

CONIC-SEMESP

13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

TÍTULO: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM NÓ-DE-CACHORRO (HETEROPTERYS APHRODISIACA) SOBRE O PERFIL LIPÍDICO DE RATOS INDUZIDOS À HIPERCOLESTEROLEMIA

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: MEDICINA

INSTITUIÇÃO: FACULDADE DE MEDICINA DE ITAJUBÁ

AUTOR(ES): CLEBER WAGNER DE CARVALHO, GABRIELA IYZUKA GULLO

ORIENTADOR(ES): GISLENE FERREIRA

Realização:



Apoio:



1. RESUMO

Objetivo: Investigar os efeitos do uso crônico de *Heteropterys aphrodisiaca* sobre o peso e perfil lipídico de ratos induzidos à hipercolesterolemia. **Metodologia:** Foram utilizados 30 ratos Wistar, machos, jovens, divididos em 3 grupos (n = 10), denominados Controle (C), Controle Hipercolesterolemico (H) e Tratamento (T). O grupo C recebeu água e ração com nível de colesterol normal. Nos primeiros 30 dias experimentais, os grupos H e T receberam água e dieta rica em colesterol. A partir do 30º dia, a dieta dos grupos H e T manteve-se e este último passou a receber decocção de nó-de-cachorro por 45 dias seguintes. Foram medidas as massas dos animais quinzenalmente e, ao final do experimento, realizadas dosagens de Colesterol Total e Frações. **Resultados:** Houve aumento altamente significativo do Colesterol Total, LDLc e HDLc do grupo H e T em relação ao grupo C. Na comparação entre os grupos T e H, não houve alteração significativa dos níveis séricos de triglicérides, VLDLc, LDLc e HDLc. Observou-se diferença significativa nas massas dos grupos H e T quando comparados ao grupo C, tendendo a menores massas naqueles grupos. **Conclusão:** A propriedade hipocolesterolemica do uso crônico da decocção de *Heteropterys aphrodisiaca* como uma nova alternativa para o controle não pôde ser comprovada por este estudo.

2. INTRODUÇÃO

A forte ligação entre altos níveis de colesterol sanguíneo e a crescente incidência de doenças cardiovasculares lança uma preocupação cada vez maior no controle das taxas desse lipídio no organismo. Em 2009, as doenças do aparelho circulatório foram a principal causa morte no Brasil, responsável por 29% dos óbitos.¹ O colesterol é uma molécula indispensável para muitos animais, julgando sua importância para a síntese de membranas em tecidos em desenvolvimento, produção de hormônios esteróides pela glândula adrenal e gônadas, e como precursor da vitamina D.

Insolúvel em água, é transportado no plasma sanguíneo na forma de lipoproteínas plasmáticas - quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL) – que são complexos macromoleculares de proteínas transportadoras específicas, as apolipoproteínas, ligadas de modo variado com moléculas de fosfolipídios, colesterol, ésteres de

colesterol e triacilgliceróis. LDL e HDL são as principais formas em que o colesterol circula no sangue, a primeira faz a sua distribuição a todas as células do organismo e a segunda, transporta-o ao fígado, de onde é excretado sem alterações ou transformado em sais biliares.²

A hipercolesterolemia é o principal fator de risco para aterosclerose. Quando o total das quantidades de colesterol sintetizado e do proveniente da dieta excede o nível adequado às necessidades do organismo, podem ocorrer acúmulos patológicos nas paredes dos vasos sanguíneos, placas ateroscleróticas, podendo obstruir esses vasos. A aterosclerose é a causa mais comum de obstrução coronariana, e esta a principal origem de isquemia miocárdica. A doença isquêmica do coração conseqüentemente pode produzir *angina pectoris*, infarto do miocárdio, morte súbita e doença isquêmica crônica do coração, com ou sem insuficiência cardíaca. Altas taxas de colesterol na dieta correlacionam-se ainda a diversos tipos de câncer.^{3,4}

