

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL DE PROJETO PIBIC

**EFEITO DO EXTRATO PADRONIZADO DAS FOLHAS DE *Eugenia punicifolia*
(PEDRA UME CAÁ) EM RATOS COM HIPERTENSÃO RENOVASCULAR**

BOLSISTA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA: Fernando Villalaz Chiong Neto

Orientadora: Prof.^a Msc. Denise Moraes Lopes Galeno

MANAUS

Agosto – 2013

SUMÁRIO

Introdução.....	2
Objetivos.....	3
Objetivos Gerais.....	3
Objetivos Específicos.....	3
Materiais e Métodos.....	3
Preparação do Extrato Padronizado.....	3
Animais de Experimentação.....	4
Teste de Citotoxicidade	4
Indução de Hipertensão Modelo Goldblatt (2R1C).....	5
Avaliação da Pressão Arterial.....	5
Avaliação Bioquímica Plasmática	6
Estatística.....	9
Aspectos Éticos.....	9
Resultados e Discussão.....	10
Conclusão.....	14
Cronograma de Atividades.....	14
Bibliografia.....	15

1. INTRODUÇÃO

Nos Estados Unidos, as doenças cardiovasculares são responsáveis por 70 a 80% das mortes de pessoas com mais de 65 anos. No Brasil, são responsáveis por cerca de 300 mil falecimentos por ano, ou seja, 820 por dia. Um dos principais fatores de risco para a mortalidade das doenças cardiovasculares é a hipertensão arterial sistêmica (HAS). A procura por novas alternativas para o tratamento da hipertensão arterial é fundamental, e uma modalidade alternativa de terapia de apoio a pacientes hipertensos é a fitoterapia (MACHADO *et al.*, 2003; ALARCÓN, 2006).

Na Amazônia, a medicina tradicional é muito utilizada, devido à inexistência dos serviços básicos de saúde em muitos lugares e ao baixo poder aquisitivo da população. A biodiversidade de produtos vegetais amazônicos é notável e colabora com a tradição do uso de plantas para tratamento de doenças. No Amazonas, a espécie *Eugenia punicifolia*, tem sido usada para tratar distúrbios hiperglicêmicos, tais como o diabetes mellitus (BORRÁS *et al.*, 2003; GRANGEIRO *et al.*, 2006).

Estudos indicaram que os extratos aquosos das folhas de *Eugenia punicifolia* produziram um efeito anoréxico e os extratos metanólicos tiveram um efeito benéfico sobre o estado diabético, melhorando o metabolismo de carboidratos e proteínas sem provocar efeitos tóxicos hepatobiliares, microvasculares, musculares ou pancreáticos (BRUNETTI, 2006).

Recentemente foi evidenciado que o extrato metanólico de *Eugenia punicifolia* possui atividade antioxidante. Esse resultado é importantíssimo para a realização de pesquisas sobre novas moléculas que possivelmente tenham impacto sobre doenças que possuem o estresse oxidativo como um de seus efeitos deletérios (GONZAGA *et al.*, 2007).

Russo (1990) verificou que algumas plantas da mesma família (Myrtaceae) têm sido empregadas no tratamento da hipertensão, e nosso trabalho pretende verificar o efeito do extrato padronizado de *Eugenia punicifolia* sobre a pressão arterial em ratos hipertensos induzidos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o efeito do extrato das folhas de *Eugenia punicifolia* na pressão arterial de ratos hipertensos induzidos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Avaliar a toxicidade do extrato padronizado de *Eugenia punicifolia*;
- Verificar a pressão arterial em ratos normotensos e hipertensos induzidos;
- Confrontar os efeitos do extrato padronizado das folhas de *Eugenia punicifolia* com fármacos utilizados no tratamento da hipertensão arterial;
- Analisar bioquimicamente as concentrações de glicose, triglicérides, colesterol total, colesterol HDL, TGO, TGP, proteínas totais, ácido úrico e albumina no plasma dos ratos sadios e em modelos experimentais de indução de hipertensão.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. PREPARAÇÃO DO EXTRATO PADRONIZADO

As folhas de *E. punicifolia* foram fornecidas pela Embrapa-AM Ocidental e identificadas por botânicos do Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). As folhas coletadas passaram por uma seleção, visando à seleção de folhas saudáveis, adequadas ao processamento. A superfície das folhas foi lavada e secada com gaze e posteriormente foram colocadas em estufa com circulação de ar forçada a 40 °C. Após a secagem estas foram trituradas em triturador comercial modelo METVISA e acondicionadas em sacos plásticos. O EEP liofilizado foi gentilmente cedido por professores colaboradores da Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

O extrato seco padronizado das folhas de *Eugenia punicifolia* foi preparado através de infusão como método de extração por 15 min, sendo a relação droga: solvente (água Mili –Q) de 7,5% (m/V). O produto seco foi obtido por aspersão,

utilizado uma solução extrativa aquosa, em equipamento Mini Spray drier (modelo MSD 1,0 de Labmaq, São Paulo, Brazil) (BASTOS, 2011).

