



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

NATACHA FERREIRA ALBINO PAIXÃO

EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DE *Miconia serialis* DC. (MELASTOMATACEAE) EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEOS

**RECIFE
2023**

NATACHA FERREIRA ALBINO PAIXÃO

EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DE *Miconia serialis* DC. (MELASTOMATACEAE) EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas na Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Dra. Elizabeth Fernanda de Oliveira Borba

Coorientador (a): Profa. Dra. Teresinha Gonçalves da Silva

RECIFE

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Paixão, Natacha Ferreira Albino.

Efeito anti-inflamatório do extrato acetato de etila de *Miconia serialis* DC. (Melastomataceae) em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeos / Natacha Ferreira Albino Paixão. - Recife, 2023. 52 : il., tab.

Orientador(a): Elizabeth Fernanda de Oliveira Borba

Coorientador(a): Teresinha Gonçalves da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

1. Gênero *Miconia*. 2. Modelo in vivo. 3. Inflamação. I. Borba, Elizabeth Fernanda de Oliveira. (Orientação). II. Silva, Teresinha Gonçalves da. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

NATACHA FERREIRA ALBINO PAIXÃO

EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO ACETATO DE ETILA DE *Miconia serialis* DC. (MELASTOMATACEAE) EM MODELO DE LESÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 01/08/2023

Nota: 10,0

COMISSÃO EXAMINADORA

Dra. Elizabeth Fernanda de Oliveira Borba
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Jéssica de Andrade Gomes Silva
Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco

Msc. George Torres de Lima
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me guiado nessa trajetória, obrigada por estar sempre ao meu lado e por me dar força e ânimo para alcançar meus objetivos.

Agradeço à minha orientadora Dr^a. Elizabeth Borba por todos ensinamentos, por ter dedicado seu tempo, pela paciência e por me auxiliar na realização deste trabalho. Obrigada por todo incentivo, amizade e por ser uma inspiração profissional para mim.

Agradeço à minha co-orientadora Prof^a. Dr.^a Teresinha Gonçalves pela oportunidade de aprender em seu laboratório, pelo incentivo acadêmico e por ser um exemplo de profissional a ser seguido.

Agradeço à Msc. Marília Grasielly por toda paciência, pela compreensão, pela amizade e por ter me ensinado a executar partes deste trabalho.

Agradeço à Msc. Giselly Oliveira por toda colaboração e ajuda quando precisei.

Agradeço ao Msc. José Rivaldo por sempre levantar minha autoestima e por ter me auxiliado em várias atividades no laboratório.

Agradeço a todos do BIOFARMATOX e do Departamento de Antibióticos que colaboraram diretamente ou indiretamente na execução dos experimentos deste trabalho.

Agradeço aos membros do BIOFARMATOX por me acolherem, pela parceria e por todos os momentos de alegria e boas conversas.

Agradeço ao Centro de Biociências por todos os momentos bons que vivenciei ao longo da minha formação e ao Departamento de Antibióticos por possibilitar a execução desse trabalho.

Agradeço à Universidade Federal de Pernambuco por todo conhecimento que obtive ao longo da minha formação e pelos profissionais inspiradores e pessoas incríveis que tive a oportunidade de conhecer.

Agradeço aos meus avós, principalmente a minha avó Josefa Maria, por fazerem de tudo pela minha educação e das minhas irmãs, por todo incentivo e apoio para que concluísse essa etapa da minha vida.

Agradeço à minha mãe, Loide Bezerra e às minhas irmãs, Natália e Nathaly, por todo apoio, amizade e por terem me proporcionado vários momentos de alegria

e descontração. Aos meus sobrinhos por me darem tanto carinho e amor, e aos meus sogros por todo apoio e carinho nessa trajetória.

Agradeço à Alysson Alves por todo companheirismo, amor, compreensão e amizade, por todo apoio e por me proporcionar momentos de alegria que me ajudaram a continuar nesse curso e na elaboração deste trabalho.

Agradeço aos meus amigos, Celine Cecília, Rayana Guimarães, Maria Carolina, Maria Alice e Lucas Matheus pelos momentos de descontração, pelos abraços, conselhos e conversas, principalmente por terem tornado esse curso mais leve e feliz. Obrigada por tudo que fizeram por mim e por estarem sempre comigo. À minha prima e amiga Maiara Paixão por todo carinho, conselho, atenção e ajuda ao longo da vida.

Agradeço a todos que contribuíram para a elaboração deste trabalho, inclusive aos camundongos.

Ah, se o mundo inteiro me pudesse ouvir
Tenho muito pra contar, dizer que aprendi
E, na vida, a gente tem que entender
Que um nasce pra sofrer enquanto o outro ri
Mas quem sofre sempre tem que procurar
Pelo menos vir a achar razão para viver ...
(MAIA, 1992)

RESUMO

A lesão pulmonar aguda (LPA) e a sua forma mais grave, a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), são doenças inflamatórias que apresentam uma taxa de mortalidade e morbidade alta. Atualmente, as opções farmacológicas para o tratamento destas doenças são inespecíficas, sendo fundamental a busca por novas estratégias terapêuticas. As espécies do gênero *Miconia* são descritas na literatura por possuírem diversas propriedades, dentre elas a anti-inflamatória. Portanto, o objetivo deste estudo foi realizar a triagem dos constituintes fitoquímicos e avaliar a atividade anti-inflamatória do extrato acetato de etila de *Miconia serialis* em modelo *in vivo* de lesão pulmonar aguda induzida por LPS. O extrato em acetato de etila das partes aéreas de *M. serialis* (MsAcOEt) foi obtido pelo método de maceração exaustiva e em seguida foi realizada a triagem fitoquímica qualitativa para identificar as principais classes de metabólitos secundários. Posteriormente, foi realizado o modelo de LPA com grupos de camundongos da linhagem Balb/c, os quais foram pré-tratados com solução salina (NaCl 0,9 %), dexametasona (1 mg/kg) e o MsAcOEt nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, 1 hora antes do estímulo com LPS. Após 24 horas, foi realizada a eutanásia por sobredose anestésica e o lavado broncoalveolar (LBA) foi recolhido para avaliar a migração de leucócitos, com a contagem total e diferencial, e determinar os níveis de óxido nítrico (NO). O tecido pulmonar foi retirado para determinar as concentrações de NO, mieloperoxidase (MPO) e malondialdeído (MDA) e para realizar a análise histológica. Para análise estatística entre os grupos experimentais foi utilizado o one-way ANOVA seguido do teste de *Dunnett*. A triagem fitoquímica revelou a presença de alcaloides, triterpenos, esteroides e flavonoides no MsAcOEt. No modelo de LPA, as doses 50, 100 e 200 mg/kg do MsAcOEt inibiram a migração de leucócitos no LBA em 63,8 %, 85,2 % e 93,2 %, respectivamente. Também foi verificada a inibição do recrutamento de neutrófilos, monócitos e eosinófilos em todas as doses de MsAcOEt, com inibição variando entre 50 % e 95,1 %. No entanto, apenas a dose de 100 mg/kg inibiu em 78,6 % o recrutamento de linfócitos. Houve redução significativa de NO nas doses de 100 mg/kg ($0,55 \pm 0,04$ mM) e 200 mg/kg ($0,19 \pm 0,08$ mM) do MsAcOEt em relação ao controle lesionado ($1,15 \pm 0,15$ mM). No tecido pulmonar, MsAcOEt reduziu significativamente o nível de NO na dose de 50 mg/kg ($4,63 \pm 0,25$ mM), mas os resultados foram mais expressivos nas doses de 100 mg/kg e 200 mg/kg, com valores de $1,70 \pm 0,21$ mM e $1,07 \pm 0,15$ mM, respectivamente. Em relação aos níveis de MPO, as doses de 50, 100 e 200 mg/kg de MsAcOEt inibiram 24,1 %, 28,4 % e 27,9 %, respectivamente, da atividade da MPO em comparação ao controle lesionado. Como também, as doses de 50, 100 e 200 mg/kg reduziram 37,43 %, 45,4 % e 53 %, respectivamente, os níveis de MDA em relação ao controle lesionado. Além disso, o dano no tecido pulmonar foi atenuado nos animais tratados com as diferentes doses de MsAcOEt, sendo identificada a estrutura do bronquíolo alveolar preservada e presença de poucas áreas com infiltrados celulares e espessamento dos septos alveolares. Ao realizar uma análise geral entre as doses administradas, observou-se os melhores efeitos na LPA na dose de 200 mg/kg do MsAcOEt. A partir dos resultados obtidos neste estudo, foi possível concluir que o extrato de *M. serialis* possui potencial anti-inflamatório frente à lesão pulmonar aguda, sendo necessária uma investigação mais aprofundada em modelos crônicos de inflamação e a identificação dos compostos químicos responsáveis pelas atividades, contribuindo na busca por novas alternativas terapêuticas para o tratamento das doenças inflamatórias pulmonares.

Palavras-chave: Gênero *Miconia*, Modelo *in vivo*, Inflamação

ABSTRACT

Acute lung injury (ALI) and its most severe form, acute distress syndrome (ARDS), are diseases that have a high mortality and morbidity rate. Currently, the pharmacological options for the treatment of these diseases are non-specific, and the search for new therapeutic strategies is fundamental. Species of the genus *Miconia* are described in the literature because they have several properties, including anti-inflammatory properties. Therefore, the aim of this study was to screen phytochemical constituents and evaluate the anti-inflammatory activity of *Miconia serialis* ethyl acetate extract in an in vivo model of LPS-induced acute lung injury. The ethyl acetate extract of the aerial parts of *M. serialis* (MsAcOEt) was obtained by the detailed maceration method, followed by a qualitative phytochemical screening to identify the main classes of secondary metabolites. Subsequently, the APL model was carried out with groups of Balb/c mice, which were pre-treated with saline solution (NaCl 0.9%), dexamethasone (1 mg/kg) and MsAcOEt at doses of 50, 100 and 200 mg/kg, 1 hour before LPS challenge. After 24 hours, euthanasia was performed by anesthetic overdose and bronchoalveolar lavage (BAL) was collected to assess leukocyte migration, with total and differential counts, and to determine nitric oxide (NO) levels. Lung tissue was removed to determine NO, myeloperoxidase (MPO) and malondialdehyde (MDA) concentrations and to perform a histological analysis. For statistical analysis between experimental groups, one-way ANOVA was used followed by Dunnett's test. Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, triterpenes, steroids and flavonoids in MsAcOEt. In the LPA model, doses of 50, 100 and 200 mg/kg of MsAcOEt inhibited the migration of leukocytes in the BAL by 63.8%, 85.2% and 93.2%, respectively. The tracking of recruitment of neutrophils, monocytes and eosinophils was also verified in all doses of MsAcOEt, with an increase varying between 50% and 95.1%. However, only a dose of 100 mg/kg inhibited lymphocyte recruitment by 78.6%. There was a significant reduction of NO at doses of 100 mg/kg (0.55 ± 0.04 mM) and 200 mg/kg (0.19 ± 0.08 mM) of MsAcOEt in relation to the injured control (1.15 ± 0.15 mM). In lung tissue, MsAcOEt significantly showed the level of NO at a dose of 50 mg/kg (4.63 ± 0.25 mM), but the results were more expressive at doses of 100 mg/kg and 200 mg/kg, with values of 1.70 ± 0.21 mM and 1.07 ± 0.15 mM, respectively. Regarding MPO levels, doses of 50, 100 and 200 mg/kg of MsAcOEt inhibited 24.1%, 28.4% and 27.9%, respectively, of MPO activity compared to the injured control. As well, the doses of 50, 100 and 200 mg/kg reduced 37.43%, 45.4% and 53%, respectively, the levels of MDA in relation to the injured control. In addition, damage to the lung tissue was attenuated in animals treated with different doses of MsAcOEt, with the structure of the alveolar bronchus preserved and the presence of few areas with cellular infiltrates and thickening of the alveolar septa being identified. When performing a general analysis between the treated doses, the best effects on APL were observed at the dose of 200 mg/kg of MsAcOEt. From the results obtained in this study, it was possible to conclude that the *M. serialis* extract has anti-inflammatory potential against acute lung injury, requiring further investigation into reflex models of inflammation and the identification of chemical compounds responsible for the activities, safe in the search for new therapeutic alternatives for the treatment of pulmonary inflammatory diseases.

