

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: EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DA FOLHA DA ANNONA MURICATA EM RATOS INDUZIDOS À OBESIDADE, HIPERTENSÃO ARTERIAL, HIPERGLICEMIA E DISLIPIDEMIA .

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: MEDICINA

INSTITUIÇÃO: FACULDADE DE MEDICINA DE ITAJUBÁ

AUTOR(ES): NIARA DA CUNHA BORGES

ORIENTADOR(ES): NILO CÉSAR DO VALE BARACHO

Realização:



Apoio:



Efeitos do extrato aquoso da folha da *Annona muricata* em ratos induzidos à obesidade, hipertensão arterial, hiperglicemia e dislipidemia .

RESUMO

Introdução: O aumento da incidência da síndrome metabólica associado ao aumento das comorbidades cardiovasculares promovem a necessidade de pesquisar novas terapêuticas. **Objetivo:** Avaliar o efeito do tratamento crônico com *Annona muricata* sobre o peso, perfil lipídico, pressão arterial e glicemia de ratos induzidos a obesidade, hipertensão arterial e dislipidemia. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 40 ratos, machos da linhagem Wistar. Do 2º ao 14º dia de vida, foi administrado, via subcutânea, glutamato monossódico, para indução de obesidade e resistência a insulina. No 30º dia iniciou-se a suplementação alimentar para obter hipercolesterolemia. No 60º dia realizou-se a cirurgia de nefrectomia do rim direito e compressão do esquerdo, para induzir hipertensão arterial. No 75º dia os ratos foram divididos, aleatoriamente, em 4 grupos, para tratamento, via gavagem, por 30 dias: 1) grupo controle - água destilada, 2) extrato de *Annona muricata* (100 mg/Kg/dia), 3) extrato de *annona muricata* (200 mg/Kg/dia), 4) Sinvastatina (10mg/Kg/dia) e maleato de enalapril (15mg/Kg/dia). A pressão arterial e o índice de Lee foram mensurados no início e fim do tratamento. **Resultados:** O tratamento com graviola produziu diminuição altamente significativa do índice de Lee entre os grupos 3 e controle ($p < 0,01$), e significativo entre os grupos 4 e controle ($p < 0,05$). Também produziu diminuição altamente significativa da pressão arterial média entre os grupos 2 e controle, 3 e controle, 4 e controle, 2 e 4, 3 e 4 ($p < 0,01$). Não houve alteração significativa do colesterol total e do VLDL entre os grupos. O tratamento com graviola nas duas doses elevou os níveis séricos de HDL de forma altamente significativa, comparado ao controle ($p < 0,001$). Houve diminuição significativa dos níveis séricos de LDL entre grupo controle e 2, e controle e 3 ($p < 0,001$), também ocorreu diminuição dos níveis de glicose entre os grupos controle e 2 ($p = 0,0325$), e controle e 3 ($p = 0,0015$), e ainda diminuição dos triglicerídeos de forma significativa entre os grupos controle e 2 ($p = 0,0016$), e 4 e controle ($p < 0,001$). **Conclusão:** O tratamento com extrato de graviola é eficaz na redução da obesidade e da pressão arterial média. Também se mostrou eficaz em elevar os níveis séricos de HDL, e diminuir os níveis plasmáticos de triglicerídeos, LDL e glicose.

INTRODUÇÃO

O aparecimento de fatores que predispõem ao alto risco de doenças cardiovasculares, como, hipertensão arterial, hipertrigliceridemia, níveis baixos de HDL e níveis elevados de LDL colesteróis, obesidade periférica com presença de gordura visceral e resistência à insulina, são cada vez mais frequentes na população, como consequência de hábitos sedentários e do estilo de vida atual, e causadores do aumento em 1,5 vezes da mortalidade geral e 2,5 vezes o risco cardiovascular.¹⁻⁵

Dentre as patologias citadas acima, acredita-se que a resistência à insulina é causada por substâncias produzidas no tecido adiposo característico da obesidade, responsável inicialmente por uma hiperinsulinemia e após isso, uma deficiência de secreção das células beta do pâncreas, ocasionando a hiperglicemia e diabetes mellitus tipo II,^{2,3} frequentemente acompanhadas de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial.³ Sendo seu tratamento convencional feito por fármacos que diminuem o nível de glicose sérica por meio de estímulo a secreção de insulina, inibição da gliconeogênese ou ainda a redução da resistência deste hormônio em algumas células.^{6,7}