3.2. ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Para os experimentos foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 180 a 200 gramas. Os ratos Wistar foram obtidos do biotério da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), mantidos em gaiolas de plástico, com maravalha de pinho autoclavada.

Estes animais foram mantidos sob ciclo claro-escuro de 12 horas com livre acesso à ração labina (a base de caseína Rat Chow®) e água *ad libitum*, sob condições adequadas de luz e temperatura.

Para o teste de citotoxicidade aguda, foram avaliados 12 ratos Wistar machos distribuídos em dois grupos:

GRUPO CONTROLE – 6 animais tratados com solução salina 0,9%.

GRUPO EXPERIMENTAL – 6 animais tratados com extrato de *Eugenia punicifolia* na dose de 2g /Kg.

Para os estudos da pressão arterial foram utilizados 24 ratos distribuídos de acordo com os grupos descritos abaixo:

Grupo A- GRUPO CONTROLE NORMOTENSO – 6 ratos normotensos tratados com veículo (água) por 28 dias.

Grupo B- GRUPO CONTROLE HIPERTENSO – 6 ratos hipertensos induzidos e tratados com veículo (água) por 28 dias.

Grupo C- GRUPO HIPERTENSO EXTRATO – 6 ratos hipertensos induzidos e tratados com extrato de *Eugenia punicifolia* por 28 dias na concentração de 150mg/kg.

Grupo D - GRUPO HIPERTENSO ENALAPRIL - 6 ratos hipertensos induzidos e tratados com Enalapril (VO) por 28 dias, na concentração de 20mg/Kg.

Os experimentos foram realizados no laboratório de Fisiologia do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

3.3. TESTE DE CITOTOXICIDADE

Os grupos foram acompanhados por 14 dias, sendo avaliada diariamente a sensibilidade, tônus muscular, equilíbrio, analgesia, anestesia e reflexo palpebral. Também se avaliou as alterações de peso, consumo de ração e consumo de água. Ao final do tratamento, os animais foram submetidos a um jejum de 12h e anestesiados com xilazina (0,05mL/100g) e ketamina (0,1mL/100g) para coleta sanguínea, a fim de avaliar o perfil bioquímico (CARLINI, 2011).

3.4. INDUÇÃO DE HIPERTENSÃO MODELO GOLDBLATT (2R1C)

Para a indução de hipertensão nos ratos Wistar, foi realizado o método de hipertensão induzida renovascular (também chamada de hipertensão de Goldblatt, utilizando o modelo 2R1C).

Para a cirurgia de indução do modelo de hipertensão crônica (2R1C), seguindo o modelo de Goldblatt *et al.*, (1934), o animal foi anestesiado com xilazina (10 mg/ Kg; i.p) e ketamina (90 mg/Kg; i.p), a seguir fixado em decúbito dorsal horizontal, onde se realizará uma tricotomia na região anterior do abdome e antissepsia com iodo. Posteriormente uma pequena incisão no abdome superior será realizada, e o rim esquerdo será acessado e cuidadosamente manipulado para clipagem da artéria renal, a qual será individualizada por um curto segmento por meio de dissecação não cortante. A estenose parcial da artéria renal esquerda dar-se-á com a colocação de um clipe de prata de 8 x 2 mm de abertura ajustável. O rim retornará à cavidade abdominal e a incisão na pele será suturada (BEIERWALTES *et al.*, 1995; DIAS *et al.*, 1999).

Os animais receberam benzil penicilina (100.000 UI/Kg) e cetoprofeno (20mg/Kg) no pós-operatório imediato. Os animais também foram tratados com benzil penicilina (100.000 UI/Kg) após 15 dias da cirurgia e receberam rifamicina sódica diariamente no local da incisão, durante todo o período de cicatrização cirúrgica (DIAS *et al.*, 1999).

No pós-operatório, os ratos hipertensos induzidos pelo modelo Goldblatt 2R1C foram mantidos em gaiolas e alimentados durante 42 dias, sendo administradas soluções de 150 mg/kg do extrato de *E. punicifolia*, água e 20 mg/Kg de enalapril após 28 dias da cirurgia.

3.5. VERIFICAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

Utilizamos um método indireto nas aferições da pressão arterial sistólica, diastólica, média e da frequência cardíaca, por meio de um pletismógrafo de manguito de cauda (*“tail-cuff”*) acoplado a um medidor de pressão digital modelo LE 501 (Lettica PanLab, Barcelona, Espanha).

Os princípios de registro são os mesmo utilizados para a espécie humana: os ruídos de Korotkoff produzidos pelo movimento turbilhonante do sangue das paredes arteriais são captados como vibração pelo cristal piezoelétrico e transformados em corrente elétrica. Após ampliação, os sinais podem ser auscultados ou registrados em polígrafo. A medida pode ser facilitada com ajuda de esfigmomanômetro, aparelho que permite registro simultâneo da PA e dos sinais de Korotkoff (LAPA *et al.*, 2008).