O diagnóstico de dislipidemia baseia-se na dosagem dos lipídios séricos: colesterol total (CT), colesterol ligado a HDL (HDL-c), triglicerídeos (TG) e do colesterol ligado à LDL (LDL-c) após jejum de 12 a 14 horas.⁵

Procedimentos dietéticos e práticas de exercícios físicos adequados podem contribuir no controle lipídico. O controle medicamentoso das dislipidemias faz-se por fármacos hipolipemiantes, como as estatinas.^{3,8,9} Além dos protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas, inúmeros tratamentos populares utilizam plantas regionais como uma suposta alternativa no controle lipídico. A decocção da planta *Heteropteris aphrodisiaca*, conhecida como nó-de-cachorro, é usada popularmente em regiões do Mato Grosso com ação hipocolesterolêmica, além do seu emprego em garrafadas como estimulante sexual, energético e tônico mental.^{6,7,8,9}

A primeira descrição sobre o “nó-de-cachorro” foi realizada em 1920 por Hoehne. A identificação botânica obteve sucesso com os trabalhos do professor Othon Machado a partir de 1929. Machado (1948-1949) notou que esta pertencia ao gênero *Heteropteris* Kunth (Malpighiaceae) e concluiu ser uma nova espécie, classificando-a como *H. aphrodisiaca* O. Mach. e a definindo como “planta medicinal, útil principalmente como afrodisíaco e contra o esgotamento nervoso”. Conforme Corrêa (1984), as espécies desse gênero podem ser localizadas nos estados de Mato Grosso, Goiás e São Paulo.^{10,11,12}

O estudo da provável propriedade hipocolesterolêmica do nó-de-cachorro representa além de uma nova forma para o controle lipídico, uma alternativa econômica e sustentável, podendo tornar-se um fitoterápico a compor as Farmácias Vivas - locais onde se planta, manipula e dispensa gratuitamente fitos, refletindo mais um aspecto benéfico da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos.¹³

3. OBJETIVOS

Investigar os efeitos do uso crônico de *Heteropterys aphrodisiaca* sobre o peso e perfil lipídico de ratos induzidos à hipercolesterolemia.

4. METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada na Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI), nas salas de Experimentação Animal do Biotério e nos Laboratórios de Bioquímica e Patologia. Os experimentos obedeceram às normas práticas didáticas-científicas da Lei Federal 11.794 e às orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo CEP, sob o protocolo número 01/12.

Para o estudo, foram utilizados 30 ratos machos, adultos jovens (idade entre 60 e 90 dias) da linhagem *Wistar*, com peso variando entre 220 e 300 g, oriundos do Biotério da Faculdade de Medicina de Itajubá. A determinação dessa amostra foi obtida através da análise de trabalhos referidos na literatura.¹⁴

Os animais tiveram acesso à água e à ração comercial da marca Purina® “*ad libitum*”, sendo mantidos em gaiolas plásticas em ciclo claro-escuro de 12 horas com, no máximo, 05 animais do mesmo grupo por gaiola.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 03 grupos de 10 ratos ($n = 10$). No primeiro dia de experimento, realizou-se a pesagem de cada rato dos grupos, o que se repetiu quinzenalmente até o fim do experimento, como o auxílio de uma balança digital. Assim, um dos grupos (Controle - Grupo C) continuou sendo alimentado restritivamente com ração padrão da marca Purina®, cuja concentração de colesterol é normal. Os outros dois grupos (H e T) iniciaram a dieta rica em colesterol, através da adição de gema de ovo e banha animal à ração padrão (4 gemas e 20g de banha animal para cada 100g de ração), visando a indução da hipercolesterolemia.^{15,16} Considera-se que cada 10g de gema de ovo contenha,

aproximadamente, 123mg de colesterol, 955g de gorduras saturadas, 1174 de ácidos graxos monoinsaturados e 420g de ácidos graxos poliinsaturados.¹⁷ Deve-se ressaltar que os grupos H e T receberam esta dieta acrescida de colesterol ao longo de todo o período experimental (75 dias).