Keywords: Genus *Miconia*, In vivo model, Inflammation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 –	Causas do desenvolvimento da Lesão Pulmonar Aguda	16
Figura 1 –	Fisiopatologia da Lesão Pulmonar Aguda e Síndrome de Desconforto Respiratório Agudo	17
Figura 2 –	Aspectos morfológicos da espécie <i>Miconia serialis</i>	25
Figura 3 –	Efeito do MsAcOEt sobre a produção de óxido nítrico (NO) no lavado broncoalveolar e no tecido pulmonar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda	37
Figura 4 –	Efeito do MsAcOEt sobre a produção da Mieloperoxidase (MPO) em tecido pulmonar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS	38
Figura 5 –	Efeito do MsAcOEt sobre a produção de malondialdeído (MDA) em tecido pulmonar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS	40
Figura 6 –	Alterações morfológicas do pulmão de animais submetidos a LPA induzida por LPS	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Triagem fitoquímica do extrato acetato de etila das partes aéreas de <i>M. serialis</i>	32
Tabela 2 –	Total de leucócitos polimorfonucleares e contagem diferencial no lavado broncoalveolar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS e após o pré-tratamento com diferentes doses de MsAcOEt	34
Tabela 3 -	Contagem diferencial no lavado broncoalveolar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS e após o pré-tratamento com diferentes doses de MsAcOEt	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	LESÃO PULMONAR AGUDA	14
2.1.1	Definição	14
2.1.2	Etiologia e fisiopatologia	15
2.1.3	Epidemiologia	18
2.2	MODELO ANIMAL DE LPA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)	19
2.3	ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS	20
2.4	O USO DE PLANTAS MEDICINAIS E O POTENCIAL TERAPÊUTICO	22
2.5	FAMÍLIA MELASTOMATACEAE E O GÊNERO <i>Miconia</i>	23
2.6	A ESPÉCIE <i>Miconia serialis</i>	24
3	OBJETIVOS	26
3.1	OBJETIVO GERAL	26
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4	METODOLOGIA	27
4.1	MATERIAIS	27
4.1.1	Material Botânico	27
4.1.2	Animais	27
4.2	METODOLOGIAS	27
4.2.1	Preparação do extrato	27
4.2.2	Triagem fitoquímica	28
4.2.3	Modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS	28
4.2.4	Determinação da migração de leucócitos totais e diferenciais no lavado broncoalveolar	29
4.2.5	Determinação dos níveis de óxido nítrico (NO)	29
4.2.6	Determinação dos níveis de mieloperoxidase (MPO)	30
4.2.7	Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA)	30
4.2.8	Análise histológica	31
4.2.9	Análise estatística	31

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1	RENDIMENTO DO EXTRATO	31
5.2	TRIAGEM FITOQUÍMICA	32
5.3	EFEITO DO MsAcOEt NA MIGRAÇÃO DE LEUCÓCITOS TOTAIS E DIFERENCIAIS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR	33
5.4	DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE ÓXIDO NÍTRICO (NO)	36
5.5	DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MIELOPEROXIDASE (MPO)	38
5.6	DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA)	39
5.7	AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS NO MODELO DE LPA	41
6	CONCLUSÃO	43
7	PERSPECTIVAS	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

A Lesão Pulmonar Aguda (LPA) e sua forma mais severa, a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), são doenças inflamatórias pulmonares que podem ser decorrentes de agressões diretas e indiretas aos pulmões. Dentre as principais condições que promovem a LPA destacam-se a pneumonia, a sepse e a aspiração de conteúdo gástrico (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017).

Independente da origem, a doença é caracterizada pela formação de edema, aumento da permeabilidade alvéolo-capilar, migração de células inflamatórias, sobretudo neutrófilos, e alterações graves nas trocas gasosas (MATTHAY; ZEMANS, 2011; MOWERY; TERZIAN; NELSON, 2020). Além disso, a doença prejudica a qualidade de vida dos indivíduos que conseguem se recuperar e causa impactos no Sistema Público de Saúde (FAN et al. 2018; MOWERY; TERZIAN; NELSON, 2020).

Clinicamente, a LPA está associada a taxas de morbidade e mortalidade substanciais. Um estudo epidemiológico revela que nos Estados Unidos ocorrem cerca de 200 mil casos por ano, e dentre estes, aproximadamente 74.500 casos evoluem para o óbito (RUBENFELD et al., 2005). Já no Brasil, não há estudos epidemiológicos que revelem a extensão de casos da LPA, porém um estudo prospectivo realizado por César e colaboradores (2014) evidenciou uma incidência de 10,1 casos por 100.000 habitantes/ano. Entretanto, no período de 2020 a 2023, em decorrência da pandemia de COVID-19, as taxas de incidência e mortalidade da LPA e SDRA aumentaram significativamente em todo o mundo, por se tratarem de complicações da infecção causada pelo vírus (VOLPATO et al., 2020).

Não há um tratamento específico para a LPA e SDRA, e as medidas aplicadas para tratar os pacientes, tais como ventilação mecânica e medicamentos anti-inflamatórios, podem promover uma variedade de efeitos adversos aos pacientes (BROWER et al., 2000; SCHÄCKE; DÖCKE; ASADULLAH, 2002). Portanto, é fundamental a busca por novas alternativas terapêuticas eficazes e com baixa toxicidade, visando reduzir a mortalidade entre os pacientes. Diante disso, as plantas medicinais surgem como alternativa terapêutica, visto que são uma fonte de biomoléculas, possuem grande disponibilidade e fácil acesso (ARAÚJO et al., 2012; IBIAPINA et al., 2014), como também são empregadas na cura de doenças desde os primórdios da humanidade (BRASIL, 2012).

Diante disso, a família Melastomataceae apresenta 177 gêneros, entre eles o gênero *Miconia* chama bastante atenção por apresentar diferentes atividades biológicas descritas na literatura, tais como antioxidante, anti-inflamatória, cicatrizante e antinociceptiva (ALVAREZ, 2014; COUTINHO et al., 2020; LIMA, 2016; MICHELANGELI et al., 2020; SANTOS & COUTO, 2018). Além disso, as espécies do gênero *Miconia* apresentam várias classes de metabólitos secundários na composição, como os compostos fenólicos (ALVAREZ, 2014; COUTINHO et al., 2020).

Diante do exposto, espécies desse gênero possuem um potencial a ser explorado. Portanto, o presente estudo busca identificar as principais classes de metabólitos secundários e investigar a atividade anti-inflamatória da espécie *Miconia serialis*, conhecida popularmente no Norte do Brasil como “tinteiro” ou “maramará branco”, em modelo de lesão pulmonar aguda.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LESÃO PULMONAR AGUDA (LPA)

2.1.1 Definição

A lesão pulmonar aguda (LPA) e sua forma mais severa, a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), são patologias inflamatórias pulmonares que ocasionam um edema pulmonar com alto teor de proteínas, consequente a um aumento da permeabilidade da membrana alvéolo capilar, assim causando hipoxemia refratária, interferindo na capacidade de complacência pulmonar e prejudicando a eliminação do dióxido de carbono pelos pulmões (BARBAS, 2007; BELLANI et al., 2016; REZOAGLI; FUMAGALLI; BELLANI, 2017).

A SDRA foi descrita inicialmente por Ashbaugh e colaboradores (1967), sendo caracterizada por início agudo de taquipneia, hipoxemia refratária, perda de complacência pulmonar e presença de infiltrados pulmonares difusos na radiografia de tórax. A partir disso, foram propostas várias definições distintas para auxiliar na identificação de pacientes com a doença, tais como a definição da Conferência de

Consenso Americana - Europeia (BERNARD et al., 1994) e a definição de Berlim (RANIERI et al., 2012).

De acordo com a Conferência de Consenso Americana - Europeia (*American-European Consensus Conference - AECC*), a LPA e a SDRA são diferenciadas pela gravidade da hipoxemia, através do índice de oxigenação – Pressão Parcial de oxigênio arterial (PaO_2)/fração inspirada de oxigênio (FiO_2) ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$). Desse modo, quando os indivíduos apresentam menor grau de hipoxemia ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300$ mmHg) são diagnosticados com LPA, enquanto que os com maior grau ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200$ mmHg) são diagnosticados com SDRA. Além disso, também é considerada a presença de infiltrados bilaterais vistos na radiografia de tórax e a pressão de oclusão da artéria pulmonar <18 mmHg ou ausência de sinais clínicos ou ecocardiográficos de hipertensão atrial esquerda (BERNARD et al., 1994).

Com os avanços dos estudos a respeito da LPA, em 2012, foi proposta uma definição para SDRA com novos critérios para os diagnósticos e que demonstrava as limitações do conceito da AEEC. Trata-se da revisão mais recente, denominada de definição de Berlim, que foi estabelecida pela Sociedade Europeia de Medicina Intensiva (*European Society of Intensive Care Medicine - ESICM*) (RANIERI et al., 2012). Nessa definição a LPA passou a ser uma subclassificação da SDRA, denominada grau leve. Assim, estabeleceu o intervalo de tempo de sete dias entre a LPA e o desenvolvimento da SDRA, como também passou a exigir uma pressão positiva expiratória final (PEEP) mínima de 5 cmH_2O para utilizar $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ e estabelecer a severidade da hipoxemia. Com isso, a SDRA é classificada como leve ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ entre 200 e 300 mmHg), moderada ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ entre 100 e 200 mmHg) e grave ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ menor que 100 mmHg) (MOWERY; TERZIAN; NELSON, 2020; RANIERI et al., 2012).

2.1.2 Etiologia e fisiopatologia

A etiologia da LPA pode ser dividida em causas diretas, quando a agressão acomete o pulmão, ou indiretas, quando há uma agressão sistêmica (quadro 1). Cerca de 85 % dos casos da doença são provocados por pneumonia, sepse extrapulmonar e aspiração de conteúdo gástrico, sendo então considerados os fatores de risco mais frequentes (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017). No entanto,

em alguns casos, é difícil diferenciar se a lesão é de causa direta ou indireta, pois existe a possibilidade dos dois tipos de agressão coexistirem (BELLANI, 2017; DE HARO et al. 2013; REZOAGLI; FUMAGALLI, 2017).

Quadro 1 – Causas do desenvolvimento da Lesão Pulmonar Aguda

Lesão Pulmonar Aguda Direta	Lesão Pulmonar Aguda Indireta
Pneumonia (bacteriana, fúngica, viral ou parasitária)	Sepse
Aspiração de conteúdo gástrico	Trauma não torácico ou choque hemorrágico
Contusão pulmonar	Pancreatite
Embolia gordurosa	Grande lesão ocasionada por queimadura
Quase afogamento	Overdose de drogas
Inalação de fumaça	Transfusão de sangue

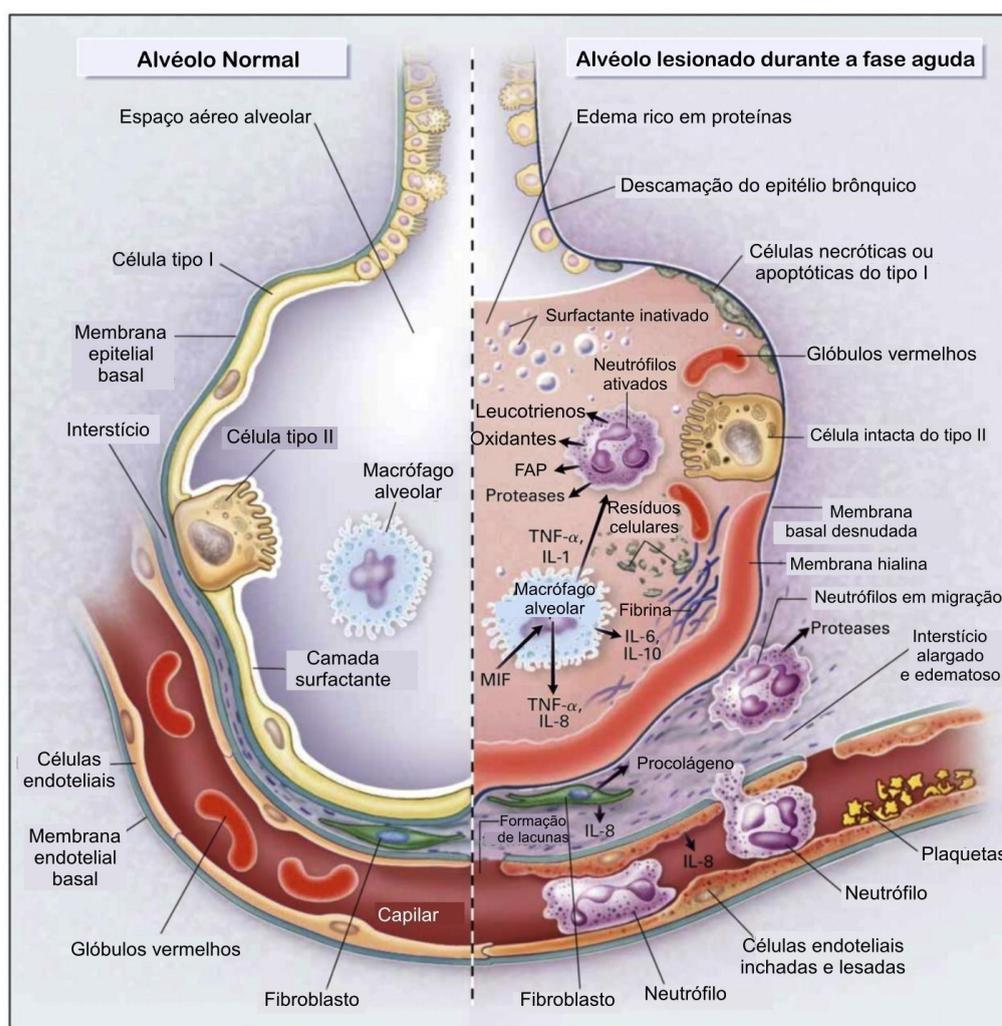
Fonte: Thompson, Chambers e Liu, 2017 (Adaptado).

Resumidamente, a LPA é desencadeada por uma resposta inflamatória após uma agressão inicial aos pulmões (Figura 1). Nesse processo, as células pulmonares, como os macrófagos alveolares, são ativadas, e por sua vez, secretam citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucinas IL-1 β e IL-6, além de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que agem localmente estimulando a quimiotaxia e a ativação de neutrófilos, como também formam os radicais livres (CHEN et al. 2020; WANG et al. 2021).

Por outro lado, ocorre a migração e o acúmulo de leucócitos, com predominância de neutrófilos polimorfonucleares, nos alvéolos pulmonares. Estes alvéolos apresentam uma membrana denominada de alvéolo-capilar, composta pelo endotélio capilar, interstício e epitélio alveolar (KNUDSEN; OCHS, 2018). Os neutrófilos promovem a descamação das células epiteliais brônquicas e alveolares (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017). Estes leucócitos se aderem ao endotélio capilar e lesionam o interstício no espaço alveolar, ocasionando o dano tecidual e a perda de função nas barreiras do epitélio alveolar e das células do endotélio capilar. Ademais, os leucócitos atuam interferindo na secreção da substância surfactante, cuja função é reduzir a tensão superficial dos alvéolos e promover a estabilidade alveolar (MATTHAY; ZEMANS, 2011; THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017; AULAKH, 2018; YANG et al. 2021).