A dislipidemia caracteriza-se pela presença de níveis baixos de HDL-colesterol (HDLc) e níveis elevados de LDL-colesterol (LDLc), que contribuem para a formação de placas ateroscleróticas, as quais comprometem o sistema cardiovascular.^{5,8} Outro aspecto é a elevação de triglicerídeos plasmáticos e consequente acúmulo de tecido adiposo. No tratamento da hipercolesterolemia recomenda-se mudança do hábito alimentar, atividades físicas, e em alguns casos, o uso de estatinas, dentre outros fármacos, que diminuem os níveis de LDLc e aumentam os de HDLc.⁹⁻¹³

A hipertensão arterial (HAS) é uma doença altamente prevalente, atingindo cerca de 15 a 20% da população adulta com mais de 18 anos, chegando a índices de 50% nas pessoas idosas. Essa patologia está, muitas vezes, relacionada com a diabetes mellitus tipo II, devido a hiperinsulinemia, que contribui para o estabelecimento da HAS por ativação do sistema simpático ou retenção de sódio, dentre outros mecanismos. Outros fatores que também contribuem para elevar a pressão arterial são: a obesidade e o acúmulo de gordura abdominal, sendo este um dos responsáveis pela produção de angiotensinogênio, causador da vasoconstrição e ainda distúrbios do sistema renina angiotensina aldosterona que promovem retenção de sódio.^{14,15}

As complicações advindas da hipertensão arterial, tais como, insuficiência cardíaca e renal, doença coronariana, doença cerebrovascular e doença vascular periférica, além de outras, tornam essa patologia severa, com alto índice de morbimortalidade.^{8,14} Para o tratamento da HAS utilizam-se diuréticos, inibidores da enzima conversora de angiotensina, bloqueadores dos canais de cálcio, dentre outros medicamentos.^{14,15}

A partir disso, aliando-se ao tratamento medicamentoso surge a fitoterapia, uma prática comum e antiga, que no Brasil possui caráter cultural.^{16,17} De acordo com a OMS, no início da década de 1990, 65 a 80 % da população dos países em desenvolvimento dependiam de fitoterápicos como única alternativa terapêutica.^{18,19}

Diante de uma premissa para novos tratamentos, a *Annona muricata* apresenta-se como uma opção fitoterápica. Popularmente conhecida como graviola, esta planta é originada das Antilhas, sendo uma árvore de pequeno porte, com folhas verdes brilhantes e flores amareladas, grandes e isoladas. Essa planta tem sido mundialmente utilizada no combate a muitas doenças e sintomas. Em várias regiões da África, por exemplo, sua utilização como antiparasitária, antiespasmódica, anticancerígena, adstringente, sedativa e hipotensora. Assim, por apresentar representatividade na fitoterapia, e pelo fato de seus benefícios e talvez efeitos colaterais não terem sido cientificamente estudados, torna-se pertinente estudos que investiguem sua atuação anti-oxidante, e função nas alterações do peso corporal, dos níveis de lipídeos e glicemia.^{20,21}

Dessa forma o objetivo deste estudo será avaliar o efeito do tratamento crônico com *Annona muricata* sobre o peso, perfil lipídico, pressão arterial e glicemia, de ratos induzidos à obesidade, hipertensão arterial e dislipidemia.

OBJETIVO

Avaliar o efeito do tratamento crônico com *Annona muricata* sobre o peso, perfil lipídico, pressão arterial e glicemia de ratos induzidos a obesidade, hipertensão arterial e dislipidemia.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado na sala de experimentação animal do Biotério, Laboratório de Bioquímica e Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt),

obedecendo à Lei Federal 6.638 e às orientações do Código Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados 40 ratos, machos, recém-nascidos, da linhagem Wistar, oriundos do biotério da Faculdade de Medicina de Itajubá.