A partir do 30º dia de experimento, no grupo T substitui-se a água pela decocção da raiz de *Heteropterys aphrodisiaca*, mantendo-a por 45 dias, sendo oferecida aos animais através de livre acesso e trocada diariamente. O preparo da decocção da planta foi baseado no estudo de Fonseca.⁹

Sendo assim, a partir do 30º dia, os animais ficarão divididos nos seguintes grupos:

- Grupo 01 (n = 10) – Controle (C): recebeu água e ração com nível de colesterol normal (ração comercial Purina®), em esquema de livre acesso;
- Grupo 02 (n = 10) – Controle Hipercolesterolêmico (H): recebeu água e ração comercial Purina® acrescida de colesterol 0,5%, em esquema de livre acesso;
- Grupo 03 (n = 10) – Tratamento (T): recebeu decocção de *Heteropterys aphrodisiaca* e ração comercial Purina® acrescida de colesterol 0,5%, em esquema de livre acesso;

As raízes de *Heteropterys afrodisiaca* utilizadas no preparo da decoção foram extraídas semanalmente, ao longo do experimento, na zona rural do município de São Luiz do Paraitinga, no estado de São Paulo. A preparação da decoção consistiu na colocação das raízes, após lavadas, em água fervente, sendo então mantidas em cozimento por 15 minutos e em descanso por mais 30 minutos.

No último dia do período experimental (75º dia), respeitando-se o período de 4 horas de jejum, os animais foram anestesiados com Ketamina (50mg/Kg) / Xylazina (25mg/Kg) por via intramuscular e submetidos à punção aspirativa do ventrículo esquerdo, produzindo significativa hipovolemia e consequente eutanásia. As amostras de sangue coletadas foram centrifugadas em centrífuga clínica (Excelsa, Fanen) a 2000 rpm, e o soros resultantes (1,5mL/rato) armazenados em *ependorf* e congelados a -4º C, para futuras dosagens laboratoriais.

Para dosagem do colesterol total (CT), Triglicérides (TG) e HDL colesterol (HDLc) das amostras foram utilizados os Kits enzimáticos da marca Labtest (respectivamente, Liquiform-cat.76 para CT e TG e 'Liquiform-cat.13 para o HDLc).

As concentrações séricas dos parâmetros anteriores foram medidas por espectrofotometria, através de espectrofotômetro da marca Quimis (modelo Q-108 DRD). A metodologia para HDL-c é de reação de precipitação, e para os outros dois é a metodologia enzimático-Trinder.

Os valores de VLDL colesterol (VLDLc) foram estimados pela fórmula de *Friedewald*, que propõe: $VLDLc = \text{Triglicérides} / 5$. Essa equação também possibilita o cálculo do LDLc, onde $[LDL-c = (CT - HDLc) - (TG/5)]$.

Para a análise estatística, foi utilizado o Software BioEstat 5.0®, em que o teste t de Student comparou as variâncias estatísticas t e p, através de dois grupos independentes em cada momento. Considerou-se uma estatística significativa os casos em que p foi menor que 0,05. Quando p situou-se entre 0,05 e 0,10 foi referido provável significância, em que p é a probabilidade de erroneamente concluir pela significância.¹⁸

5. DESENVOLVIMENTO

A intensa correlação entre a hipercolesterolemia e a incidência de doenças do sistema circulatório, responsáveis pelo maior número de óbitos no Brasil, reforça a importância de medidas preventivas e de tratamento de dislipidemias. Procedimentos dietéticos e práticas de exercícios físicos adequados podem contribuir no controle lipídico. Além dos protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas, inúmeros tratamentos populares utilizam plantas regionais como uma suposta alternativa no controle lipídico.