O dano tecidual ocorre a partir dos mediadores tóxicos liberados pelos neutrófilos, incluindo proteases, oxidantes e moléculas pró-inflamatórias, como o fator ativador de plaquetas (FAP) (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017; YANG et al. 2021). A partir desse dano, ocorre um extravasamento de fluido rico em proteínas para o espaço alveolar, culminando no desenvolvimento do edema pulmonar, sendo este parâmetro um marco fisiopatológico da LPA, prejudicando assim, as trocas gasosas e desencadeando a insuficiência respiratória no paciente (MORAES; ZURAWSKAB; DOWNEY, 2006; THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017; YANG, et al. 2018).

Figura 1 – Fisiopatologia da Lesão Pulmonar Aguda e Síndrome de Desconforto Respiratório Agudo



Fonte: Matthay e Zemans, 2011 (Adaptada)

A Figura 1 representa o alvéolo normal (A) e o alvéolo lesado na fase aguda da Lesão Pulmonar Aguda e da Síndrome de Desconforto Respiratório Agudo (B)

Diversos modelos experimentais e dados clínicos demonstram que a concentração desses neutrófilos no lavado broncoalveolar (LBA) é um indicativo muito importante do estágio da LPA. Desse modo, a alta concentração de neutrófilos no LBA está associada ao avanço da doença, tanto em pacientes quanto em camundongos, como também à mortalidade da LPA (ABRAHAM et al, 2000; GOODMAN et al., 2003).

Os neutrófilos também participam na formação de vários oxidantes, como as espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs), que se dá por meio da enzima mieloperoxidase (MPO) presente nestas células (ARATANI, 2018; KHAN; ALSAHLI; RAHMANI, 2018). Esses oxidantes são produzidos com o intuito de defender o hospedeiro contra microrganismos invasores (KHAN; ALSAHLI; RAHMANI, 2018).

No entanto, em quantidades elevadas, os oxidantes promovem o aumento do estresse oxidativo local, contribuindo ainda mais para o dano estrutural dos alvéolos (YANG et al. 2020). Além disso, o óxido nítrico (NO) também atua na LPA, porque apesar de ter várias funções nos pulmões em condições fisiológicas normais, quando encontra-se em níveis elevados, apresentam funções pró-inflamatórias, contribuindo na fisiopatologia da LPA (DIAS-JÚNIOR; CAU; TANUS-SANTOS, 2008).

Portanto, a LPA e sua forma mais severa podem apresentar diferentes causas e são desencadeadas a partir de um conjunto de ações do sistema imune, estresse oxidativo e alterações fisiopatológicas que provocam uma grave disfunção respiratória (KHAN; ALSAHLI; RAHMANI, 2018; YANG et al. 2020).

2.1.3 Epidemiologia

Tanto a LPA quanto a SDRA são uma fonte considerável de morbidade e mortalidade em pacientes gravemente doentes e promovem impactos no sistema de saúde e no paciente. Os indivíduos podem apresentar uma diminuição na qualidade de vida de até 5 anos após a recuperação, devido a problemas físicos, neuropsiquiátricos e neurocognitivos (FAN et al. 2018; MOWERY; TERZIAN; NELSON, 2020). Em relação a mortalidade da doença, a taxa é estimada entre 35 % e 46 %, sendo maior em casos mais graves (BELLANI et al., 2016).

Estudos relatam uma diferença na incidência da LPA entre os países, como os Estados Unidos que possui uma incidência de 78,9 casos por 100.000

habitantes/ano, com cerca de 200 mil indivíduos sendo diagnosticados com LPA por ano, dos quais aproximadamente 74.500 casos evoluem para o óbito (RUBENFELD et al., 2005). Por outro lado, na Europa tem uma incidência de SDRA variando de 5 a 8 casos por 100.000 habitantes/ano (VILLAR; SULEMANJI; KACMAREK, 2014). No Brasil, um estudo realizado por Caser e colaboradores (2014) em Santa Catarina por um período de 15 meses, avaliou cerca de 7 mil pacientes em 14 unidades de terapia intensiva e comparou a AECC com a definição de Berlim, evidenciando uma incidência de 10,1 casos por 100.000 habitantes/ano.

A incidência, o índice de mortalidade e a patogênese da LPA podem variar de acordo com o estado de saúde dos pacientes. Conjuntamente, fatores como predisposição genética, abuso de álcool, tabagismo e idade também afetam a incidência e o índice de mortalidade da doença (BARBAS, 2007; ARTEEL, 2020; MOWERY et al., 2020; ROUNDS; LU; SIAMWALA, 2022). Portanto, as diferenças nas taxas entre os países ocorrem devido a questões culturais e sociais das populações, como também questões individuais.

Entre os anos de 2019 e 2023 ocorreu a pandemia de COVID-19, uma infecção viral respiratória causada pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2). De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), até o dia 06 de junho de 2023 foram confirmados no mundo mais de 767 milhões de casos de COVID-19 e 6,9 milhões de mortes. No Brasil, a COVID-9 apresentou mais de 37 milhões de casos e 702 mil óbitos.

Em decorrência desse alto número de casos, as taxas de incidência e mortalidade de LPA e SDRA aumentaram significativamente ao redor do mundo, por se tratarem de complicações da infecção pelo vírus (VOLPATO et al., 2020). Estudos relatam que pacientes hospitalizados com a infecção por SARS-CoV-2, a prevalência de SDRA é estimada em torno de 31 %, enquanto que em pacientes internados na UTI é estimada em cerca de 92 % (MOAL et al., 2023). Nesse contexto, a SDRA é uma causa significativa de morte nesses pacientes.

2.2 MODELO ANIMAL DE LPA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO (LPS)

Modelos animais de LPA são imprescindíveis, pois auxiliam no entendimento dos mecanismos e consequências da lesão pulmonar em humanos, incluindo mudanças fisiológicas e patológicas que ocorrem. Além disso, possibilitam a

investigação de novos métodos farmacológicos para o tratamento da LPA e SDRA (YOSHIOKA, 2010; GIACOMINI et al., 2020).

Os modelos experimentais podem ser desencadeados por uma variedade de fatores. Na literatura, têm relatos de métodos distintos para induzir a inflamação pulmonar nos modelos animais, como ventilação mecânica, hiperóxia, indução por bleomicina, ácido oleico ou lipopolissacarídeo (LPS) (MATUTE-BELLO; FREVERT; MARTIN, 2008; ROCCO; NIEMAN, 2016).

Dentre esses, o LPS é um dos métodos mais utilizados por apresentar protocolos rápidos e confiáveis para triagem e otimização de novas drogas, além de apresentar facilidade na administração e na reprodutibilidade dos protocolos experimentais e possuir respostas semelhantes às infecções bacterianas (MATUTE-BELLO; FREVERT; MARTIN, 2008; COSTA et al., 2017).

O LPS é um complexo glicolipídico presente na membrana externa de bactérias gram-negativas, sendo considerado um potente estimulante inflamatório (MORRIS; LI, 2012). Estruturalmente, é composto por uma porção lipídica (lipídeo A) e um componente polissacarídeo, denominado de antígeno O. A porção lipídica, sozinha, é responsável pela maioria dos efeitos biológicos do LPS e a cadeia O tem a capacidade de influenciar na intensidade desses efeitos (MATUTE-BELLO; FREVERT; MARTIN, 2008; MASGAEEN; GURUNG, 2020).

O LPS provoca um dano no tecido pulmonar, caracterizado por uma fase aguda, que gera o acúmulo de leucócitos, edema pulmonar, altos níveis de MPO e citocinas pró-inflamatórias no LBA (CHEN, BAI, WANG, 2010; COSTA et al., 2017). Esse dano pulmonar agudo é gerado 24 horas após a administração do LPS em camundongos ou ratos por via intranasal ou intratraqueal (CHEN; BAI; WANG, 2010). Nesse contexto, o modelo de LPA induzido por LPS demonstra ser um processo rápido e eficaz para a investigação dos mecanismos envolvidos na doença e de novas terapias.

2.3 ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS

O tratamento atual consiste em medidas de suporte dirigidas para a origem da doença, sendo a ventilação mecânica a intervenção mais comum, pois não há uma farmacoterapia específica para a LPA e a SDRA (BUTT; KURDOWSKA; ALLEN, 2016; MOKRA, 2020). A ventilação mecânica é utilizada em adultos e crianças, e

tem como objetivo assegurar uma troca gasosa adequada para minimizar lesões pulmonares secundárias e complicações extrapulmonares (ROTTA et al., 2015; MOKRA et al., 2019).

De acordo com as diretrizes de 2017 que orientam a prática clínica, a ventilação deve ser aplicada com baixos volumes correntes (quantidade de ar que entra e sai dos pulmões em cada ciclo respiratório) e baixas pressões nas vias aéreas (FAN et al., 2017). Embora seja essencial no cuidado do paciente, uma ventilação com volumes ou pressões excessivas e níveis de pressão positiva expiratória final (PEEP) baixos pode agravar a condição da lesão e a inflamação pulmonar, gerando a lesão pulmonar induzida pelo ventilador (LPIV) (NARDELLI et al., 2007; ROTTA et al., 2015).

No entanto, segundo Fan e colaboradores (2017), mesmo a PEEP mais alta sendo utilizada para melhorar alguns aspectos da LPA, pode também apresentar riscos, como lesões por distensão alveolar, aumento do *shunt* intrapulmonar, aumento do espaço morto pulmonar e maior resistência vascular pulmonar. Além disso, é capaz de aumentar a taxa de mortalidade (DIAS et al., 2021).

Nas últimas décadas, vários grupos de medicamentos foram usados para farmacoterapia da LPA/SDRA, porém alguns só tiveram uma resposta positiva em alguns subgrupos específicos de pacientes (MATTHAY; ZEMANS, 2011). Dentre as intervenções farmacológicas, os corticosteroides são prescritos com o objetivo de combater o processo inflamatório, visto que apresentam ações anti-inflamatória, antiedematosa e vasodilatadora pulmonar, embora não existam fortes evidências que apoiem a utilização desses medicamentos (MOKRA et al., 2019).

Além disso, os resultados de estudos clínicos e experimentais a respeito do uso dos corticosteroides são controversos. Essas divergências podem estar relacionadas à inclusão de pacientes, à escolha do corticosteroide, à gravidade da doença no momento da utilização do corticosteroide, à dosagem e à duração do tratamento com esses medicamentos (ZHANG; CHEN; NI, 2015; MOKRA et al., 2019). Outra questão é a série de efeitos adversos que a utilização prolongada dos corticosteroides promovem, como hipertensão, catarata, formação de úlceras pépticas e dentre outros (YASIR; GOYAL; SONTHALIA, 2018).

Outros estudos reportam que o uso de bloqueadores neuromusculares é benéfico na fase inicial da SDRA, pois existem evidências que a utilização desses fármacos diminui a inflamação sistêmica e pulmonar, assim como o consumo de

oxigênio, como também aumenta a sobrevivência dos pacientes e reduz o número de dias com ventilação. Além disso, permite facilitar a ventilação mecânica, melhorando a sincronia paciente-ventilador. Entretanto, estudos sugerem que os bloqueadores neuromusculares podem provocar fraqueza neuromuscular em pacientes gravemente enfermos quando utilizados a longo prazo (NETO et al., 2012; TORBIC; DUGGAL, 2019).

Nessa conjuntura, observa-se que a farmacoterapia para a LPA/SDRA apresenta fatores limitantes. Desse modo, é imprescindível a busca por novas estratégias terapêuticas eficazes e com menos efeitos adversos que promovam a melhora dos pacientes acometidos pela doença e reduzam a taxa de mortalidade.

2.4 O USO DE PLANTAS MEDICINAIS E O POTENCIAL TERAPÊUTICO

As plantas medicinais são utilizadas no tratamento e na prevenção de doenças por diversas culturas há muitos séculos (BRASIL, 2012; CHEROBIN et al., 2022). Esse conhecimento tradicional foi repassado no decorrer dos anos entre as diferentes gerações até os dias atuais, e vem sendo investigado por diversos autores há anos (SOUZA; COSTA, 2022). Outros fatores que influenciaram a utilização das plantas medicinais até hoje foram a grande disponibilidade, baixo custo e fácil acesso (ARAÚJO et al., 2012; IBIAPINA et al., 2014), como também, o *status* econômico das populações, visto que em populações mais pobres no Brasil, por exemplo, pode ser a única opção terapêutica por dificuldades encontradas no acesso à assistência de saúde (ARAÚJO et al., 2012).

As plantas medicinais são amplamente utilizadas devido a presença de vários compostos químicos presentes na rota sintética, os quais apresentam diferentes atividades biológicas, tais como anti-inflamatória, antioxidante e cicatrizante (ZAGO; DE MOURA, 2018). Além disso, a utilização de plantas medicinais é reconhecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma alternativa acessível no tratamento de doenças e estimula a produção de estudos acerca das propriedades, eficácia e segurança das plantas medicinais (BRASIL, 2012).

Desse modo, as plantas são empregadas na indústria farmacêutica para a descoberta de princípios ativos e no desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de diferentes enfermidades (ARGENTA et al., 2011; GADELHA et al. 2013; ZAGO; DE MOURA, 2018). Como exemplos de fármacos provenientes de

plantas medicinais pode-se mencionar a aspirina, a digitoxina, a morfina, a quinina e a pilocarpina (BUTLER, 2004).

Diante disso, a investigação dos constituintes das plantas e suas propriedades é essencial para buscar alternativas para o tratamento de várias doenças, como as inflamações pulmonares, visto que as intervenções podem ser dispendiosas e podem apresentar muitos efeitos adversos (ARAÚJO et al., 2012). Estudos recentes descrevem metabólitos secundários e plantas medicinais com ação anti-inflamatória frente a LPA, como o alcalóide milonina presente na espécie *Cissampelos sympodialis* e o extrato aquoso de *Sideroxylon obtusifolium* (MARCELINO NETO, 2019; BERNARDO, 2022). Portanto, as plantas medicinais têm sido alvo de estudos direcionados à busca de terapias alternativas para diversas enfermidades, incluindo LPA (ARGENTA et al., 2011).