A pressão arterial caudal era determinada em três dias a cada semana, por seis semanas, aquecendo-se previamente o animal (em ambiente entre 40° e 45° C) durante 10 minutos, para que ocorresse a dilatação dos vasos da cauda. Após o aquecimento, os ratos eram colocados em um dispositivo de acrílico para contenção. Um cuff era colocado nas caudas dos animais, inflado e o pulso arterial captado pelo transdutor (DIAS *et al.*, 1999).

Este método foi utilizado por ser amplamente empregado, depender de técnica simples, ser rápido e não necessitar do uso de anestésico. Foram considerados ratos hipertensos aqueles que apresentarem pressão arterial sistólica igual ou superior a 160 mmHg (DIAS *et al.*, 1999).

3.6. AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA PLASMÁTICA

Após o período experimental, os ratos foram anestesiados com xilazina (10 mg/Kg; i.p) e ketamina (90 mg/Kg; i.p) para coleta do sangue por punção intracardíaca. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos para a obtenção do soro, e este utilizado para determinar as concentrações séricas de colesterol total (C-t), HDL colesterol (HDL-C), triglicerídeos (TG), glicose, creatinina, uréia, albumina, proteínas, ácido úrico, aspartato aminotransferase (AST/TGO) e alanina aminotransferase (ALT/TGP) por meio de kits enzimáticos específicos para cada substância.

3.6.1 Determinação da concentração de proteínas totais plasmáticas

Para determinação da concentração de proteínas totais plasmáticas, foi utilizado o kit Proteínas Totais da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Foram rotulados, para cada animal, 6 (seis) tubos de ensaio; 1 (um) Branco, contendo 2,5 mL de reagente de biureto, mais 50 µl de solução padrão e mais 2 gotas de Hidróxido de Sódio, cada tubo; 3 (três) Padrões, contendo 2,5 ml de reagente de biureto, mais 50 µl de solução padrão e mais 2 gotas de Hidróxido de Sódio, cada tubo; e 2 (dois) Testes, contendo 2,5 ml de reagente de biureto e mais 50 µl de amostra de plasma e mais 2 gotas de Hidróxido de Sódio, cada tubo. Após homogeneização, foram deixados em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente (20-30 °C).

A leitura das absorbâncias, dos padrões e dos testes, foi feita em espectrofotômetro da Espectronic Instruments, em 550 nm, zerando o aparelho com o Branco. O cálculo foi realizado de acordo com a fórmula: [proteínas totais] = (média das absorbâncias dos Testes/média das absorbâncias dos Padrões) X 4. Os resultados serão expressos em g/dL.

3.6.2 Concentração de glicose plasmática

Para determinação da concentração de glicose plasmática, foi utilizado o kit Glicose Enzimática Líquida da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Foram rotulados, para cada animal, 6 (seis) tubos de ensaio: 1 (um) Branco, contendo 2,0 ml de reagente de cor; 3 (três) padrões, contendo 2,0 ml de reagente de cor e mais 20,0 µl de solução padrão, cada tubo; e 2 (dois) testes, contendo 2,0 ml de reagente de cor e mais 20 µl de amostra de plasma, cada tubo. Após agitação, foram incubados por 5 minutos em banho-maria a 37 °C.

A leitura das absorbâncias, dos padrões e dos testes, foi feita em espectrofotômetro, em 510 nm, zerando o aparelho com o Branco. O cálculo foi realizado de acordo com a fórmula: [Glicose] = (média das absorbâncias dos Testes/média das absorbâncias dos Padrões) X 100. Os resultados serão expressos em mg/dL.

3.6.3 Concentração de triglicérides plasmática

Para determinação da concentração de triglicérides plasmática, foi utilizado o kit Triglicérides Enzimático Líquido da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Foram rotulados, para cada animal 6 (seis) tubos de ensaio: 1 (um) Branco, contendo 2,0 ml de reagente de cor; 3 (três) Padrões, contendo 2,0 ml de reagente de cor e mais 20,0 µl de solução padrão, cada tubo; e 2 (dois) testes, contendo 2,0 ml de reagente de cor e mais 20 ml de amostra de plasma, cada tubo. Após agitação, foram incubados por 5 minutos em banho-maria a 37 °C.

A leitura das absorbâncias, dos padrões e dos testes, foi feita em espectrofotômetro, em 510 nm, zerando o aparelho com o Branco. O cálculo foi realizado de acordo com a fórmula: $[Glicose] = (\text{média das absorbâncias dos Testes} / \text{média das absorbâncias dos Padrões}) \times 100$. Os resultados serão expressos em mg/dL).

3.6.4 Concentração de lipídios totais plasmáticos

Para determinação da concentração de Lipídios totais plasmáticos, foi utilizado o kit Lipídios Totais da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Foram rotulados, para cada animal, 5 (cinco) tubos de ensaio: 3 (três) padrões, contendo 2,0 ml de ácido sulfúrico e mais 20 µl de amostra de plasma, cada tubo. Após homogeneização, foram incubados por 10 minutos em banho-maria a 100° C. Após resfriamento em água corrente, foi colocado, em cada um dos cinco tubos, 5 mL de reagente de cor.