Obtensão da obesidade

Foi administrado 4 mg/Kg glutamato monossódico, via subcutânea, do 2º ao 14º dia de vida, em dias alternados, para obtenção da obesidade.²²

Obtenção da dislipidemia

Foi utilizada a gema de ovo como fonte de colesterol, misturada à ração padrão, para se obter a referida suplementação lipídica, a partir do 30º dia de vida dos animais. Tal suplementação foi mantida até o fim do experimento.²³

Indução da hipertensão arterial

Com 60 dias de vida os ratos foram submetidos a cirurgia para induzir a hipertensão arterial. Tal cirurgia teve início após a anestesia com Ketamina (50mg/Kg) / Xilazina (25mg/Kg) por via intra-peritoneal. O rim esquerdo foi submetido a uma compressão do seu parênquima através de um fio de algodão, circundando-o em oito (passando, primeiramente, na região medial do pólo superior, cruzando na porção lateral do terço médio do rim, finalizando com a passagem pela região medial do pólo inferior - modelo de Grollman). Logo após esse procedimento, foi realizada nefrectomia à direita.²⁴ Decorrendo 15 dias da cirurgia foi mensurada a pressão arterial (PA), e os animais com PA maior que 140 mm/Hg foram considerados hipertensos. Após tal procedimento, os mesmos iniciaram o tratamento com extrato aquoso de *Annona muricata*.

Preparo do extrato de *Annona muricata*

As folhas de *Annona muricata* foram secas ao ar em temperatura ambiente. Um quilograma (1 kg) das folhas secas foi moído em pó fino manualmente e depois macerado em água destilada e extraída por duas vezes, em cada ocasião, com 2,5 l de água destilada em temperatura ambiente por 48 h (com agitação ocasional).²⁰

Tratamento

A partir dos 75 dias de vida completos, iniciou-se o tratamento com extrato aquoso de folhas da graviola, por 30 dias, por gavagem pela manhã:²²

Grupo 01 – (controle) - água destilada (n=10)

Grupo 02 – tratamento com extrato aquoso da folha de graviola- concentração: 100mg/Kg/dia em 4ml de água. (n=10).²⁰

Grupo 03 – tratamento com extrato aquoso da folha de graviola - concentração: 200mg/Kg/dia em 4ml de água. (n=10).²⁰

Grupo 04 – tratamento medicamentoso – sinvastatina (10mg/kg/dia)²⁵ e maleato de enalapril (15mg/kg/dia).²⁶ (n=10)

No 30º de vida dos animais e no primeiro e último dias de tratamento todos os ratos foram pesados e foi obtido o comprimento focinho-ânus (CNA) para o cálculo do índice de Lee ($(\text{CNA} / \text{CNA}) \times 1000$).²⁵

Ao término do período experimental, respeitando-se um período de jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com Ketamina (50mg/Kg) / Xylazina (25mg/Kg) por via intra-peritoneal-(IP) e submetidos à punção intracardíaca. O sangue colhido foi centrifugado em centrífuga clínica (Excelsa, Fanen) a 2000rpm durante 10 minutos e o soro obtido (+/-2ml/rato) foi guardado em tubos fechados em congelador (-4oC), para as dosagens laboratoriais: glicose, colesterol total e frações, e triglicerídeos.

Para a determinação das concentrações foram utilizados os Kits da marca Labtest.

Para dosagem sérica de glicose, utilizou-se o método enzimático, através da reação da glicose oxidase; para os triglicérides, utilizou-se a metodologia enzimático-Trinder (Liquiformcat.87); para o colesterol total, utilizou-se a metodologia enzimático-Trinder (Liquiformcat.76); para o HDLc, utilizou-se a metodologia da reações de precipitação (Liquiform-cat.13), seguido da dosagem com reativo de colesterol.

Para a realização dos cálculos estatísticos foi utilizado o Software STATISTICA instalado nos computadores do laboratório de informática da Faculdade de Medicina de Itajubá.

Na análise estatística foi utilizado teste t de Student, entre dois grupos independentes para a comparação destes em cada momento, com o cálculo das estatísticas t e p; e para análise dos dados entre os quatro grupos, foi utilizado o teste Anova. Nos casos em que $p < 0,05$ a estatística foi considerada significativa. Quando p situar-se entre 0,05 e 0,10 será referida tendência à significância.²⁷

RESULTADOS

A administração crônica do extrato aquoso de *Annona muricata* não produziu alterações significativas nas dosagens laboratoriais de colesterol total e VLDL colesterol, nos teste *t* de Studente e ANOVA. (Gráficos 1 e 2).