2.5 FAMÍLIA MELASTOMATACEAE E O GÊNERO *Miconia*

A família Melastomataceae é composta por aproximadamente 5.750 espécies divididas em 177 gêneros, que se encontram distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (MICHELANGELI et al., 2020). No Brasil, é considerada a sexta maior família entre as angiospermas, apresentando cerca de 69 gêneros e mais de 1.450 espécies (GOLDENBERG; BAUMGRATZ; SOUZA, 2012; GOLDENBERG et al., 2023a).

As espécies da família Melastomataceae possuem uma grande variedade de hábitos que vão de herbáceo até arbustivo e estão distribuídas desde o Amazonas até o Rio Grande do Sul. Essa família está presente em todos domínios fitogeográficos com um número variável de espécies, sendo mais frequentes nos domínios da Amazônia, do Cerrado e da Mata Atlântica (ROMERO; MARTINS, 2002; GOLDENBERG; BAUMGRATZ; SOUZA, 2012; GOLDENBERG et al., 2023a).

O gênero *Miconia* Ruiz & Pav é considerado o maior gênero da família Melastomataceae e apresenta um alto grau de endemismo (GOLDENBERG; BAUMGRATZ; SOUZA, 2012; GOLDENBERG et al., 2023b). Além disso, é um dos maiores gêneros das angiospermas, possuindo em torno de 1.060 espécies, que são mais comuns na Amazônia e Mata Atlântica (GOLDENBERG, 2004, GOLDENBERG et al., 2013). Dentre essas, cerca de 270 são encontradas no Brasil e 104 são endêmicas do país (GOLDENBERG et al., 2023b). As espécies de *Miconia* são

caracterizadas por folhas sem fornicários, inflorescências geralmente terminais, hipanto sem constrição no ápice, cálice com lacínias externas reduzidas, pétalas com ápice arredondado ou emarginado e frutos semelhantes a bagas (GOLDENBERG, 2004).

As espécies do gênero *Miconia* são amplamente investigadas, demonstrando não só ter um importante papel ecológico, como também possuem um potencial terapêutico, visto que são evidenciados na literatura uma variedade de metabólitos secundários nessas espécies, como os compostos fenólicos (PIERONI et al., 2011; BARROSO et al., 2021; MESSEDER et al., 2021; FERREIRA et al., 2022). Além disso, estudos descrevem várias atividades biológicas, tais como antioxidante, anti-inflamatória, antinociceptiva e antimicrobiana (PIERONI et al., 2011; GATIS-CARRAZZONI, et al. 2019; FERREIRA et al., 2022).

2.6 A ESPÉCIE *Miconia serialis*

Miconia serialis DC. é popularmente conhecida como “tinteiro” ou “maramará branco” na região Norte do Brasil (ARAÚJO, et al., 2001; SALOMÃO, 2012). Além do Brasil, esta espécie pode ser encontrada na Venezuela, Guiana, Suriname e Guiana Francesa (MEIRELLES; GOLDENBERG, 2015). No Brasil, está distribuída em estados das regiões Norte e Nordeste, sendo encontrada na Amazônia, Caatinga e Mata Atlântica (GOLDENBERG et al., 2023b).

A espécie *M. serialis* (Figura 2) pode ser encontrada na forma de arbusto ou árvore, apresentando de 0,5 a 7 metros de altura, sendo caracterizadas por ramos cilíndricos e folhas oblanceoladas, de consistência cartácea a coriácea, com lâmina foliar apresenta ápice agudo a aristado e variadas dimensões (9,9-24,5 x 3,1-6,2 cm), face inferior lanosa e nervuras suprabasais. A planta possui panícula e frutos globosos do tipo baya (CHAGAS, 2012; MEIRELLES; GOLDENBERG, 2015).

Figura 2 – Aspectos morfológicos da espécie *Miconia serialis*



Fonte: Meirelles e Goldenberg, 2015

A figura 2 representa o aspecto geral (A), o tronco (B), a face adaxial da folha (C), a base da folha (D) e a face abaxial da folha (E) da espécie *Miconia serialis*

Em relação a sua utilização, a *M serialis* é citada em estudo como uma das plantas medicinais utilizadas em terreiros de umbanda e candomblé por comunidades afro-brasileiras da cidade de Campina Grande. Essas comunidades empregam as plantas medicinais em diferentes rituais, muitas vezes com finalidade terapêutica, para curar males físicos e mentais (GOMES; DANTAS; CATÃO, 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a triagem dos constituintes fitoquímicos e avaliar a atividade anti-inflamatória do extrato acetato de etila das partes aéreas de *Miconia serialis* em modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS em camundongos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar o extrato de acetato de etila (MsAcOEt) de *M. serialis*;
- Realizar a triagem fitoquímica do extrato;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória do extrato no modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS;
- Realizar a contagem de leucócitos total e diferencial no lavado broncoalveolar;
- Avaliar o efeito do extrato sobre a concentração de óxido nítrico (NO) no lavado broncoalveolar e no tecido pulmonar dos animais;
- Determinar as concentrações da mieloperoxidase (MPO) e do malondialdeído (MDA) no tecido pulmonar de animais;
- Realizar análise histológica.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Material botânico

As partes aéreas de *Miconia serialis* pertencem ao banco de plantas do Laboratório de Prospecção Farmacotoxicológica de Produtos Bioativos (Biofarmatox) do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A planta foi previamente coletada em uma restinga de mata atlântica no município de Barreiros – PE, e identificada no Herbário do Instituto Agrônomo de Pesquisa (IPA), onde uma exsicata foi mantida sob número de tombo 93.037.

4.1.2 Animais

Os animais foram obtidos do Biotério de criação e manutenção do Instituto Keizo Asami - LIKA UFPE. Foram utilizados camundongos fêmeas e machos da linhagem Balb/c com de idade de 60 dias. Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos experimentais de 5 animais cada, sendo divididos em controle lesionado induzido por LPS (CL); controle não lesionado (solução salina 0,9%); controle positivo (CP; dexametasona 1 mg/kg); e os pré-tratados com as doses 50, 100 ou 200 mg/kg do extrato acetato de etila. Estes animais receberam água e ração (LABINA Purina Brasil) *ad libitum* e foram mantidos sob ciclo natural claro e escuro 12-12 horas, além de condições normais de temperatura (21 ± 2 °C) e umidade (60 ± 1 %). Esta pesquisa foi previamente submetida ao comitê de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE e aprovada com o processo nº 0057/2022.

4.2 METODOLOGIAS

4.2.1 Preparação do extrato

O extrato de acetato de etila (MsAcOEt) foi obtido das partes aéreas de *M. serialis* no Laboratório de Prospecção Farmacotoxicológica de Produtos Bioativos

(Biofarmatox) - Departamento de Antibióticos/UFPE. As partes aéreas foram secas em estufa por circulação forçada de ar por 4 dias a 45 °C e o material foi triturado em moinho de facas. O material extrativo foi obtido por maceração exaustiva e ao abrigo de luz. Posteriormente, 200 g do material triturado obtido foi imerso em 1 L hexano, acetato de etila e etanol, com troca do solvente a cada 72 horas por um período de 9 dias. Após essa etapa, as soluções extrativas filtradas foram secas em evaporador rotativo para obter o extrato bruto, sendo apenas utilizado o extrato de acetato de etila nesta pesquisa.

4.2.2 Triagem fitoquímica

O extrato MsAcOEt foi submetido a uma investigação fitoquímica qualitativa, para identificar as principais classes de metabólitos secundários. Foram realizados testes em triplicata para verificar a presença ou ausência de alcaloides, triterpenos e esteroides, flavonoides, saponinas, taninos, catequinas e antocianinas. Para alcaloides, foi utilizada a reação de precipitação com o reagente de *Dragendorff*. Os triterpenos e esteróides foram identificados pela reação de *Liebermann-Burchard* e as saponinas pela agitação do extrato com formação de espuma persistente. Para os flavonóides, foram usadas reações de *Shinoda* e com hidróxido de sódio, que apresentam cor específica quando há a presença destes compostos. Para taninos, foi realizada uma reação colorimétrica com o cloreto férrico. A identificação de catequinas foi realizada através da mudança de coloração da chama, enquanto a de antocianinas foi através da reação colorimétrica a partir da mudança de pH, com o hidróxido de sódio e ácido clorídrico (GOMES; MARTINS; ALMEIDA, 2017; MOUCO; BERNARDINO; CORNÉLIO, 2003; SARAIVA et al., 2018).

4.2.3 Modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS

Os camundongos Balb/c foram divididos aleatoriamente em 6 grupos experimentais, cada grupo com 5 animais. Os animais receberam o pré-tratamento por via oral com solução salina (NaCl 0,9 %), dexametasona (1mg/kg) ou o extrato MsAcOEt (50, 100 e 200 mg/kg). Após 1 hora da administração do pré-tratamento, foi realizada a indução da inflamação. Para isto, os camundongos foram anestesiados com isoflurano e receberam com 25 µL de LPS, por via intranasal,

(*Escherichia coli*, sorotipo 026:B6, Sigma Aldrich) dissolvidos em solução salina (NaCl 0,9 %), exceto o controle não lesionado.

Os animais foram mantidos em condições normais e após 24 horas da administração do LPS, os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésico pela via intraperitoneal com uma combinação de cloridrato de cetamina a 10 % (115 mg/kg) e xilazina 2 % (10 mg/kg). Em seguida, o lavado broncoalveolar (LBA) foi coletado para a análise de migração leucocitária e dosagem de óxido nítrico (NO), como também foi retirado o tecido pulmonar para o estudo histopatológico e determinação dos níveis de NO, MDA, MPO (HABASHY; KODOUS; ABU-SERIE., 2021).

4.2.4 Determinação da quantidade de leucócitos totais e diferenciais no lavado broncoalveolar

O lavado broncoalveolar (LBA) foi retirado através da técnica de sucessivas aspirações com 1 mL de PBS (Solução tampão fosfato) utilizando uma cânula de polietileno intratraqueal. Em seguida, as células presentes no LBA foram contadas em microscópio óptico, utilizando a Câmara de Neubauer, após a diluição na proporção de 1:20 com a solução de Turk (20 µL solução de Turk + 20 µL suspensão de células), que provoca a lise das hemácias e cora os leucócitos presentes no LBA. A porcentagem de inibição da inflamação dos grupos tratados com dexametasona e com os extratos de *Miconia*, foram determinadas através da seguinte equação:
$$\text{Inibição da inflamação Grupo (\%)} = [(X_{\text{n}^\circ \text{ de leucócitos G INFLAMADO}} - X_{\text{n}^\circ \text{ de leucócitos GRUPO}}) / X_{\text{n}^\circ \text{ de leucócitos G INFLAMADO}}] \times 100.$$
 Para a contagem diferencial de células, linfócitos, monócitos, eosinófilos e neutrófilos, as lâminas foram preparadas em citocentrífuga e coradas com Panótico Rápido – Laborclin, e foram contadas até 100 células por lâmina no microscópio óptico no aumento de 100 x.

4.2.5 Determinação dos níveis de óxido nítrico (NO)

A concentração do óxido nítrico (NO) foi determinada através da reação de Griess [sulfanilamida 1 % em H₃PO₄ 5 % / N-(-1-naphthyl) - ethylenediamine 0,1 % / H₃PO₄ 5 % / diluído em água (1:1:1:1)] (Green et al. 1981). Para a reação, foi misturado 50 µL do reagente de Griess a 50 µL do LBA e a mistura foi deixada à

temperatura ambiente por 10 minutos. A absorbância foi medida em leitor de microplacas a 540 nm. Para determinar o nível de NO do tecido pulmonar foi necessário centrifugar (13.000 RPM; 15 min; 4°C) as amostras, inicialmente. A concentração de nitrito de sódio (NaNO₂) foi determinada a partir de uma curva padrão. Foi realizada a obtenção da equação da reta para o cálculo das concentrações do teste (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMAN, 1981).

4.2.6 Determinação dos níveis de mieloperoxidase (MPO)

A mieloperoxidase é uma medida indireta da concentração de neutrófilos. A concentração da MPO foi determinada pelo método descrito por Bradley e colaboradores (1982). Os fragmentos do pulmão foram homogeneizados em solução de brometo de hexadeciltrimetilamônio 0,5 % (HTAB) diluído em tampão fosfato de sódio 50 mM. Em seguida, o homogenato foi centrifugado em 8.300 rpm, por 10 minutos, a 4 °C. Posteriormente, foi coletado 10 µL do sobrenadante e adicionado em uma placa de 96 poços. Na mesma placa também foram adicionados 200 µL da solução de reação (cloridrato de o-dianisidina - 0,167 mg/mL, fosfato de sódio 50 mM e peróxido de hidrogênio 0,0005 %). Após 10 minutos de incubação, a absorbância foi medida em leitor de microplacas a 450 nm (BRADLEY et al, 1982, RAO et al, 1993).

4.2.7 Determinação do níveis de malondialdeído (MDA)

A quantificação do malondialdeído foi utilizada para determinar a taxa de peroxidação lipídica. A concentração de MDA foi determinada através do método descrito por Uchiyama e Mihara (1978), com modificações, baseado na reação com o ácido tiobarbitúrico. Uma porção do tecido pulmonar foi homogeneizada com cloreto de potássio (KCl) 1 %, preparando assim 10 % de homogenato (100 mg de tecido/mL). Este homogenato foi centrifugado (5.000 RPM; 10 min; 4°C) e foram acrescentados 3 mL de ácido fosfórico (H₃PO₄) (1 %) e 1 mL de uma solução aquosa de ácido tiobarbitúrico. As amostras foram colocadas em banho termostático a 95 °C por 45 minutos. Após resfriadas, as amostras foram adicionadas em placa de 96 poços. A absorbância foi medida em leitor de microplacas a 535 nm. Os resultados foram expressos em mmol/g de tecido.