A leitura das absorbâncias, dos padrões e dos testes, foi feita em espectrofotômetro, em 530 nm, zerando o aparelho com água destilada. O cálculo foi realizado de acordo com a fórmula: $[Lipídios Totais] = (\text{média das absorbâncias dos Testes} / \text{média das absorbâncias dos Padrões}) \times 1000$. Os resultados serão expressos em mg/dL.

3.6.5 Concentração de colesterol total plasmático

Para determinação da concentração de triglicerídeos plasmáticos, foi utilizado o kit Colesterol Enzimático Líquido da Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda. Foram rotulados, para cada animal 6 (seis) tubos de ensaio: 1 (um) Branco, contendo 2,0 ml de reagente de cor; 3 (três) Padrões, contendo 2,0 ml de

reagente de cor e mais 20,0 µl de solução padrão, cada tubo; e 2 (dois) testes, contendo 2,0 ml de reagente de cor e mais 20 ml de amostra de plasma, cada tubo. Após agitação, foram incubados por 5 minutos em banho-maria a 37 °C.

A leitura das absorbâncias, dos padrões e dos testes, foi feita em espectrofotômetro, em 510 nm, zerando o aparelho com o Branco. O cálculo foi realizado de acordo com a fórmula: [Colesterol Total] = (média das absorbâncias dos Testes/ média das absorbâncias dos Padrões) X 200. Os resultados foram expressos em mg/dL.

3.6.6 Concentração de HDL – colesterol plasmático

Para determinação da concentração de HDL – Colesteróis plasmáticos foram utilizados os kits Colesterol - HDL Enzimático e Colesterol Enzimático, ambos da In Vitro Diagnóstica S/A, utilizando-se a técnica Semi-micro. Na primeira etapa, foram rotulados, para cada animal, 1 (um) tubo de centrifuga contendo 0,5 ml de precipitante diluído e mais 200 µl de amostra de plasma cada um. Após homogeneização e repouso por 10 minutos à temperatura ambiente, os tubos serão centrifugados a 4000 r.p.m por 10 minutos.

Após centrifugação, foram rotulados, para cada tubo de centrifuga, 6 (seis) tubos e ensaio: 1 (um) Branco, contendo 2,0 ml de reagente enzimático; 3 (três) Padrões, contendo 2,0 ml de reagente enzimático, mais 20 µl de solução padrão e mais 200 µl de água destilada, cada tubo; e 2 (dois) Testes, contendo 2,0 ml de reagente enzimático e mais 20 µl do sobrenadante límpido do tubo de centrifuga, em cada tubo de ensaio. Após agitação, foram incubados por 10 minutos em banho-maria a 37 °C.

A leitura das absorbâncias, dos padrões e dos testes, foi feita em espectrofotômetro, em 510 nm, zerando o aparelho com o branco. O cálculo foi realizado de acordo com a fórmula: [HDL – Colesterol] = (média das absorbâncias dos Testes/ média das absorbâncias dos Padrões) X 70. Os resultados foram expressos em mg/dl).

3.7. Análise Estatística

Os resultados dos experimentos foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m.) em cada grupo. As múltiplas comparações foram realizadas com o teste

paramétrico ANOVA seguido do teste de Tukey e Dunnett. Diferenças entre dois grupos foram comparadas utilizando o teste T de Student pareado ou não pareado. Foram considerados estatisticamente significativos os resultados que apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese nula menor que 5% ($p < 0,05$). Os testes foram realizados com auxílio do programa GraphPad Prism 5.0.

As variações da pressão arterial média (Δ PAM), expressa em mmHg, foram calculadas segundo a fórmula: $PAM = PD + (PS - PD/3)$.

Os dados estão apresentados na forma de figuras e tabelas.

3.8. Aspectos éticos

Todos os protocolos experimentais seguiram estritamente as normas internacionais de cuidados com animais de laboratório e estão de acordo com as normas preconizadas pelo CEEA-UFAM (Comitê de ética em experimentação animal).

Este projeto foi devidamente submetido CEEA-UFAM sob o número de protocolo nº 77/2012, atendendo as normas de cuidados com animais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de citotoxicidade do extrato de *Eugenia punicifolia*, o grupo experimental e o grupo controle apresentaram sensibilidade, tônus muscular, reflexo palpebral e equilíbrio preservados, assim como ausência de analgesia e anestesia. De acordo com o resultado dos testes realizados, o extrato de *Eugenia punicifolia* não apresentou efeitos colaterais no SNC. Como observado na Figura 1, não houve diferença estatística entre os grupos quanto aos valores de peso, consumo de água e ração.