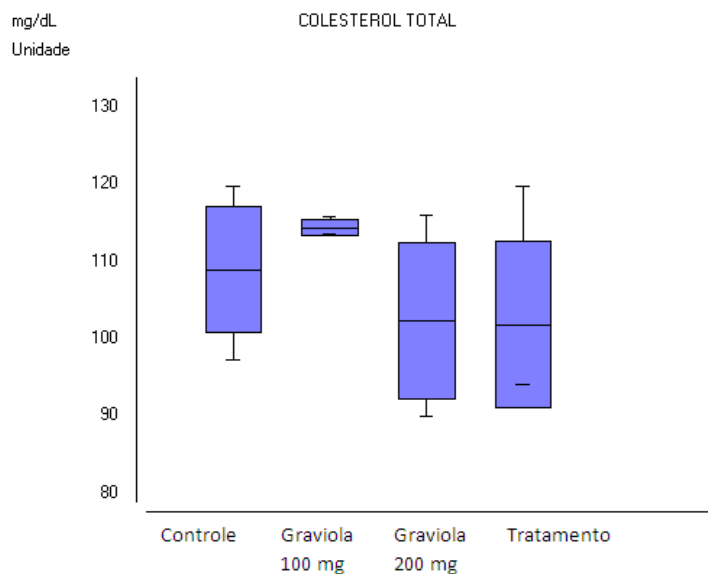


Gráfico 1 – média e desvio padrão da dosagem de colesterol total.

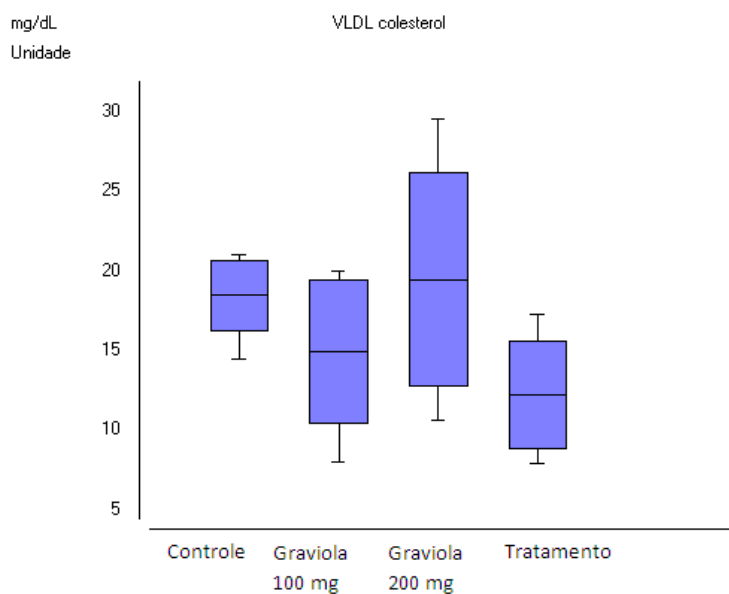


Gráfico 2 – média e desvio padrão da dosagem de VLDL colesterol.

Nas dosagens de HDL colesterol, o tratamento com extrato de graviola, com ambas as doses, mostrou-se eficaz em aumentar os níveis séricos dessa lipoproteína, de forma significativa ($p < 0,001$), comparado com o controle, no teste ANOVA (gráfico 3). Na comparação dos níveis séricos de LDL colesterol, o tratamento com graviola, com ambas as doses, diminuiu de forma significativa a concentração sérica de LDL colesterol comparado ao controle ($p < 0,001$), assim como o grupo Tratamento comparado ao controle ($p = 0,045$), no teste ANOVA (gráfico 4).