4.2.8 Análise histológica

Para análise histológica, os pulmões foram incubados com solução fixadora (10 % de formalina tamponada). As amostras foram desidratadas em uma série crescente de etanol, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Posteriormente, o material parafinado foi cortado em micrótomo para confecção das lâminas histológicas. Estes cortes foram desparafinados em estufa, reidratados e submetidos à coloração por hematoxilina-eosina (H&E). Após isso, as lâminas histológicas foram examinadas com o auxílio de um microscópio óptico para avaliação morfológica.

4.2.9 Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente no software *GraphPad Prisma* versão 8.0 por análise de variância (One-way ANOVA), seguidas do teste de *Dunnet* para comparações múltiplas e as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para p -valor < 0.05 .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DO EXTRATO

Após a extração por maceração exaustiva das partes aéreas de *M. serialis*, o extrato em acetato de etila (AcOEt) apresentou um rendimento de 2,3 %. O rendimento do extrato foi calculado a partir da relação entre o peso do extrato e o peso seco dos materiais vegetais utilizados. Analisando as literaturas disponíveis com rendimentos extrativos de diferentes espécies de *Miconia*, estes condizem com o resultado encontrado neste estudo para *M. serialis*. No estudo de Leite (2016), os extratos em AcOEt das espécies *M. amacurensis*, *M. holosericea* e *M. prasina* apresentaram rendimentos de 2,3 %, 1,8 % e 1,7 % respectivamente. Já Barroso (2015) ao preparar o extrato em AcOEt de *M. ferruginata* obteve o rendimento de 1,6 % e Borba (2017) que investigando o extrato em AcOEt de *M. caiuia* obteve um rendimento de 1,8 %, sendo então resultados semelhantes ao encontrado neste estudo.

5.2 TRIAGEM FITOQUÍMICA

A partir da avaliação fitoquímica neste estudo, pode-se detectar a presença dos seguintes metabólitos secundários no extrato MsAcOEt: alcaloides, triterpenos e esteroides e flavonoides, conforme a Tabela 1.

Por outro lado, saponinas, taninos, catequina e antocianina não foram detectados. No entanto, esse resultado negativo, não implica necessariamente na ausência desses metabólitos, visto que fatores externos, como radiação ultravioleta, condições climáticas e dentre outros, podem influenciar nas concentrações e presenças dos metabólitos nas plantas (FERREIRA, 2018).

Tabela 1 – Triagem fitoquímica do extrato acetato de etila das partes aéreas de *M. serialis*

Metabólito	Resultado
Alcaloides	+
Triterpenos e esteroides	+
Saponinas	-
Flavonoides	+
Taninos	-
Catequinas	-
Antocianinas	-

Fonte: autoria própria

(+) Detectada a presença do metabólito; (-) Não detectada;

A presença de esteroides e triterpenos corrobora com os estudos de Oliveira e colaboradores (2005), em que cinco triterpenos foram isolados das espécies *M. sellowiana* e *M. ligustroides*, e de Crevelin et al. (2006) que isolou nove triterpenos e esteroides de seis espécies de *Miconia*. Outros estudos também identificaram a presença de triterpenos em extratos de acetato de etila de outras espécies do gênero, como em seis espécies do gênero *Miconia* por Leite (2016), em *M. minutiflora* por Gatis-Carrazzoni (2016) e em *M. prasina* por Oliveira (2017), assim, evidenciando que a presença deste metabólito é comum no gênero *Miconia*.

Além disso, os esteroides e triterpenos são associados às atividades antioxidante, antifúngica e anti-inflamatória (DZOYEM et al. 2021; AHMED et al.

2022; SUNG et al. 2023). Como também, na literatura foram encontrados estudos acerca da atividade anti-inflamatória em modelo *in vivo* apresentada por triterpenos isolados de plantas do gênero *Miconia* (VASCONCELOS et al., 2006).

Além dos triterpenos, os flavonoides também foram detectados no extrato de acetato de etila de *M. amacurensis*, *M. holosericea*, *M. hypoleuca*, *M. prasina*, *M. affinis* e *M. caiuia* (LEITE, 2016; BORBA, 2017; OLIVEIRA, 2017). Os flavonoides são uma classe de metabólitos pertencente aos compostos fenólicos que está presente em diversas plantas e tem sido relatada na literatura com uma variedade de atividades farmacológicas, tais como antitumoral, antioxidante e anti-inflamatória (SANTOS; RODRIGUES, 2017). Esses metabólitos são descritos como promissores frente aos processos inflamatórios, atuando em diferentes mecanismos, por exemplo, inibindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e modulando a enzima que forma o óxido nítrico (COUTINHO; MUZITANO; COSTA, 2009).

Em relação aos alcaloides, trata-se de uma classe de metabólitos com uma diversidade estrutural que conferem diferentes propriedades terapêuticas, dentre estas pode-se citar a atividade antimicrobiana, antitumoral e anti-inflamatória (LIU et al. 2019; YAN et al, 2021). Além disso, estudos recentes também comprovaram o potencial anti-inflamatória de alcaloides frente à lesão pulmonar aguda (FERREIRA, 2020; BERNARDO, 2022). Nessa conjuntura, a presença desses metabólitos sugere que a atividade biológica do extrato está associada a estes constituintes químicos.

5.3 EFEITO DO MsAcOEt NA MIGRAÇÃO DE LEUCÓCITOS TOTAIS E DIFERENCIAIS DO LAVADO BRONCOALVEOLAR

Na Tabela 2, o grupo controle não lesionado (CNL) apresentou uma diferença significativa com $p < 0,0001$ em relação ao grupo controle lesionado (CL), evidenciada pelo aumento do número de leucócitos totais no LBA dos animais submetidos ao LPS, confirmando a viabilidade do modelo de lesão pulmonar aguda induzida por LPS.

O MsAcOEt, em todas as doses, apresentou redução significativa no número total de leucócitos em comparação ao grupo CL ($p < 0,0001$), assim como o fármaco de referência, dexametasona (CP; 1 mg/kg). Os grupos pré-tratados com o MsAcOEt nas concentrações de 50, 100 e 200 mg/kg inibiram a migração celular em 63,8 %, 85,2 % e 93,2 %, respectivamente.

Tabela 2 – Total de leucócitos polimorfonucleares e percentual de inibição da migração celular no lavado broncoalveolar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS e após o pré-tratamento com diferentes doses de MsAcOEt.

Grupo	Nº de leucócitos/mL (x 10⁶)	Inibição (%)
Controle não lesionado	2,00 ± 0,04	-
Controle lesionado	28,69 ± 0,70	-
Controle positivo	1,56 ± 0,75****	94,8
50 mg/kg	10,74 ± 1,97****	63,8
100 mg/kg	4,40 ± 1,96****	85,2
200 mg/kg	2,00 ± 1,20****	93,2

Fonte: autoria própria

Resultados em média ± desvio padrão. Grupos: controle não lesionado - solução salina a 0,9 % (CNL), controle lesionado induzido por LPS (CL), controle positivo - dexametasona 1 mg/kg (CP) e diferentes doses de MsAcOEt. Utilizou-se ANOVA seguido do teste de Dunnett para comparações múltiplas (**** $p < 0.0001$), comparando ao grupo CL.

Em relação a contagem diferencial de células presentes no LBA apresentada na Tabela 3, os dados demonstraram que as doses de 50, 100 e 200 mg/kg de MsAcOEt inibiram de forma significativa o recrutamento de neutrófilos bastonetes (71,4 %, 64,3 % e 92,9 %, respectivamente) e segmentados (71,4 %, 71,4 % e 85,7 %, respectivamente), eosinófilos (50 %; 90 % e 90 %, respectivamente), e monócitos (58,5 %, 65,9 % e 95,1 %, respectivamente) para o pulmão em comparação ao grupo CL. Foi observado que o MsAcOEt apenas na dose de 100 mg/kg causou uma redução ($p=0,0018$) na migração de linfócitos de 78,6 % em relação ao grupo CL. Por outro lado, foi verificado um aumento representativo na migração de basófilos nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg ($p < 0,0001$, $p < 0,0001$ e $p=0,0011$, respectivamente) em comparação ao grupo CL.

Tabela 3 – Contagem diferencial no lavado broncoalveolar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS e após o pré-tratamento com diferentes doses de MsAcOEt

GRUPOS	CL	CP	50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
Segmentado (%)	21 ± 5	4 ± 1****	6 ± 3****	6 ± 2****	3 ± 2****
Linfócito (%)	14 ± 3	65 ± 1****	13 ± 4	3 ± 2**	9 ± 2
Monócito (%)	41 ± 6	2 ± 2****	17 ± 3****	14 ± 1****	2 ± 2****
Eosinófilo (%)	20 ± 2	5 ± 2****	10 ± 2****	2 ± 2****	2 ± 1****
Bastonete (%)	14 ± 2	5 ± 1****	4 ± 1****	5 ± 1****	1 ± 1****
Basófilo (%)	9 ± 3	13 ± 1	55 ± 3****	66 ± 4****	22 ± 1**

Fonte: autoria própria

Resultados em média ± desvio padrão. Grupos: controle não lesionado - solução salina a 0,9 % (CNL), controle lesionado induzido por LPS (CL), controle positivo - dexametasona 1 mg/kg (CP) e diferentes doses de MsAcOEt. Utilizou-se ANOVA seguido do teste de Dunnett para comparações múltiplas (****p<0.0001, **p<0,05), comparando ao grupo CL.

O LPS tem a capacidade de afetar a integridade das células pulmonares, como os pneumócitos e macrófagos, atingindo os espaços aéreos e levando a inflamação e toxicidade local e sistêmica. Desse modo, são capazes de reproduzir as características chaves da LPA, dentre elas o recrutamento de leucócitos polimorfonucleares (CHEN, BAI, WANG, 2010; NOVA; SKOVIEROVA; CALKOVSKA, 2019).

Neste estudo foi identificado um número elevado de neutrófilos em bastão, denominado de bastonetes, e segmentados no grupo CL. Na patogênese da LPA, os neutrófilos segmentados são as primeiras células a serem recrutadas para o foco inflamatório, assim promovendo características chaves da LPA e desempenhando um papel importante na progressão da doença (GROMMES; SOEHNLEIN, 2011;

BLÁZQUEZ-PRIETO et al. 2018). Além disso, os neutrófilos bastonetes são células imaturas advindas da medula óssea que são liberadas no combate a infecção (SILVA; COSTA, 2020). Em contraste, os grupos pré-tratados com as doses de MsAcOEt reduziram a migração dos neutrófilos, apresentando valores próximos e até menores que o grupo CP, sugerindo uma atenuação do dano tecidual nestes grupos.

Em contrapartida, apesar do MsAcOEt na dose de 100 mg/kg ter reduzido o número de linfócitos, estas células não possuem uma atividade relevante na fase aguda da LPA, tendo um aumento observado apenas dias depois do início da doença (XU et al., 2016). Os basófilos são células encontradas em baixa quantidade em condições normais, então podem ter sido aumentados devido às condições fisiológicas dos animais, pois estes leucócitos estão associados a infecções parasitárias. Além disso, boa parte das suas funções *in vivo* ainda é desconhecida e estudos relacionados a LPA são escassos (VALDIVIA-SILVA, 2012; BARROS, 2016).

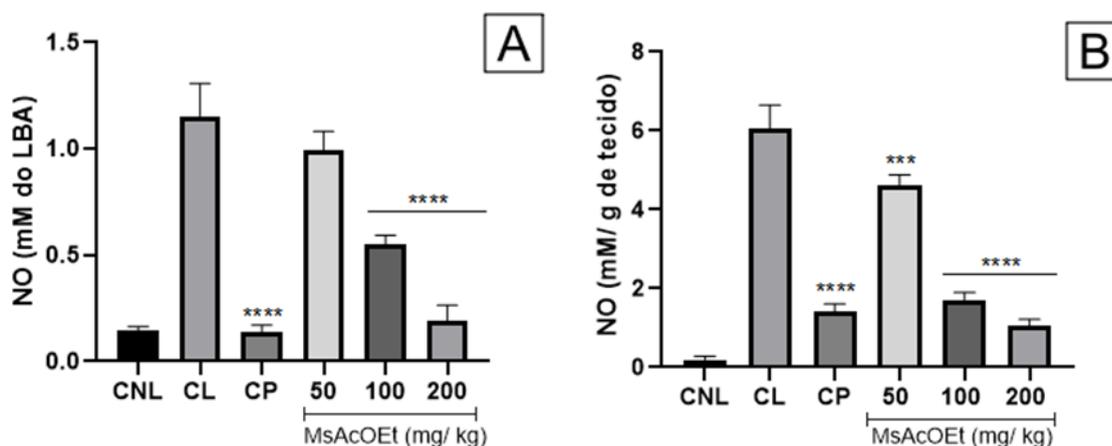
Já os eosinófilos podem estar envolvidos na LPA, contudo apresentam uma atividade menor em comparação aos neutrófilos, não promovendo sequelas em pacientes com esse quadro clínico (CAMPOS; PEREIRA, 2009). Além disso, apesar de não ser considerado um marcador confiável da doença, Willetts e colaboradores (2011) identificaram eosinófilos em quantidade e níveis de desgranulação aumentados em pacientes com LPA.

Em relação aos monócitos, a redução da migração destas células é muito importante, visto que são precursores dos macrófagos. Dentre os macrófagos, os alveolares são células fundamentais na caracterização inflamatória da LPA, pois apresentam várias funções, tais como a secreção substâncias pró-inflamatórias em resposta a presença de invasores, como o LPS (AGGARWAL; KING; D'ALESSIO, 2014; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ et al. 2022). Nesse contexto, a redução da migração de leucócitos sugere preliminarmente o efeito anti-inflamatório do MsAcOEt.