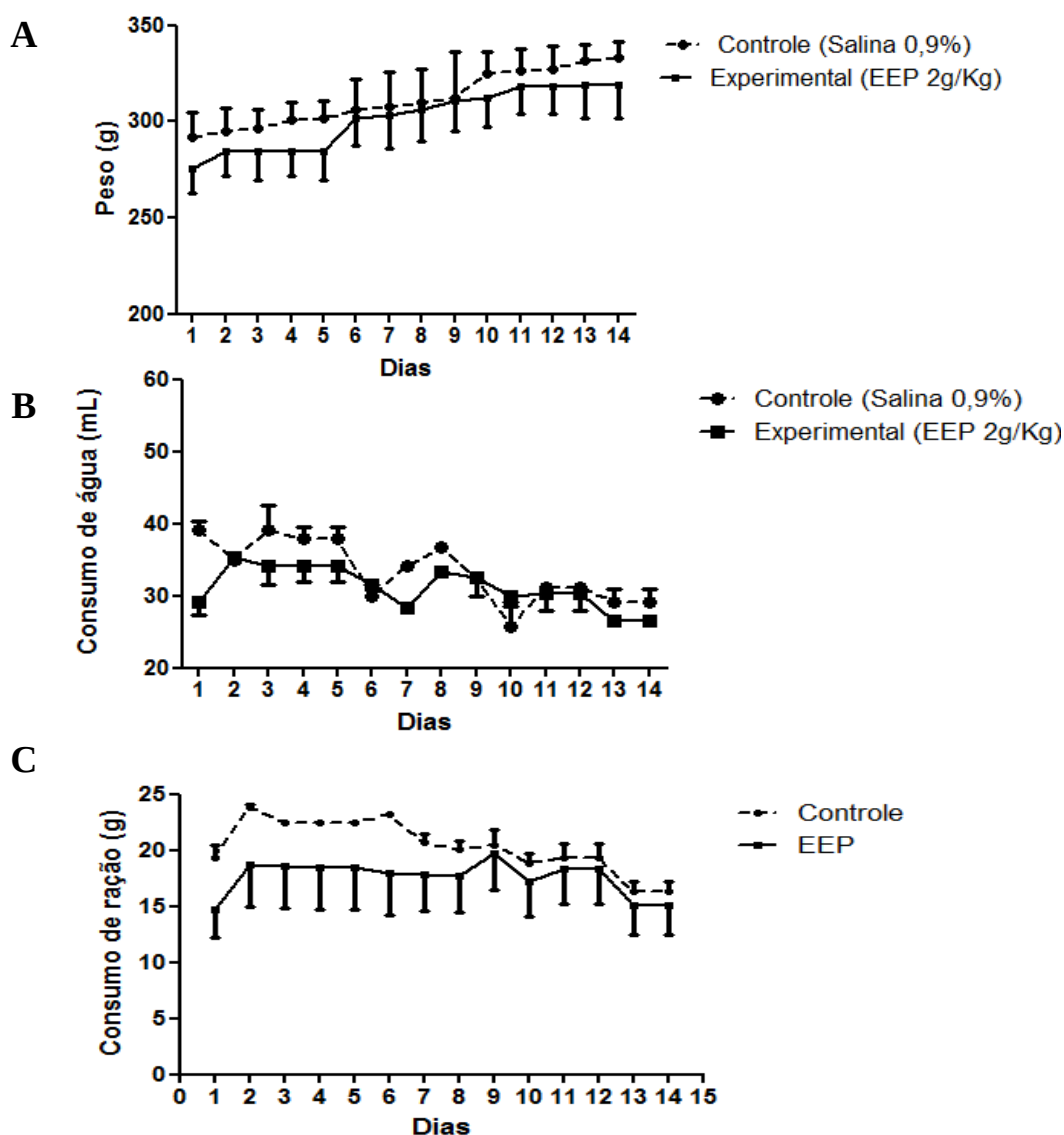


Figura 1: Variáveis avaliadas no teste de toxicidade aguda. Figura 1a: Peso dos animais. Figura 1b: Consumo de Água. Figura 1c: Consumo de Ração. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão da média (n=6). Diferenças entre os dois grupos foram avaliadas pelo teste T de Student não pareado. $p > 0,005$ vs. Controle.

Ao final do tratamento procedeu-se à coleta de sangue para avaliação dos parâmetros bioquímicos. Foram avaliados os níveis de Triglicerídeos, Colesterol, TGO, TGP, Uréia, Albumina, Creatinina, Ácido Úrico.

Não houve diferença estatística entre os grupos experimental e controle quanto aos parâmetros bioquímicos (Tabela 1). A maior diferença entre os grupos foi nos níveis de triglicerídeos, TGP e TGO, enquanto os outros valores foram muito próximos. DUNCAN, PRASSE (1982) salientam que valores discrepantes, podem ser devidos aos diferentes métodos usados para os testes enzimáticos. Portanto a comparação com outros estudos, mesmo quando a unidade seja a mesma, só será válida se forem usados os mesmos substratos, pH e temperatura de reação.

Pelo que se pode observar e comparar com os estudos de SILVA (2005) e BRANCO (2011), o extrato não produz dano renal, visto que os valores encontrados entre o grupo tratado e o não tratado são bem próximos. Do mesmo modo a função hepática, pelos valores de albumina próximos entre os grupos. Os níveis das transaminases levemente maiores no grupo experimental não caracterizam lesão hepática.