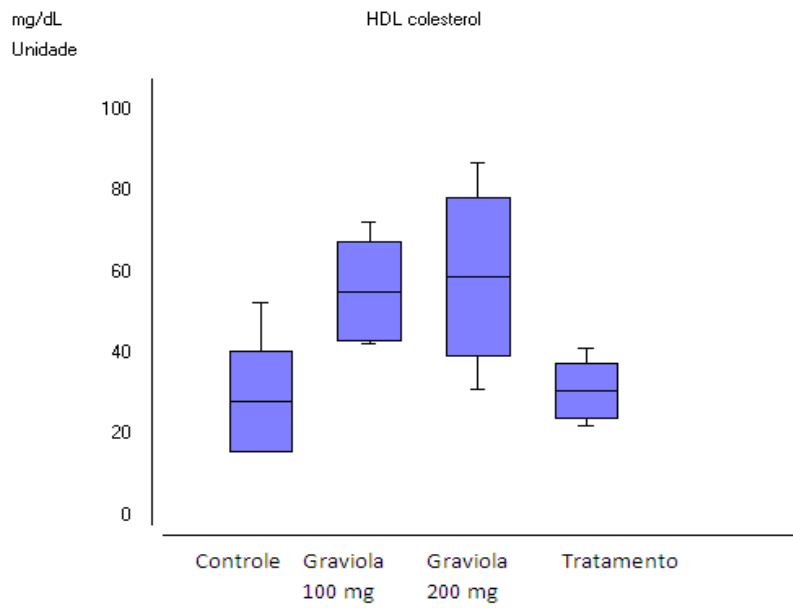


Gráfico 3 – média e desvio padrão da dosagem de HDL colesterol.

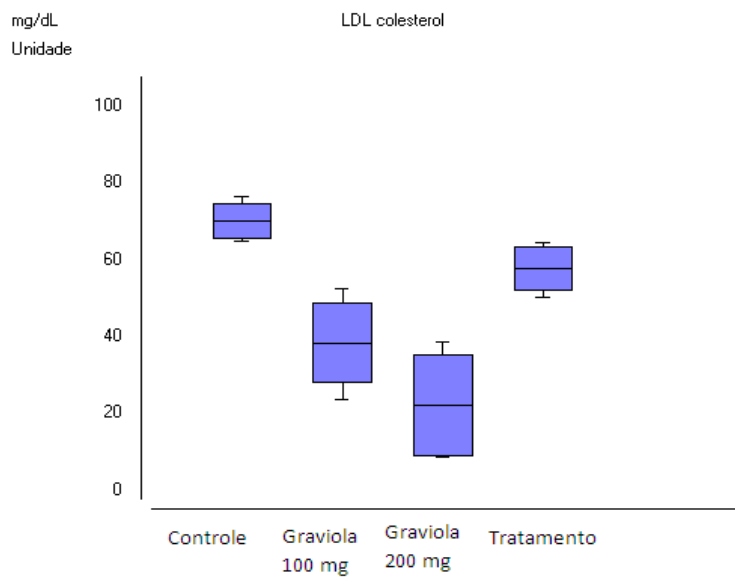


Gráfico 4 – média e desvio padrão da dosagem de LDL colesterol.

Também houve diminuição dos níveis séricos de triglicerídeos no grupo tratado com extrato de graviola 100mg comparado ao controle ($p= 0.0016$), e no grupo Tratamento comparado ao controle ($p < 0.001$), no teste ANOVA. (gráfico 5)

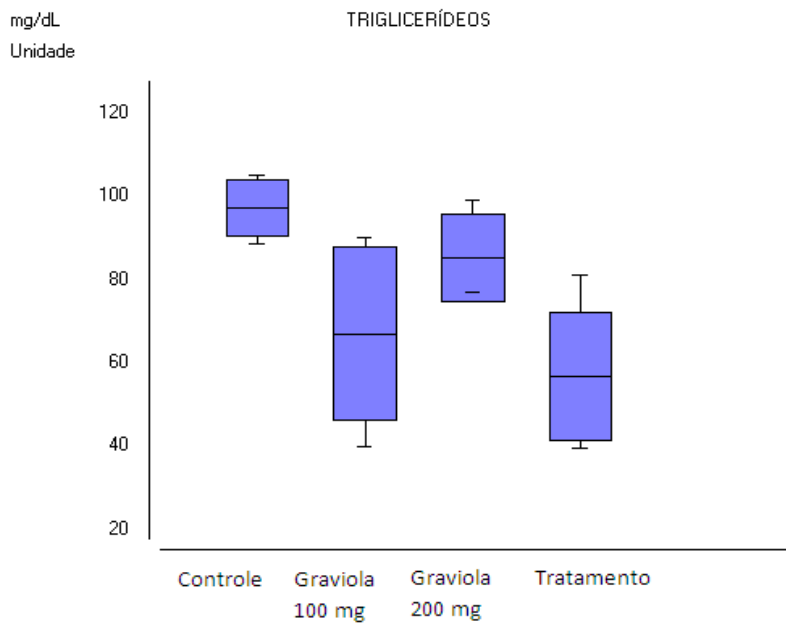


Gráfico 5 – média e desvio padrão da dosagem de Triglicerídeos.