5.4 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE ÓXIDO NÍTRICO (NO)

Conforme mostrado na Figura 3, os grupos pré-tratados com as doses de 100 e 200 mg/kg do MsAcOEt apresentaram uma redução significativa do NO para $0,55 \pm 0,04$ mM e $0,19 \pm 0,08$ mM, respectivamente, em relação ao grupo CL, assim como o grupo CP que reduziu o NO para $0,14 \pm 0,03$ mM.

Figura 3 – Efeito do MsAcOEt sobre a produção de óxido nítrico (NO) no lavado broncoalveolar e no tecido pulmonar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS



Fonte: Autoria própria

Resultados em média \pm desvio padrão. NO do lavado broncoalveolar (A) e NO tecidual (B). Grupos: controle não lesionado - solução salina a 0,9 % (CNL), controle lesionado induzido por LPS (CL), controle positivo - dexametasona 1 mg/kg (CP) e diferentes doses de MsAcOEt. Utilizou-se ANOVA seguido do teste de Dunnett para comparações múltiplas (***p < 0,0002 e ****p < 0,0001), comparando ao grupo CL.

Em relação ao NO tecidual, apresentado na Figura 3, o grupo CNL também apresentou diferença significativa (p < 0,0001) em relação ao grupo CL (0,20 \pm 0,09 mM vs 6,05 \pm 0,60 mM, respectivamente). Além disso, o grupo pré-tratado com a dose 50 mg/kg de MsAcOEt reduziu o NO para 4,63 \pm 0,25 mM, enquanto que os pré-tratados com as doses 100 e 200 mg/kg reduziu em 4 vezes (1,70 \pm 0,21 mM) e 6 vezes (1,07 \pm 0,15 mM), respectivamente, o NO tecidual em relação ao grupo CL (6,05 \pm 0,60 mM). A dose de 200 mg/kg do MsAcOEt apresentou uma redução maior que o grupo CP, que reduziu o NO em 4 vezes (1,42 \pm 0,19 mM).

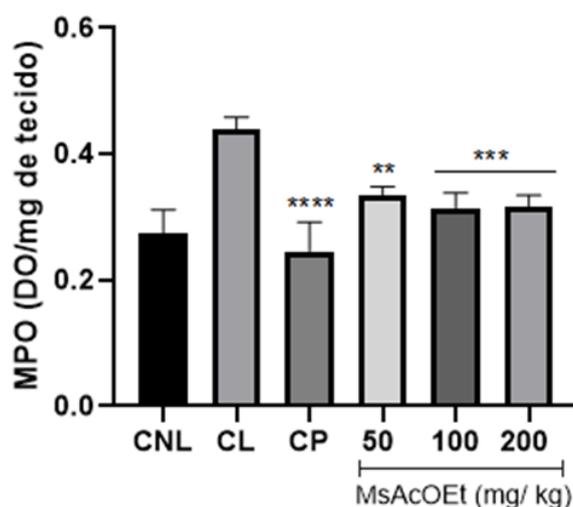
Durante a inflamação, o óxido nítrico (NO) é liberado em excesso principalmente por uma reação conduzida pela enzima óxido nítrico-sintase induzida (iNOS) (KRÓL; KEPINSKA, 2020). O NO em condições elevadas pode promover dano oxidativo, através da formação de peroxinitrito e outros mediadores inflamatórios, assim potencializando a lesão no tecido (ZHOU et al., 2003; MEHTA, 2005). Portanto, esta redução no nível de NO pode estar associada à redução da migração de leucócitos, pois os macrófagos alveolares, células epiteliais e células do infiltrado inflamatório são as principais células que expressam a iNOS (ALESSIO et

al., 2017). Diante disso, estes dados sugerem que MsAcOEt atenuaram o dano tecidual promovido pelo NO em todas as doses testadas, destacando-se a dose de 200 mg/kg que apresentou maior redução tanto no nível do NO do LBA quanto no nível do NO tecidual.

5.5 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MIELOPEROXIDASE (MPO)

Conforme mostrado na Figura 4, houve uma diferença significativa ($p < 0,0001$) nos níveis da MPO entre o grupo CNL e o grupo CL, evidenciada pelo nível elevado da MPO no grupo CL, comprovando assim, a indução da inflamação neste grupo. MsAcOEt nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg de redução os níveis da MPO em 24,1 %, 28,4% e 27,9%, respectivamente, em comparação ao grupo CL. O grupo CP inibiu 44,05 % ($p < 0,0001$) o nível da MPO quando comparado ao grupo CL.

Figura 4 – Efeito do MsAcOEt sobre a produção da Mieloperoxidase (MPO) em tecido pulmonar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS



Fonte: Autoria própria

Resultados em média \pm desvio padrão. Grupos: controle não lesionado - solução salina a 0,9 % (CNL), controle lesionado induzido por LPS (CL), controle positivo - dexametasona 1 mg/kg (CP) e diferentes doses de MsAcOEt. Utilizou-se ANOVA seguido do teste de Dunnett para comparações múltiplas (** $p = 0,0029$; *** $p < 0,05$ e **** $p < 0,0001$), comparando ao grupo CL.

A MPO é uma enzima fisiologicamente expressa em neutrófilos circulantes, monócitos e alguns macrófagos teciduais, no entanto, é encontrada em maior

quantidade nos neutrófilos, visto que está presente nos grânulos azurófilos destas células. Esta enzima tem sua secreção aumentada durante o processo inflamatório. Desse modo a MPO pode ser usada como um marcador de neutrofilia em casos de inflamação aguda, lesão pulmonar aguda e sepse (FAITH et al., 2008; ARATANI, 2018; KHAN; ALSAHLI; RAHMANI, 2018).

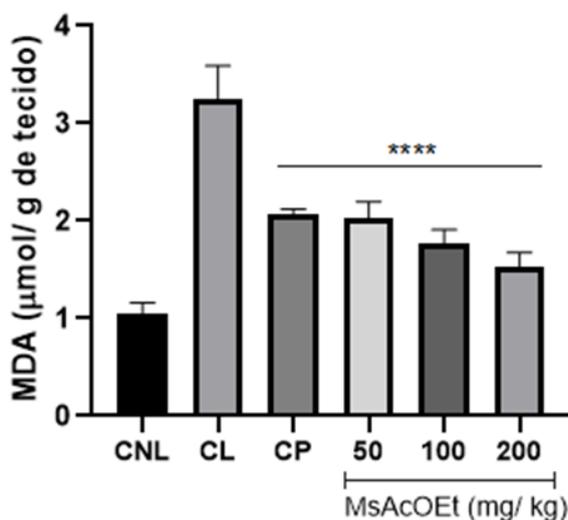
A inibição da MPO pode regular positivamente a patogênese inflamatória (KHAN; ALSAHLI; RAHMANI, 2018). Além disso, um estudo com o extrato metanólico de *M. minutiflora* mostrou que a redução significativa de MPO contribuiu na atividade anti-inflamatória do extrato em modelo de edema de pata induzido por carragenina (GÁTIS-CARRAZZONI et al., 2019). Côrrea et al. (2021) também apresentou uma descrição similar a respeito da MPO, em modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton, para o extrato dos frutos de *M. albicans*.

Sendo assim, nossos achados corroboram com os estudos da literatura, confirmando a redução da migração de leucócitos, com predominância de neutrófilos, através do pré-tratamento com as doses de MsAcOEt, no tecido pulmonar dos animais induzidos por LPS. Portanto, pode-se inferir que a redução da MPO contribuiu com o efeito anti-inflamatório do MsAcOEt.

5.6 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA)

Nesse estudo, o nível de MDA aumentou consideravelmente no grupo CL em relação ao grupo CNL (Figura 5). Os grupos de animais que receberam os pré-tratamentos com as doses de 50, 100 e 200 mg/kg do MsAcOEt apresentaram uma redução significativa ($p < 0,0001$) do nível de MDA quando comparados ao grupo CL, apresentado uma redução de 37,43%, 45,4% e 53%, respectivamente. Assim como o grupo CP, que apresentou uma diminuição significativa com $p < 0,0001$ em relação ao grupo CL.

Figura 5 – Efeito do MsAcOEt sobre a produção de malondialdeído (MDA) em tecido pulmonar de animais submetidos a lesão pulmonar aguda induzida por LPS



Fonte: Autoria própria

Resultados em média \pm desvio padrão. Grupos: controle não lesionado - solução salina a 0,9 % (CNL), controle lesionado induzido por LPS (CL), controle positivo - dexametasona 1 mg/kg (CP) e diferentes doses de MsAcOEt. Utilizou-se ANOVA seguido do teste de Dunnett para comparações múltiplas (**** $p < 0.0001$), comparando ao grupo CL.

Estudos com diferentes espécies do gênero *Miconia* evidenciam que a presença de compostos fenólicos, como os flavonoides, conferem atividade antioxidante a estas plantas (GONZÁLEZ, 2016; GONTIJO et al., 2019; MANZANO et al. 2022). Esta atividade é muito importante para proteção de células contra efeitos dos radicais livres em diferentes doenças (VELLOSA et al. 2021). Estes radicais em condições elevadas estimulam a produção de diferentes substâncias, como o MDA que é um produto final da peroxidação lipídica nas células. Desse modo, o MDA é considerado um marcador de estresse oxidativo (LANG et al., 2002; GAWEL et al., 2004).

Portanto, esses resultados sugerem MsAcOEt em todas as concentrações testadas de atenuou o dano oxidativo promovido pelos radicais livres no tecido pulmonar dos animais, destacando-se as concentrações de 100 e 200 mg/kg. Este efeito pode estar relacionado à presença de flavonoides no MsAcOEt conforme apresentado neste estudo (Tabela 1), visto que são compostos descritos na literatura com a capacidade de eliminar as EROs. Além disso, o efeito antioxidante é relatado

como uma característica de diferentes compostos fenólicos (BANJARNAHOR; ARTANTI, 2014; SAN MIGUEL-CHAVEZ, 2017).

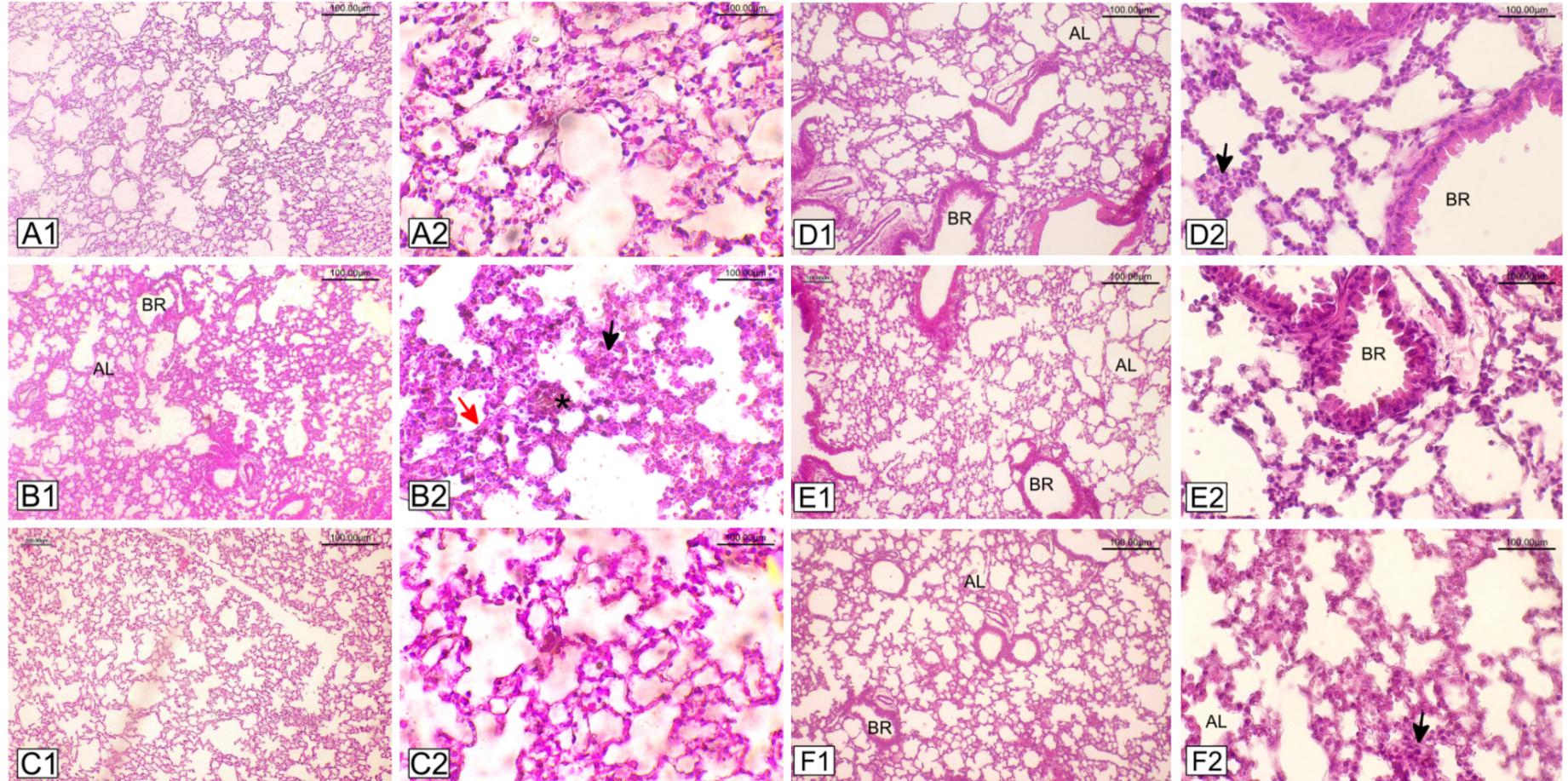
5.7 AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS NO MODELO DE LPA

Ao analisar morfológicamente os cortes de pulmões corados com hematoxilina e eosina, observou-se que o grupo controle não lesionado (Figura 6-A) não demonstrou alterações, o qual apresentou estrutura normal dos alvéolos, sem sinais de inflamação ou espessamento dos septos alveolares. Por outro lado, no grupo controle lesionado induzido por LPS, verificou-se espessamento variável dos septos alveolares, focos hemorrágicos e infiltrado celular em decorrência do processo inflamatório, conforme apresentado na Figura 6-B. Estes aspectos estão alinhados com o número elevado de leucócitos totais no LBA do grupo controle lesionado com LPS identificado neste estudo (Tabela 2).