	Triglicerídeos (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Albumina (g/dL)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Ácido Úrico (mg/dL)
Controle	139,6±12,5	66,2±13,1	189,8±21,0	93±16,8	2,98±0,1	58,74±0,0	0,92±4,5	0,5±0,2
Experimental	153,16±17,6	72,83±5,3	202±12,8	106,3±28,2	3,08±0,0	56,48±3,1	0,98±0,0	0,56±0,3

Tabela 1: Perfil bioquímico dos animais. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro desvio padrão da média (n=6). Diferenças entre os dois grupos foram avaliadas pelo teste T de Student não pareado. $p>0,005$ vs. Controle.

Para os experimentos relacionados à pressão arterial, os valores das pressões foram registrados uma semana após o procedimento cirúrgico. Os valores encontrados foram compatíveis com os valores encontrados por PATEL (2010) e LIMA-LANDMAN (2007). A pressão arterial do grupo controle normotenso variou pouco, com uma média de 144±4 mmHg, enquanto os valores sistólicos da pressão arterial foram significativamente mais elevados nos grupos operados (>180mmHg), mostrando assim a eficiência da técnica de indução da hipertensão (Figura 4). A ativação do sistema renina-angiotensina é o mecanismo responsável por esse aumento da pressão arterial e o seu bloqueio tem efeitos anti-hipertensivos (KOTCHEN, 2008).

Como pode ser observado na figura 2, os valores da pressão arterial sistólica do grupo controle hipertenso aumentaram progressivamente até 204 mmHg na última semana. Já no grupo hipertenso extrato os valores da pressão arterial caíram de 216,3±6,2 mmHg antes do tratamento para 177,9±1,1 mmHg na última semana. Um valor que apresentou significância estatística (figura 3), assim como os valores encontrados pelo grupo hipertenso enalapril, que caíram de 221,3±11,7 mmHg antes do início do tratamento para 160±2,3 mmHg na última semana. Esse resultado mostra que o extrato de *Eugenia punicifolia* na concentração de 150 mg/Kg tem efeito hipotensor, estatisticamente próximo ao do enalapril.

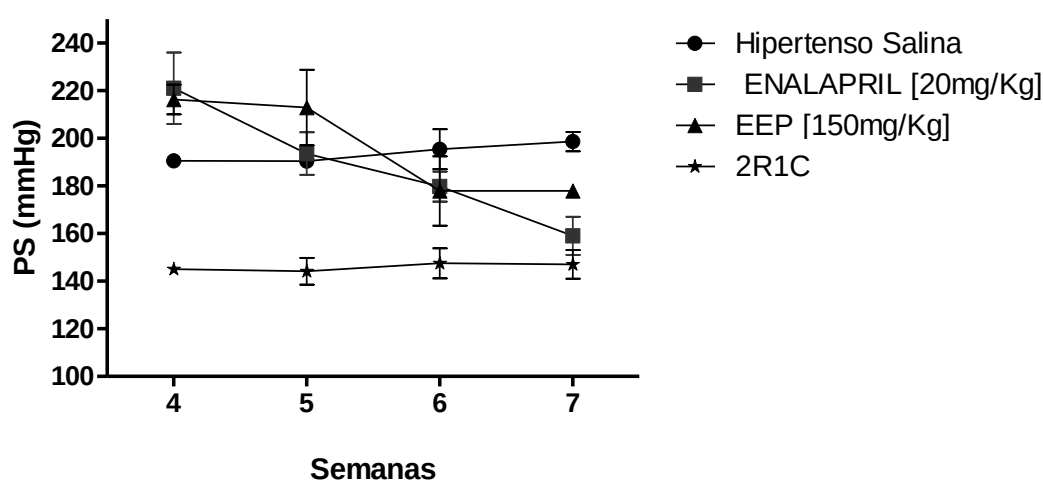


Figura 2: Variação da pressão arterial sistólica entre os grupos. Os dados foram expressos como média ± erro padrão (n=5) $p > 0,005$ ANOVA seguida do teste Dunnett.

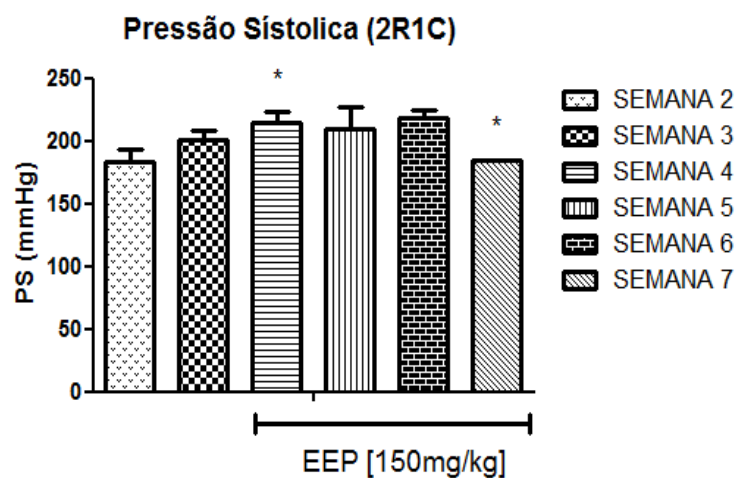


Figura 3: Efeito do extrato de *Eugenia punicifolia* (EEP) sobre a pressão arterial sistólica de ratos com hipertensão renovascular. Os dados foram expressos como média ± erro padrão (n=7) $p < 0,005$ ANOVA seguida do teste Dunnett