A glicemia foi reduzida de forma significativa nos grupos tratados com graviola 100mg e 200mg, comparados ao controle ($p= 0.0325$ e $p=0,0015$ respectivamente), pelo teste ANOVA. (gráfico6)

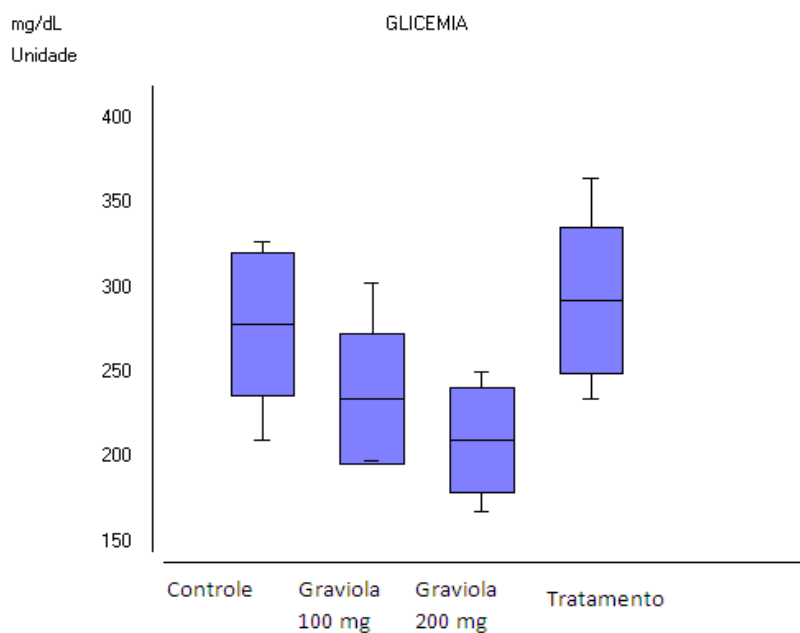


Gráfico 6 – média e desvio padrão da dosagem da Glicemia.

O índice de Lee foi reduzido de forma significativa no grupo graviola 200mg comparado ao controle, ($p < 0.01$), assim como o grupo Tratamento comparado ao controle ($p < 0.05$) no teste ANOVA. (Gráfico 7)

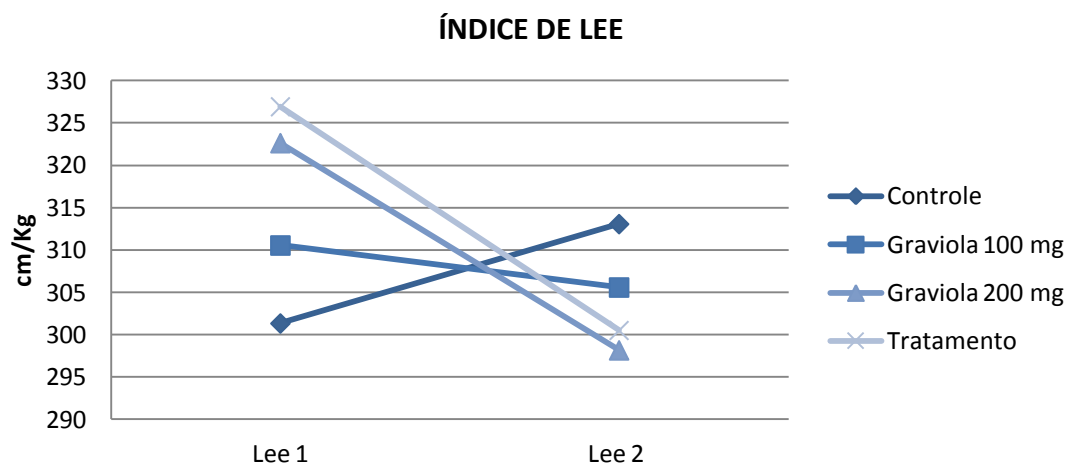


Gráfico 7 – Alteração temporal do índice de Lee entre os grupos.