Em contrapartida, na avaliação morfológica do tecido pulmonar dos grupos submetidos ao pré-tratamento com as diferentes concentrações de MsAcOEt (Figura 6) observamos que os danos foram atenuados em comparação com a morfologia do grupo lesionado. No tecido pulmonar dos animais pré-tratados com as doses 50, 100 e 200 mg/kg ocorreu uma atenuação dos danos. Nesses grupos, os bronquíolos apresentaram a arquitetura preservada, porém ainda foi possível observar algumas regiões com a presença de infiltrados celulares e áreas com espessamento dos septos alveolares.

Os infiltrados celulares apresentam vários leucócitos que são recrutados para o foco inflamatório com o intuito de combater invasores (WEAVERS; MARTIN, 2020). No entanto, apresentam a capacidade de prolongar a inflamação e exacerbar o dano tecidual através da liberação de componentes tóxicos ao tecido, como radicais livres e enzimas (BECHARA; SZABÓ, 2006; ETIENNE; VIEGAS; VIEGAS, 2021). Portanto, pode-se inferir que a atenuação do dano tecidual está associada à inibição da migração de leucócitos no LBA desses animais, gerada pelas diferentes doses do extrato (Tabela 2).

Figura 6 – Alterações morfológicas do pulmão de animais submetidos a LPA induzida por LPS



Fonte: Autoria própria

A figura 6 representa os grupos controles e as diferentes doses de MsAcOEt. A- Grupo controle não lesionado (solução salina a 0,9 %): A1 (100X) e A2 (400x); B- grupo controle lesionado induzido por LPS: B1 (100x) e B2 (400X); C- grupo controle positivo (dexametasona 1 mg/kg): C1 (100x) e C2 (400X). D- grupo 50 mg/kg: D1 (100X) e D2 (400x); E- grupo 100 mg/kg: E1 (100x) e E2 (400X); F- grupo 200 mg/kg: F1 (100x) e F2 (400X). Na figura 6 pode ser observado foco hemorrágico (*), infiltrado celular (seta preta), espessamento do septo alveolar (seta vermelha), alvéolos pulmonares (AL) e bronquíolo (BR)

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo, foi possível concluir que o extrato de *M. serialis* apresentou a capacidade de inibir a migração leucocitária, principalmente neutrófilos, monócitos e eosinófilos, para as vias aéreas e pulmões. Além disso, foi capaz de reduzir os níveis de mieloperoxidase e malondialdeído no tecido pulmonar, e os níveis de óxido nítrico no lavado broncoalveolar e no tecido pulmonar. Como também, promoveu a atenuação de danos característicos da lesão pulmonar aguda no tecido pulmonar. Sendo assim, o extrato de *M. serialis* sugere um efeito anti-inflamatório que pode estar associado a presença de flavonoides, triterpenos, esteróides e alcaloides neste extrato, sendo necessária uma investigação mais aprofundada em modelos crônicos de inflamação e a identificação dos compostos químicos responsáveis pelas atividades. Ao realizar uma análise geral das doses avaliadas do extrato, a de 200 mg/kg apresentou os melhores efeitos frente à lesão pulmonar aguda. Portanto, estes dados ressaltam a importância da investigação das propriedades das plantas medicinais e evidenciam o potencial anti-inflamatório de *M. serialis* frente à lesão pulmonar aguda, contribuindo assim na busca por estratégias terapêuticas para doenças inflamatórias pulmonares.

7 PERSPECTIVAS

Como perspectivas para a continuidade deste estudo, destacamos a identificação e quantificação dos compostos responsáveis pela atividade na *M. serialis*; a avaliação de algumas interleucinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) e anti-inflamatórias (IL-10) no LBA e no tecido pulmonar nos diferentes grupos experimentais; avaliar o score da inflamação no tecido pulmonar; e avaliar os diferentes mecanismos de ação pelo qual a *M. serialis* diminui a inflamação.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, N. R.; KING, L. S.; D'ALESSIO, F. R. Diverse macrophage populations mediate acute lung inflammation and resolution. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 306, n. 8, p. L709-L725, 2014.
- AHMED, M. et al. Antioxidant, antifungal, and aphicidal activity of the triterpenoids spinasterol and 22,23-dihydrospinasterol from leaves of *Citrullus colocynthis* L. **Nature**. v. 12, n. 1, 22 mar. 2022.
- ALVAREZ, Paulina Fernanda Parra. **Evaluación del efecto antiinflamatorio de los extractos (*Miconia pseudocentrophora*, *Brachyotum ledifolium*, *Fuchsia loxensis*) en ratas (*Rattus norvegicus*)**. 2014. 106f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Bioquímica Farmacêutica). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Equador, 2014.
- AMATO, M. B. P. et al. Ventilação mecânica na lesão pulmonar aguda (LPA)/Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA). **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 33, p. 119-127, 2007.
- ARATANI, Y. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 640, p. 47–52, 15 fev. 2018.
- ARAÚJO, K. R. M. et al. Plantas medicinais no tratamento de doenças respiratórias na infância: uma visão do saber popular. **Rev Rene**, v. 13, n. 3, p. 659-666, 2012.
- ARAÚJO, M. M. et al. Densidade e composição florística do banco de sementes do solo de florestas sucessionais na região do Baixo Rio Guamá, Amazônia Oriental. **Scientia Florestalis**, v. 59, n. 9, p. 115-130, 2001.
- ARGENTA, Scheila Crestanello et al. Plantas medicinais: cultura popular versus ciência. **Vivências**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.
- ARTEEL, G. E. Liver-lung axes in alcohol-related liver disease. **Clinical and Molecular Hepatology**, v. 26, n. 4, p. 670, 2020.
- ASHBAUGH, D. G et al. Acute respiratory distress in adults. **The Lancet**, v. 290, n. 7511, p. 319-323, 1967.
- AULAKH, G. K. Neutrophils in the lung: “the first responders”. **Cell and Tissue Research**, v. 371, n. 3, p. 577–588, 18 dez. 2017.
- BANJARNAHOR, S. D. S.; ARTANTI, N. Antioxidant properties of flavonoids. **Medical Journal of Indonesia**, v. 23, n. 4, p. 239–44, 2014.
- BARBAS, C. S. V. Lesão pulmonar aguda e síndrome do desconforto respiratório agudo: dificuldades diagnósticas. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 33, p. xxv-xxvi, 2007.
- BARROS, Michaelle Fernanda Rezende de. **Parasitas e resposta imunitária: a ação da resposta inata**. 2016. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em

Biomedicina). Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2016.

BARROSO, P. R. **Fitoquímica e atividades biológicas e *Miconia ferruginata* DC. (Melastomataceae)**. 2015. 255f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Vale de Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2015.

BARROSO, P. R. et al. Biological activity and chemical composition of the ethanolic extracts of *Miconia ferruginata* DC. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 37798-37819, 2021.

BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J. Processo inflamatório. 1. Alterações vasculares e medicação química. **Componente e Eventos Celulares**, p.15, 2006.

BELLANI, G. et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. **Jama**, v. 315, n. 8, p. 788-800, 2016.

BERNARD, G. R. et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 149, n. 3, p. 818-824, 1994.

BERNARDO, Larissa Rodrigues. **Avaliação do mecanismo de ação da milonina no modelo murino de lesão pulmonar aguda e estudos *in silico***. 2022. 118f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2022.

BLAZQUEZ-PRIETO, Jorge et al. The emerging role of neutrophils in repair after acute lung injury. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 59, n. 3, p. 289-294, 2018.

BORBA, Elizabeth Fernanda de Oliveira. **Estudo químico e avaliação das atividades biológicas de três espécies do gênero *Miconia* (Melastomataceae)**. 2017. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

BRADLEY, P. P. et al. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**. v. 60, n. 3, p. 618-622. 1982.

BRASIL, M. S. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. **Cad. At. Basica**, n. 31, 2012.

BUTLER, M. S. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of natural products**, v. 67, n. 12, p. 2141-2153, 2004.

BUTT, Y.; KURDOWSKA, A.; ALLEN, T. C. Acute lung injury: a clinical and molecular review. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 140, n. 4, p. 345-350, 2016.

CAMPOS, L. E. M.; PEREIRA, L. F. F. Eosinofilia pulmonar. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, p. 561-573, 2009.

CASER, E. B. et al. Impact of distinct definitions of acute lung injury on its incidence and outcomes in Brazilian ICUs: prospective evaluation of 7,133 patients. **Critical care medicine**, v. 42, n. 3, p. 574-582, 2014.

CHAGAS, E. C. O. **O Gênero Miconia Ruiz & Pav.(Melastomataceae) na Floresta Atlântica do Nordeste Oriental**. 2012. 125f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, p. 115, 2012.

CHEN, H.; BAI, C.; WANG, X. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine. **Expert Review of Respiratory Medicine**, v. 4, n. 6, p. 773–783, dez. 2010.

CHEN, X. et al. Macrophage polarization and its role in the pathogenesis of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. **Inflammation Research**, v. 69, n. 9, p. 883–895, 10 jul. 2020.

CHEROBIN, F. et al. Plantas medicinais e políticas públicas de saúde: novos olhares sobre antigas práticas. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 32, p. e320306, 2022.

CORRÊA, J. G. S. et al. Chemical profile, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Miconia albicans* (Sw.) Triana (Melastomataceae) fruits extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 273, p. 113979, 2021.

COUTINHO, L. de C. M. et al. Estudo fitoquímico do extrato bruto da espécie *Miconia Albicans* (Sw.) TRIANA. **Arigó-Revista do Grupo PET e Acadêmicos de Geografia da Ufac**, v. 3, n. 2, 2020.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes Terapêuticos para o Processo Inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 241–256, 2009.

CREVELIN, E. J. et al. Identification of biologically active triterpenes and sterols present in hexane extracts from *Miconia* species using high-resolution gas chromatography. **Biomedica chromatography**, v. 20, n. 8, p. 827–830, 2006.

D'ALESSIO, F. R. D. et al. Resolution of experimental lung injury by monocyte-derived inducible nitric oxide synthase. **The Journal of Immunology**, v. 189, n. 5, p. 2234-2245, 2012.

DE HARO, C. et al. Acute respiratory distress syndrome: prevention and early recognition. **Annals of Intensive Care**, v. 3, n. 1, p. 11, 2013.

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

DIAS, A. G. D. et al. O monitoramento da mecânica pulmonar na ventilação mecânica. **Biológicas & Saúde**, v.11, n.40, p.54-69, 2021.

DIAS-JUNIOR, C. A. Papel do óxido nítrico na regulação da circulação pulmonar: implicações fisiológicas, fisiopatológicas e terapêuticas. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v.34, p.412-419, 2008.

DZOYEM, J. P. et al. Bioguided identification of pentacyclic triterpenoids as anti-inflammatory bioactive constituents of *Ocimum gratissimum* extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 268, p. 113637, 2021.

ETIENNE, R.; VIEGAS, F. P. D.; VIEGAS, J. C. Pathophysiological Aspects of Inflammation and Drug Design: an Updated Overview. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, p. 167–191, 2021.

FAITH, M. et al. How reliable an indicator of inflammation is myeloperoxidase activity? **Clinica Chimica Acta**, v. 396, n. 1-2, p. 23–25, out. 2008.

FAN, E. et al. An official American Thoracic Society/European Society of Intensive Care Medicine/Society of Critical Care Medicine clinical practice guideline: mechanical ventilation in adult patients with acute respiratory distress syndrome. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 195, n. 9, p. 1253-1263, 2017.

FERREIRA, Alanna Evellin Alves. **Atividade biológica e caracterização de compostos presentes nas folhas e cascas de *Cordia sessilis* (Vell)**. 2018. 118f. Kuntze. Dissertação (mestrado em Química). Programa de Pós Graduação em química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

FERREIRA, Larissa Adilis Maria Paiva. **Efeito do alcaloide Curina nas vias de transdução de sinais TLR4/NFκB em granulócitos do pulmão no modelo experimental de Lesão Pulmonar Aguda**. 2020. 93f. Dissertação (Mestrado em Produtos naturais e sintéticos bioativos), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

FERREIRA, N. S. et al. Flavanone glycosides, triterpenes, volatile compounds and antimicrobial activity of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC.(Melastomataceae). **Molecules**, v. 27, n. 6, p. 2005, 2022.

GADELHA, C. S. et al. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 27, 2013.

GÁTIS-CARRAZZONI, Aline Stamford Henrique da Silva Guerra. **Avaliação do potencial anti-inflamatório e antinociceptivo de *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC.(Melastomataceae)**. 2016. 100f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

GATIS-CARRAZZONI, A. S. S. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the leaf methanol extract of *Miconia minutiflora* (Bonpl.) DC. and characterization of compounds by UPLC-DAD-QTOF-MS/MS. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 392, p. 55-68, 2019.

GAWEŁ, S. et al. [Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker]. **Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)**, v. 57, n. 9-10, p. 453–455, 2004.

GOLDENBERG, R. O gênero *Miconia* (Melastomataceae) no estado do Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 927-947, 2004.

GOLDENBERG, R. et al. Nomenclator botanicus for the neotropical genus *Miconia* (Melastomataceae: Miconieae). **Phytotaxa**, v. 106, n. 1, p. 1–171-1–171, 2013.

GOLDENBERG, R. et al. Melastomataceae A. Juss. Flora e Funga do Brasil. **Reflora**, 2023a Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB161>. Acesso em: 4 jul. 2023.