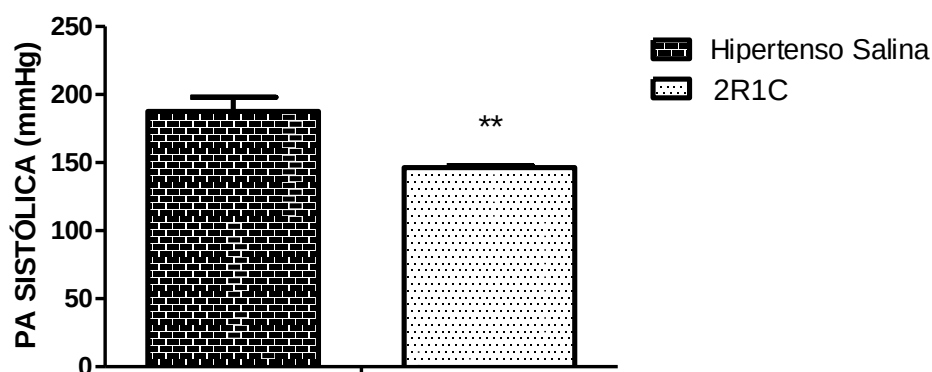


Figura 4: Diferença da média da pressão sistólica entre os grupos normotensos e hipertensos induzidos (2R1C). Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão (n=5) $p < 0,0001$. Teste T de Student.

Quanto à análise dos parâmetros bioquímicos, os valores de colesterol, triglicerídeos e TGO foram levemente superiores no grupo hipertenso extrato que no grupo hipertenso enalapril e controle normotenso, mas ainda assim compatíveis com os valores observados por BRANCO (2011) e sem apresentar diferença estatística significativa, como pode ser visto na Tabela 2.

	Glicose	Colesterol	Triglicerídeos	TGO	TGP	HDL	Ac.Úrico	Proteínas	Albumina
Normotenso	72.1 $\pm$ 9.2	71 $\pm$ 8.6	45.1 $\pm$ 4.8	86 $\pm$ 8.8	58.6 $\pm$ 7.7	31.1 $\pm$ 3.3	1.4 $\pm$ 0.4	6.4 $\pm$ 0.22	3.17 $\pm$ 0.14
Controle									
Hipertenso	76.3 $\pm$ 5.5	68.3 $\pm$ 5	47.7 $\pm$ 3.3	119 $\pm$ 5.8	45 $\pm$ 7.7	25 $\pm$ 3.7	2.3 $\pm$ 0.9	5.5 $\pm$ 0.4	2.72 $\pm$ 0.13
Controle									
Hipertenso	71.7 $\pm$ 7.4	64 $\pm$ 2.9	42 $\pm$ 8.5	92.3 $\pm$ 6.6	87.6 $\pm$ 3.2	30.4 $\pm$ 4.02	0.7 $\pm$ 0.35	5.73 $\pm$ 0.32	2.8 $\pm$ 0.08
Enalapril									
Hipertenso	90.3 $\pm$ 9	84.6 $\pm$ 0.5	59.6 $\pm$ 8.5	165 $\pm$ 11.3	51 $\pm$ 7.8	31.8 $\pm$ 5.26	0.9 $\pm$ 0.27	6.16 $\pm$ 0.46	2.76 $\pm$ 0.27
Extrato									

Tabela 2: Perfil bioquímico dos animais. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro desvio padrão da média (n=5). Diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste one-way ANOVA. $p > 0,005$.

De acordo com os resultados bioquímicos, podemos concluir também que não há dano renal ou prejuízo da função hepática.

5. CONCLUSÃO

Embora o extrato de *Eugenia punicifolia* 150mg/Kg tenha reduzido a pressão arterial, a redução não foi superior ao enalapril e também não foi suficiente para trazer os níveis de pressão arterial sistólica a um nível considerado normal (<160 mmHg). Os resultados desse projeto indicam que novos estudos, que avaliem a resposta de outras concentrações, provavelmente alcançarão esse objetivo.

6. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Descrição	Jul 2012	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2013	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul 2013
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Padronização da técnica da indução da hipertensão	X	X	X	X									
Teste de Citotoxicidade				X	X	X							
Indução da hipertensão							X	X	X	X			
Tratamento com extrato de <i>Eugenia punicifolia</i> , Enalapril e Salina.							X	X	X	X	X	X	
Investigação do efeito do extrato na pressão arterial dos ratos hipertensos e normotensos por aferição da PA						X	X	X	X	X	X	X	
Coleta de amostras do plasma sanguíneo						X	X	X	X	X	X	X	
Análises bioquímicas						X	X	X	X	X	X	X	
Elaboração do resumo e relatório Final												X	X
Preparação da apresentação Final para congresso												X	X