A pressão arterial sofreu diminuição significativa nos grupos graviola 100mg, graviola 200mg e Tratamento comparados ao controle ($p < 0.01$), pelo teste ANOVA. (Gráfico 8)

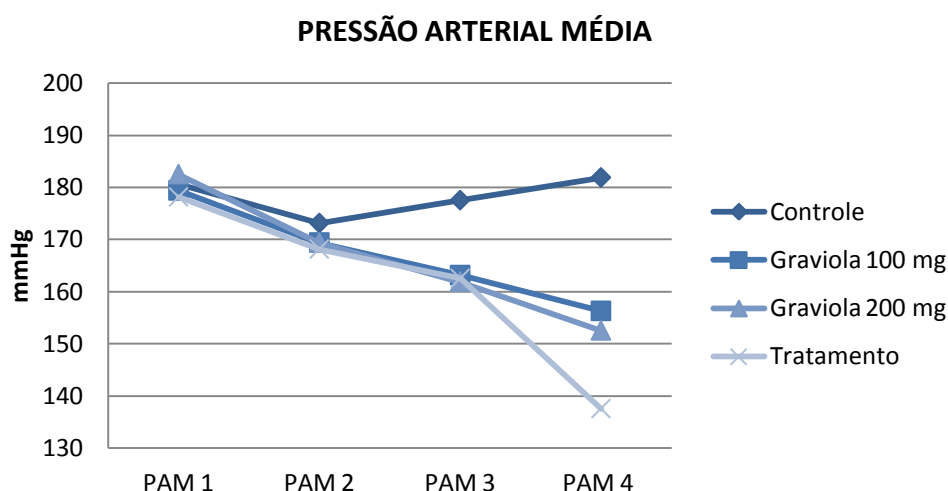


Gráfico 8 – Alteração temporal da pressão arterial média entre os grupos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Verificou-se que a administração de extrato aquoso de *annona muricata*, por 30 dias, em ratos induzidos a um modelo experimental de síndrome metabólica não alterou de forma significativa os níveis plasmáticos de colesterol total e VLDL colesterol. Mas diminuiu de forma significante os níveis de LDL c, triglicerídeos, glicemia, e elevou de forma significante o HDL c. Também produziu diminuição significativa da pressão arterial média e da obesidade, mensurada pelo índice de Lee.

Contudo são necessários novos estudos que estabeleçam possíveis toxicidades do extrato, e também a curva de dose e resposta.

FONTES CONSULTADAS

- 1- Luna RL. Síndrome metabólica. Arq. Bras. Cardiol. 2007; 88(5):124-5.
- 2- Saad MJA, Zanella MT, Ferreira SRG. Síndrome metabólica: ainda indefinida, mas útil na identificação do alto risco cardiovascular. Arq Bras Endocrinol Metab. 2006;50(2):161-2.
- 3- McLellan KCP, Barbalho SM, Lerario AC. Diabetes mellitus do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. Rev. Nutr. 2007;20(5):516-521.
- 4- Picon PX, Zanatta CM, Gerchman F, Zelmanovitz T, Gross JL, Canani LH. Análise dos critérios de definição da síndrome metabólica em pacientes com diabetes mellito tipo 2. Arq Bras Endocrinol Metab. 2006;50(2):264-8.
- 5- Carvalho MHC, et al. I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. Arq. Bras. Cardiol. 2005;84(1):8-24.
- 6- Júnior ACS, Ugolini MR, Santomauro AT, Souto RP. Metformina e AMPK: um antigo fármaco e uma nova enzima no contexto da síndrome metabólica. Arq Bras Endocrinol Metab. 2008;52(1):120-3.
- 7- World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: Report of WHO a Consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Genebra, 1999.
- 8- Guyton AC, Hall JE. Tratado de fisiologia médica. 11ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.p. 850.
- 9- Coronelli CLS, Moura EC. Hipercolesterolemia em escolares e seus fatores de risco. Rev. Saúde Pública. 2003;37(1):25-9.
- 10- Matos SL, Paula H, Pedrosa ML, Santos RC, Oliveira EL, Júnior DAC, et al. Dietary models for inducing hypercholesterolemia in rats. Braz. arch. biol. technol. 2005;48(2):204-6.
- 11- Siqueira AFA, Harima HA, Osiro K, Hirai AT, Gimeno SGA, Ferreira SRG, et al. Distúrbios no perfil lipídico são altamente prevalentes em população nipo-brasileira. Arq Bras Endocrinol Metab. 2008;52(1):40-5.
- 12- Schulz I. Tratamento das dislipidemias como e quando indicar a combinação de medicamentos hipolipemiantes. Arq Bras Endocrinol Metab. 2006;50(2):344-55.