A decocção da planta *Heteropterys aphrodisiaca*, conhecida como nó-de-cachorro, pela semelhança morfológica com o pênis canino, é usada popularmente em regiões do Mato grosso com ação hipocolesterolêmica, além do seu emprego em garrafadas pelos pantaneiros como estimulante sexual, energético e tônico mental.¹⁹

Assim, para atestar a propriedade hipocolesterolêmica da planta *Heteropterys aphrodisiaca*, foram utilizados 30 ratos machos da linhagem wistar, sendo que 20 foram induzidos à hipercolesterolemia e, destes, 10 foram tratados com decocção de *Heteropterys aphrodisiaca*. Todos os 30 animais do estudo, independente da dieta recebida, apresentaram ganho significativo de peso e alterações do perfil lipídico.

O colesterol total apresentou-se elevado em todos os grupos, inclusive no grupo controle (C), levando em consideração os valores de referência obtidos na revisão

de literatura de Santos *et al.*²⁰ Tal fato não se baseia exclusivamente na dieta, levanta-se, então, a hipótese de aumento de colesterol total devido ao elevado ganho de peso deste grupo, ou seja, a obesidade é uma causa de resistência à insulina. A deficiência de insulina causa lipólise das gorduras armazenadas e liberação de ácidos graxos, quando estes estão em excesso associados à diminuição de insulina, ocorre a conversão de ácidos graxos em fosfolipídios e colesterol, causando, então, um aumento de lipídios no sangue.²¹

Houve aumento de HDLc nos três grupos deste estudo, porém esse aumento não acarreta benefícios pois, a elevação da fração LDL foi muito mais significativa, devido à ingestão de gorduras altamente saturadas na dieta diária, obesidade e inatividade física. O aumento de LDL está associado à maior risco de aterosclerose, porém a análise histológica dos vasos sanguíneos não foi realizada neste estudo.

Em relação ao peso dos animais, os grupos H e T obtiveram uma leve perda de peso nos 15 primeiros dias. Acredita-se que tal fato ocorreu devido ao período de adaptação dos animais à dieta hipercolesterolêmica. Após o 15º dia, observou-se ganho de peso de todos os grupos. Porém, quando é comparado o ganho de peso dos grupos, percebe-se que o grupo C teve um aumento mais significativo. Tal fato pode ser explicado pelo próprio período de adaptação e, ainda, pela maior sensação de saciedade dos animais alimentados com ração hipercolesterolêmica.

Outros estudos científicos da *Heteropterys aphrodisiaca* envolvem os trabalhos de Galvão *et al.* (1996, 2002), que analisaram os efeitos do seu extrato sobre a memória e aprendizagem de ratos jovens e idosos.¹⁰ Mattei *et al.* (2001) observaram o aumento na atividade antioxidante em estresse oxidativo e defesas antioxidantes em cérebros de ratos jovens e idosos.¹¹ Roman-Júnior *et al.* (2005) isolaram um novo nitrocomposto [2,3,4,6-tetra-O-(3-nitropropanoíla)-O-b-D-glucopiranosídeo] das raízes de *H. aphrodisiaca*, com atividade antibacteriana comprovada, além de demonstrar moderada atividade antiviral contra herpes vírus bovino tipo 1 e poliovírus tipo 1.¹²

O estudo da propriedade hipocolesterolêmica do nó-de-cachorro não pode ser comprovada como efetiva através deste estudo.

6. RESULTADOS

Obteve-se aumento altamente significativo ($p < 0,0001$) dos níveis séricos de colesterol total do grupo H e T em relação ao grupo C. Na comparação do mesmo parâmetro entre os grupos T e H, houve um aumento provavelmente significativo ($p = 0,0654$) no grupo tratamento.

Em relação aos níveis séricos de VLDL colesterol (VLDLc), não existiu aumento significativo dos grupos H e T em relação ao C (respectivamente, $p = 0,7592$ e $0,5279$). Também, não se obteve redução significativa do mesmo parâmetro do grupo T quando comparado ao grupo H, ocorrendo aumento insignificante ($p = 0,8243$).