7. BIBLIOGRAFIA

- ALARCON, G. V. Fisiopatogenia de la hipertensión. **Arch. Cardiol. Méx.**, México, 2006.
- BASTOS, M. L. Avaliação da viabilidade tecnológica de obtenção de forma farmacêutica sólida contendo altos teores de produto seco por aspersão de *Eugenia punicifolia*. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Dissertação mestrado. UFAM, 2011.
- BEIERWALTES, W.; LARAGH J.H.; BRENNER, B.M. The kallikrein-kinin system as a regulator of cardiovascular and renal function. **Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management**, New York: Raven Press, p. 983–99, 1995.
- BORRÁS, M.R.L. Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas – Plantas comercializadas no Mercado Municipal Adolpho Lisboa. **Editora Valer/Governo do Estado do Amazonas**, Manaus. 322pp. 2003.
- BRANCO, A. C. S. C.; DINIZ, M. F. F. M.; ALMEIDA, R. N.; SANTOS, H. B.; OLIVEIRA, K. M.; RAMALHO, J. A.; DANTAS, J. G. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar e camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, Vol. 15, nº 2, p. 209-214, 2011.
- BRUNETTI I. L.; VENDRAMINI R. C.; JANUARIO A. H. Effects and toxicity of *Eugenia punicifolia* extracts in streptozotocin-diabetic rats **Pharmaceutical biology A**. Vol.44, nº 1, p. 35-43, 2006.
- CARLINI, A. E.; MENDES, F. R. Protocolos Em Psicofarmacologia Comportamental. Editora: Fap - **Unifesp Editora**. São Paulo. 1ª Edição. 2011.
- CONSOLINI, A.E; BALDINI, O.A.N; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **J Ethnopharmacol** Vol.66, p.33-39, 1999.
- DIAS, R.; TRINDADE, J.C. S.; RUDGEL, M.V. C.; CURI, P.R. Hipertensão Arterial Experimental e Prenhez em Ratas: Uso do Modelo Goldblatt (1 rim - 1 clipe). **RBGO**, v.21, n. 4, p.209-214, 1999.
- DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. Patologia Clínica Veterinária. Apêndice 1, Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, p. 5, 1982.

GRANGEIRO, M.S.; CALHEIROS-LIMA, A.P.; MARTINS, M.F.; ARRUDA, J.F.; GARCEZ-DO-CARMO, L.; SANTOS, W.C. Pharmacological effects of *Eugenia punicifolia* (Myrtaceae) in cholinergic nicotinic neurotransmission. **J Ethnopharmacol.** Vol.108, p.26-30, 2006.

KOTCHEN, T.A. Hypertensive vascular disease. 2008. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. Harrison's, principles of internal medicine. 17th ed. USA: McGraw Hill. p 1549-62.

LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LANDMAN, M.T, L.; CASTRO, M.S.A.; LIMA, T.C.M. **Plantas medicinais:** Métodos de avaliação da atividade farmacológica. Sociedade Brasileira de plantas medicinais-SBPM. SMPC, Campinas, São Paulo, 2008.

LIMA-LANDMAN, M.T.R; BORGES, A.C.R; CYSNEIROS, R.M; DE LIMA, T.C.M; SOUCCAR, C; LAPA, A.J. Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth in rats: An in vivo approach to the hypotensive mechanism. **Phytomedicine** Vol.14, p.314–320, 2007.

MACHADO, D. F. *et al.* Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 23, n. 2, 2003.

MEDEIROS, A.; GIANOLLA, R. M.; KALIL, L. M. P.; BACURAU, R. F. P.; ROSA, L. F. B. C.; NEGRÃO, C. E.; BRUM, P. C. Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos. **Rev. paul. Educ. Fís.** São Paulo, Vol.14, n.1, pág.7-15, 2000.

MITRUKA, M.B.; RAWNSLEY, H.M. Clinical, biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and normal humans. 2. ed. **Masson Publishing.** New York; 314p; 1981.

PATEL, S. S. *et al.* Antihypertensive effect of methanolic extract of *Passiflora nepalensis*. **Rev. bras. farmacogn.**, Curitiba, v. 21, n. 1, 2011.

PIEGAS LS, Avezum A, Pereira JCR, Rossi Neto JM, Hoepfner C, Farran JA, Ramos RF, Timerman A, Esteves JP on behalf of the AFIRMAR study investigators. Risk factors for myocardial infarction in Brazil. *Am Heart J* 2003; 146:331-8.

RUSSO, E. M. K.; REICHELT, A. A. J.; DESA, J. R.; FURLANETTO, R. P.; MOISES, R. C. S.; KASAMATSU, T. S.; CHACRA, A. R.; BRAZ. **J. Med. Biol. Res.** Vol.23, p.11-20, 1990.

SILVA, E.J.R.; AGUIAR, F.J.S.; GONÇALVES, E.S.; SOUSA, I.M.V.; DIMECH, G.S.; FRAGA, M.C.C.A.; COELHO, M.C.O.C.; WANDERLEY, A. G. Avaliação do tratamento subcrônico com o extrato hidroalcoólico de *Calendula officinalis* L. sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos em ratas Wistar. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. Vol.15 n.2, pág. 88-93, 2005.