- 13- Gonçalves MCR, Diniz MFFM, Borba JDC, Nunes XP, Filho JMB. Berinjela (*Solanum melongena* L.) – mito ou realidade no combate as dislipidemias? Rev. bras. farmacogn.2006;16(2):252-57.
- 14- Faria AN, Zanella MT, Kohlman O, Ribeiro AB. Tratamento de diabetes e hipertensão no paciente obeso. Arq Bras Endocrinol Metab.2002;46(2):137-42.
- 15- Junior DM, Pierin AMG, Guimarães A. Tratamento da hipertensão arterial- Respostas de médicos brasileiros a um inquérito. Rev. Assoc. Med. Bras.2001;47(3):249-54.
- 16- Cordeiro CHG, Chung MC, Sacramento LVS. Interações medicamentosas de fototerápicos e fármacos: *Hipericum perforatum* e *Piper methysticum*. Rev. fitoterápicos bras. farmacogn.2005;15(3):273-77.
- 17- Yunes RA, Pedrosa RC, Cechinel Filho V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade de desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Quím. Nova. 2001; 24(1): 148-52.
- 18- França ISX, Souza JA, Baptista RS, Britto VRS. Popular medicine: benefits and drawbacks of medicinal plants. Rev. bras. enferm. 2008;61(2): 201-8.
- 19- Veiga Junior VF, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura? Quím Nova. 2005; 28(3): 519-28.
- 20- Adewole SO, Ojewole JAO. Protective Effects of *Annona Muricata* Linn. (Annonaceae) Left Aqueous Extract on Serum Lipid Profiles and Oxidative Stress in Hepatocytes of Streptozotocin- Treated diabetic rats. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2009; 6(1):30-41.
- 21- Baskar R, V Rajeswari, TS Kumar. In vitro antioxidant studies in leaves of *Annona* species. Indian J Exp Biol. 2007;45(5):480-5.
- 22- Ferreira CBND, Cesaretti MLR, Ginoza M, Júnior OK. Efeitos da administração de metformina sobre a pressão arterial e o metabolismo glicídico de ratos espontaneamente hipertensos tornados obesos pela injeção neonatal de glutamato monossódico.Arq. Bras. Endocrinol Metab. 2009; 53(4): 409-15.
- 23- Jaldin RG, Filho HAF, Siqueira JL, Yoshida WB. O processo aterosclerótico em artérias de coelhos submetidos a dieta suplementada com gema de ovo: modelo experimental de baixo custo.Art. Vasc. Bras. 2006; 5 (4): 247-56.

- 24- Tognini JRF, Fagundes DJ, Novo NF, Juliano Y. Estudo biomecânico e morfológico da cicatrização da parede abdominal de ratos sob ação de meloxicam. *Acta Cir Bras* 2000 Jul-Set 15(3): 146-155.
- 25- Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between "Lee index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol.* 1968;40(4):527-8.
- 26- Krzyzaniak LA, Perfil lipídico de ratos submetidos a dieta hiperlipêmica tratados com extrato de *Vaccinium myrtillus*. [monografia]. Universidade regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões; 2008.
- 27- Arango HG. Bioestatística: teórica e computacional: testes paramétricos. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. p.268-9.
- 28- Sousa OV, Vieira DG, Pinho JJRH, Yamamoto CH, Alves MS. Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. *Int J Mol Sci.* 2010; 11(5): 2067–2078.
- 29- Fayed T, El-Missiry MA, Emara H, El-Sayaad N. Effect of *Nigella sativa* or fish oil supplementation in alloxan diabetic rats. *J Union Arab Biol.* 1998;9:237–250.)
- 30- Adeyemi DO, Komolafe AO, Adewole OS, Obuotor EM, Adenowo TK. Anti Hyperglycemic Activities of *Annona Muricata* (Linn). *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2009; 6(1): 62–69. Published online 2008 October 25.