GOLDENBERG, R. et al. *Miconia serialis* DC. Flora e Funga no Brasil. **Reflora**, 2023b. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB19674>. Acesso em: 4 jul. 2023.

GOLDENBERG, R.; BAUMGRATZ, J. F. A.; SOUZA, M. L. D. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. **Rodriguésia**, v. 63, p. 145-161, 2012.

GOMES, N. M.; MARTINS, R. L.; ALMEIDA, S. S. M. S. Análise preliminar fitoquímica do extrato bruto das folhas de *Nephrolepis pectinata*. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 1, p. 77-85, 2017.

GOMES, H. H. S.; DANTAS, I. C.; CATÃO, M. H. C. V. Plantas medicinais: sua utilização nos terreiros de umbanda e candomblé na zona leste de cidade de Campina Grande-PB. **Rev Biol Farmácia**, v. 1, n. 3, p. 110-29, 2008.

GONTIJO, D. C. et al. Antioxidant study indicative of antibacterial and antimutagenic activities of an ellagitannin-rich aqueous extract from the leaves of *Miconia latecrenata*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 236, p. 114–123, 2019.

GONZÁLEZ, E. A. P. Tamizaje químico y evaluación de la actividad antioxidante de hojas y frutos de tres especies del género *miconia* (melastomataceae). **Revista Ciencia: Desarrollo e Innovación**, v. 2, n. 1, 2016.

GOODMAN, R. B. et al. Cytokine-mediated inflammation in acute lung injury. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 14, n. 6, p. 523–535, 2003.

GREEN, L. C.; TANNENBAUM, S. R.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56–58, 1981.

GROMMES, J.; SOEHNLEIN, O. Contribution of neutrophils to acute lung injury. **Molecular Medicine**, v. 17, n. 3, p. 293-307, 2011.

HABASHY, N. H.; KODOUS, A. S.; ABU-SERIE, M. M. Targeting ROS/NF-κB signaling pathway by the seedless black *Vitis vinifera* polyphenols in CCl₄-intoxicated kidney, lung, brain, and spleen in rats. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 16575, 16 ago. 2021.

IBIAPINA, W. V. et al. Inserção da fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 12, n. 1, p. 60-70, 2014.

JOHNSON, E. R.; MATTHAY, M. A. Acute Lung Injury: Epidemiology, Pathogenesis, and Treatment. **Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery**, v. 23, n. 4, p. 243–252, ago. 2010.

KHAN, A. A.; ALSAHLI, M. A.; RAHMANI, A. H. Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives. **Medical Sciences**, v. 6, n. 2, 18 abr. 2018.

KNUDSEN, L.; OCHS, M. The micromechanics of lung alveoli: structure and function of surfactant and tissue components. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 150, n. 6, p. 661–676, 2018.

KRÓL, M.; KEPINSKA, M. Human nitric oxide Synthase—Its functions, polymorphisms, and inhibitors in the context of inflammation, diabetes and cardiovascular diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 56, 2020.

LANG, J. D. et al. Oxidant-Antioxidant Balance in Acute Lung Injury. **Chest**, v. 122, n. 6, p. 314S-320S, 2002.

LEITE, Tonny Cley Campos. **Estudo químico e farmacológico biomonitorado de sete espécies do gênero Miconia (Melastomataceae)**. 2016. 96f. Tese (doutorado em Inovação Terapêutica), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

LIU, D. et al. A natural isoquinoline alkaloid with antitumor activity: studies of the biological activities of berberine. **Frontiers in pharmacology**, n. 10, v.9. p. 22, 7 jan. 2019.

MARCELINO NETO, P. P. **Avaliação da segurança de uso e do potencial antioxidante, antimicrobiano e anti-inflamatório do extrato aquoso das folhas de Sideroxylon obtusifolium (ROEM. & SCHULT.) TD Penn.** 2019. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

MANZANO, M. I. et al. Phytochemical Evaluation and Anti-Inflammatory Potential of *Miconia albicans* (Sw.) Triana Extracts. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 5954, 2022.

MATTHAY, M. A.; ZEMANS, R. L. The Acute Respiratory Distress Syndrome: Pathogenesis and Treatment. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 6, n. 1, p. 147–163, 2011.

MAZGAEEN, L.; GURUNG, P. Recent Advances in Lipopolysaccharide Recognition Systems. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 2, p. 379, 2020.

MEHTA, S. The effects of nitric oxide in acute lung injury. **Vascular pharmacology**, v. 43, n. 6, p. 390-403, 2005.

MEIRELLES, Julia. **Filogenia de Miconia seção Miconia, subseção Seriatiflorae e revisão taxonômica do clado albicans (Melastomataceae, Miconieae)**. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal). 2015. 219f. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.

MESSEDER, J. V. S. et al. Frugivory and seed dispersal in a hyperdiverse plant clade and its role as a keystone resource for the Neotropical fauna. **Annals of Botany**, v. 127, n. 5, p. 577-595, 2021.

MICHELANGELI, F. et al. A guide to curating New World Melastomataceae collections with a linear generic sequence to world-wide Melastomataceae. **Preprints**, 2020.

MIGUEL-CHÁVEZ, R. S. Phenolic antioxidant capacity: A review of the state. **Licensee InTech**, v.8, p.59-74, 2017.

MOAL, B. et al. Acute respiratory distress syndrome after SARS-CoV-2 infection on young adult population: International observational federated study based on electronic health records through the 4CE consortium. **Plos one**, v. 18, n. 1, p. e0266985, 2023.

MOKRA, D. Acute lung injury—from pathophysiology to treatment. **Physiological Research**, v. 69, n. Suppl 3, p. S353, 2020.

MOKRA, D. et al. Corticosteroids in acute lung injury: the dilemma continues. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 19, p. 4765, 2019.

MORAES, T. J.; ZURAWSKA, J. H.; DOWNEY, G. P. Neutrophil granule contents in the pathogenesis of lung injury. **Current Opinion in Hematology**, v. 13, n. 1, p. 21–27, 2006.

MOUCO, G.; BERNARDINO, M. J.; CORNÉLIO, M. L. Controle de qualidade de ervas medicinais. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.31, p.68-73, 2003.

MOWERY, N. T.; TERZIAN, W. H.; NELSON, A. C. Acute lung injury. **Current problems in surgery**, v. 57, n. 5, p. 100777, 2020.

NARDELLI, L. M. et al. Entendendo os mecanismos determinantes da lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, p. 469-474, 2007.

NETO, A. S. et al. Neuromuscular blocking agents in patients with acute respiratory distress syndrome: a summary of the current evidence from three randomized controlled trials. **Annals of intensive care**, v. 2, p. 1-8, 2012.

NOVA, Z.; SKOVIEROVA, H.; CALKOVSKA, A. Alveolar-Capillary Membrane-Related Pulmonary Cells as a Target in Endotoxin-Induced Acute Lung Injury. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, p. 831, 2019.

OLIVEIRA, A. I. et al. Triterpenos isolados de espécies de *Miconia* (Melastomataceae). Sociedade Brasileira de Química-SBQ. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 339–340, 2003.

OLIVEIRA, Tatiane Bezerra de. **Estudo farmacológico e da toxicidade (aguda e subcrônica) das folhas de *Miconia prasina* (Sw.) DC. em roedores**. 2017. 147f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 2017.

PARK, J. S et al. A triterpenoid lupeol as an antioxidant and anti-inflammatory agent: impacts on oxidative stress in Alzheimer 's Disease. **Nutrients**, v. 15, n. 13, p. 3059, 2023.

PIERONI, L. G. et al. Antioxidant activity and total phenols from the methanolic extract of *Miconia albicans* (Sw.) Triana leaves. **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9439-9450, 2011.

RANIERI, V. I. T. O. et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. **Jama**, v. 307, n. 23, p. 2526-2533, 2012.

- RAO T. S. et al. Comparative evaluation of arachidonic acid (AA)- and tetradecanoylphorbol acetate (TPA)-induced dermal inflammation. **Inflammation**, v. 17, p. 723-741, 1993.
- REZOAGLI, E.; FUMAGALLI, R.; BELLANI, G. Definition and epidemiology of acute respiratory distress syndrome. **Annals of translational medicine**, v. 5, n. 14, 2017.
- ROMERO, R.; MARTINS, A. B. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 25, p. 19-24, 2002.
- ROTTA, A. T. et al. Progress and perspectives in pediatric acute respiratory distress syndrome. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 27, p. 266-273, 2015.
- ROUNDS, S.; LU, Q.; SIAMWALA, J. Cigarette Smoking Increases The Risk of Acute Respiratory Distress Syndrome. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association**, v. 132, p. 224, 2022.
- RUBENFELD, G. D. et al. Incidence and outcomes of acute lung injury. **The New England journal of medicine**, v. 353, n. 16, p. 1685–93, 2005.
- SALOMÃO, R. P. **Seleção e aptidão de espécies arbóreas para a recuperação de áreas degradadas por mineração**. 2012. Tese (Doutorado em Agroecossistemas da Amazônia) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, p. 152, 2012.
- SANTOS, D. S. dos.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 3, p. 29–35, 6 nov. 2017.
- SANTOS, Izaberlly Vieira.; COUTO, Luzi Paula da Silva Marins. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante do extrato seco de Miconia albicans (Sw.) Triana (Melastomataceae)**. 2018. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2018.
- SARAIVA, Louise Cristina Freitas et al. Triagem fitoquímica das folhas de Moringa oleifera. **Boletim Informativo Geum**, v. 9, n. 2, p. 12, 2018.
- SILVA, A. L. M. O.; COSTA, A. P. R. PRINCIPAIS ALTERAÇÕES QUALITATIVAS E DISTÚRBIOS BENIGNOS DOS NEUTRÓFILOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-PERNAMBUCO**, v. 4, n. 3, p. 34-34, 2020.
- SOUZA, P. N. S.; COSTA, K. Transmissão do conhecimento sobre plantas medicinais entre gerações. VIII Congresso Nacional de Educação (Conedu). Plataforma Espaço digital, **Realize**, p.5, 2022.
- TANG, L. et al. Analysis of protective effects of Rosa Roxburghii Tratt fruit polyphenols on lipopolysaccharide-induced acute lung injury through network pharmacology and metabolomics. **Food Science & Nutrition**, v. 10, n. 12, p. 4258-4269, 2022.
- THOMPSON, B. T.; CHAMBERS, R. C.; LIU, K. D. Acute Respiratory Distress Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 6, p. 562–572, 10 ago. 2017.

TORBIC, H.; DUGGAL, A. Neuromuscular blocking agents for acute respiratory distress syndrome. **Journal of Critical Care**, v. 49, p. 179-184, 2019.

UCHIYAMA, M., MIHARA, M. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical Biochemistry**, v. 86, p. 271-278, 1978.

VALDIVIA-SILVA, J. E. Mastocitos y basófilos y sus nuevas funciones en inmunología. **DERMATOL PERU**, v. 23, n. 2, p. 99, 2012.

VÁZQUEZ-GONZÁLEZ, Wendy Guadalupe et al. El papel de los monocitos y los macrófagos en la respuesta inmune innata. **Ra Rió Guendaruyub**, 2022.

VELLOSA, J. C. R. et al. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte / Oxidative stress: an introduction to the state of art. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152–10168, 26 jan. 2021.

VILLAR, J.; SULEMANJI, D.; KACMAREK, R. M. The acute respiratory distress syndrome: incidence and mortality, has it changed?. **Current opinion in critical care**, v. 20, n. 1, p. 3-9, 2014.

VOLPATO, A. T. et al. Entendendo mais sobre a patologia da COVID-19 desencadeada pela infecção do vírus respiratório SARS-CoV-2: uma revisão da literatura. **Journal of Infection Control**, v. 9, n. 3, p. 175-180, 2020.

WANG, S. et al. Global trends in research of macrophages associated with acute lung injury over past 10 years: a bibliometric analysis. **Frontiers in Immunology**, v.12, p.669539, 20 maio. 2021.

WEAVERS, H.; MARTIN, P. The cell biology of inflammation: From common traits to remarkable immunological adaptations. **The Journal of Cell Biology**, v. 219, n. 7, p. e202004003, 6 jul. 2020.

WHO - World Health Organization. **Brazil: WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard With Vaccination**, Brazil, 3 jan. 2020. Disponível em: <https://covid19.who.int/region/amro/country/br>. Acesso em: 10 jun. 2023.

WILLETTS, Lian et al. Immunodetection of occult eosinophils in lung tissue biopsies may help predict survival in acute lung injury. **Respiratory research**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2011.

XU, Shumin et al. Early recruitment of IL-10-producing B cells into alveoli improved the resolution of acute lung injury. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1752-1760, 2016.

YAN, Y. et al. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review. **Antibiotics**, v. 10, n. 3, p. 318, 19 mar. 2021.

YANG, C.-Y. et al. New Insights into the Immune Molecular Regulation of the Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 588, 16 fev. 2018.

YANG, S.-C. et al. Understanding the role of neutrophils in acute respiratory distress syndrome. **Biomedical Journal**, v.44, n.4, p.439-446, set. 2020.

YASIR, M.; GOYAL, A.; SONTALIA, S. Corticosteroid Adverse Effects, Study Guide from StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), **Europe PMC**, 5 oct. 2018.

ZAGO, L. M. S.; DE MOURA, M. E. P.. Vinte e dois anos de pesquisa sobre plantas medicinais: uma análise cienciométrica. **Tecnia**, v. 3, n. 1, p. 157-173, 2018.

ZHANG, Z.; CHEN, L.; NI, H. The effectiveness of Corticosteroids on mortality in patients with acute respiratory distress syndrome or acute lung injury: a secondary analysis. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2015.

ZHOU, J. et al. Role of nitric oxide and peroxynitrite anion in lung injury induced by intestinal ischemia-reperfusion in rats. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 9, n. 6, p. 1318, 2003.