Sobre os níveis séricos de LDL colesterol (LDLc), houve aumento altamente significativo, tanto do grupo H ($p=0,0002$), quanto do grupo T ($p < 0,0001$), quando comparados ao grupo C. Na comparação do mesmo parâmetro do grupo T em relação ao grupo H, não existiu redução significativa, sobrevivendo, porém um aumento insignificante ($p = 0,1355$).

Em análise dos níveis séricos de HDL colesterol (HDLc), houve aumento altamente significativo nos grupos H e T em relação ao grupo C (respectivamente, $p= 0,0197$ e $p < 0,0001$). Este parâmetro não sofreu redução significativa no grupo T se comparado ao grupo H, notando-se, ao contrário, um aumento insignificante ($p = 0,2623$).

Houve um aumento, sem diferença significativa, dos níveis séricos de triglicérides (TG) dos grupos H e T quando comparados ao grupo C (respectivamente, $p = 0,7592$ e $p = 0,5279$). Na comparação do mesmo parâmetro do grupo T quanto ao H, notou-se um aumento insignificante ($p = 0,8243$).

Os valores de p da comparação estatística dos parâmetros abordados entre os grupos podem ser observados na Tabela 1.

Sobre as massas (gramas), a partir do 15º dia de experimento, observa-se uma diferença altamente significativa ($p < 0,01$) nos grupos H e T quando comparados ao grupo C, com tendência a menores massas nos grupos H e T, excetuando a diferença apenas significativa entre os grupos C e H na medição realizada no 45º dia de experimento. Quando comparados os grupos T e H, houve uma redução significativa das massas do grupo tratamento nas medições realizadas no 45º e 75º dias do experimento (Tabela 2).

Tabela 1 – p das razões entre grupos controle (X), controle hipercolesterolêmico(Y) e tratamento

Parâmetros	C/H	C/T	H/T
Triglicérides	0.7592	0.5279	0.8243
VLDL-colesterol	0.7592	0.5279	0.8243
LDL-colesterol	0.0002	< 0.0001	0.1355
HDL-colesterol	0.0197	< 0.0001	0.2623
Colesterol Total	< 0.0001	< 0.0001	0.0654

Tabela 2 – Médias e desvios padrões das massas (gramas) dos animais dos grupos controle (C), controle hipercolesterolêmico(H) e tratamento(T)

Aferição	C	H	T
1º dia	248,2 ± 8,189	241,2 ± 10,163	237,4 ± 17,915
15º dia	297,4 ± 14,607	234 ± 8,641	228,6 ± 20,332
30º dia	327 ± 17,944	287,4 ± 12,402	284,8 ± 24,680
45º dia	354,2 ± 21,549	324,6 ± 31,511	294,2 ± 26,524
60º dia	382,4 ± 19,973	323,8 ± 14,680	319,4 ± 29,197
75º dia	394,6 ± 16,494	343,2 ± 14,490	317,8 ± 32,977

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, a dieta hipercolesterolêmica com gema de ovo e gordura animal, em relação à dieta não suplementada, aumentou significativamente os níveis de colesterol total, frações e TG. Quando comparados os resultados dos grupos C, H e T observa-se que o colesterol total e suas frações, com exceção do VLDL, apresentaram diferenças significativas entre o grupo C e os grupos H e T, porém sem diferenças significantes entre estes dois últimos. Em relação ao uso crônico da decocção de *Heteropterys aphrodisiaca*, a propriedade hipocolesterolêmica como uma nova forma para o controle lipídico e seu uso como uma alternativa econômica não pôde ser comprovada por este estudo. Sugere-se, assim, a realização de novos estudos preconizando o aumento da dose ou mesmo o período de tratamento.

