEIRA, M. M.; MACEDO, F. Y. B.; FILHO, J. N. B.; COSTA, A. C. L. V., CUNHA, A. N.; Silveira, E. R.; Brito, G. A. C.; Ribeiro, R. A. Ternatin, a Flavonoid, Prevents Cyclophosphamide and Ifosfamide-induced Hemorrhagic Cystitis in Rats. *Phytotherapy Research*, 18: 135–141, 2004.

VIMAL, V.; DEVAKI, T. Linear furanocoumarin protects rat myocardium against lipidperoxidation and membrane damage during experimental myocardial injury. **Biomed Pharmacother**, v. 58, p.393–400, 2004.

WEXLER, B.C. Myocardial infarction in young vs. old male rats: pathophysiologic changes. **Am Heart J**, v. 96, p.70-80, 1978.

YEAGER, J.C.; IAMS, S.G. The hemodynamics of isoproterenol-induced cardiac failure in rats. **Circ Shock**, v. 8, p.151–163, 1981.

YEAGER, J.C.; WHITEHURST, M.E. Verapamil prevents isoproterenol induced cardiac failure in the rat. **Life Sci**, v. 30, p.299–306, 1982.