8. FONTES CONSULTADAS

1. BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Datasus: Óbitos por residência por região segundo categoria CID 10. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def>>. Acesso em: 06 jan. 2012.
2. Lehninger AL. Lehninger princípios de bioquímica. 4ª ed. São Paulo: Sarvier; 2006.
3. Bogliolo L. Bogliolo, patologia. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
4. BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Consulta Pública, Nº 42, de 16 de dezembro de 2010. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2010/cop0042_16_12_2010.html>. Acesso em: 07 jan. 2012.
5. Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção de aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol. 2007; (88): 3-19.
6. Dislipidemias em pacientes de alto risco de desenvolver eventos cardiovasculares. Brasil: Ministério da Saúde; 2002 [atualizada em 2002; acesso em 6 de janeiro de 2012]. Disponível em: http://dtr2001.saude.gov.br/sas/dsra/protocolos/do_d07_00.htm.
7. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Bioquímica Ilustrada. 4ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed; 2009.
8. Marques LC; Pieri C; Roman-Júnior WA; Cardoso MLC; Milaneze-Gutiérrez MA; Mello JCP. Pharmacognostic analysis of the roots of *Heteropteris aphrodisiaca* O. Mach. (Malpighiaceae) Revista brasileira de Farmacognosia. 2007; 17(4): 604-615
9. Fonseca ZA. Plantamed [homepage na Internet]. Brasil: Plantamed; 2005 [atualizada em 07 jan 2012; acesso em 10 jan 2012]. *Heteropteris aphrodisiaca* O. Mach – Nó-de-cachorro; [aproximadamente 1 tela]. Disponível em: http://www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/Heteropteris_aphrodisiaca.htm
10. Galvão SMP, Marques LC, Oliveira MGM, Carlini ELA. *Heteropteris aphrodisiaca*: a Brazilian plant that improves memory in aged rats. J Ethnopharmacol. 2002; 79: 305-311.
11. Mattei R, Paz Barros M, Galvão SM, Bechara EJ, de Araujo Carlini EL. *Heteropteris aphrodisiaca* O. Machado: effects of extract BST 0298 on the oxidative stress of young and old rat brains. 2001; 15(7): 604-607.
12. Roman-Júnior WA, Cardoso MLC, Vilegas W, Nakamura CV, Dias-Filho BP, Mello JCP. 2,3,4,6-Tetra-O-(3-nitropropanoyl)-O-β-D-glucopyranoside, a new antimicrobial from the roots of *Heteropteris aphrodisiaca*. Acta Farm Bonaerense. 2005; 24: 543-545.

13. Uechi L. Neomondo [homepage na Internet]. Santo André: Neomondo; 2007 [atualizada em 19 jan 2009; acesso em 11 jan 2012]. Fitoterapia: A medicina sustentável; [aproximadamente 4 telas]. Disponível em: <http://www.neomondo.org.br/index.php/saude/150-fitoterapia-a-medicina-sustentavel>.
14. Shoes PF. et al. Eficiência protéica da lentilha (*Lens culinaris*) no desenvolvimento de ratos wistar. Alimentos e Nutrição Araraquara. 2009; 20(2).
15. Pereira R, Ribeiro LC, Oliveira RME, Guimarães ICO, Reis TA, Azevedo AO. Dieta suplementada com ovo em pó de ratos wistar para análise do perfil lipídêmico. Lavras. Apresentado no XIX Congresso de Pós-Graduação da UFLA.
16. Jaldin RG, Filho HAF, Sequeira JL, Yoshida WB. O processo aterosclerótico em artérias de coelho submetidos à dieta suplementada com gema de ovo: modelo experimental de baixo custo. J. vasc. Brs. 2006; 5(4): 247-256
17. Tabela para dados de bases nutricionais Unifesp. Disponível em: <<http://www.unifesp.br/dis/servicos/nutri/nutri.php?id=114>>. Acesso em: 12 jan. 2012.
18. Arango HG. Bioestatística: teórica e computacional: testes paramétrico. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2009.
19. Chierogatto LC. Efeito do tratamento crônico com extratos de *Heteropterys aphrodisiaca* O. Mach. e *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. no testículo de ratos wistar adultos. Viçosa. Tese para obtenção do título de Magister Scientiae – Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa.
20. Santos MRV *et al.* Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade de Sergipe. Scientia Plena. 2010; 6 (10).
21. Silverthorn DE. Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada. 5ª ed. Porto Alegre: Editora Artmed; 2010.