

**Universidade Federal do Amazonas**  
**Instituto de Ciências Biológicas**  
**Departamento de Ciências Fisiológicas**  
**Laboratório de Farmacologia**

**RELATÓRIO FINAL PIBIC 2013-2014**

**PIB-B/0100/2013 - Avaliação da atividade antihipertensiva e  
antifibrótica do extrato aquoso de folhas de *Passiflora nitida*  
em ratos normotensos e hipertensos renais**

**Orientando:** Alef Alioscha Andrade Maia

Colaborador: Pierre Antony Almeida Gomes

**Orientador:** Prof .Dr. José Wilson do Nascimento Corrêa

Manaus, 30 de julho de 2014

## Resumo

A hipertensão arterial é uma patologia associada a diversas anomalias dos mecanismos fisiológicos de controle da pressão arterial, como a inibição da vasodilatação induzida por óxido nítrico (NO), importante vasodilatador endógeno. Tal efeito pode ser resultante do estresse oxidativo desencadeado pelo desequilíbrio entre sistemas antioxidante e pró-oxidante endógenos, com prevalência da espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que reduzem a biodisponibilidade do NO e produzem lesões em órgãos alvos. Tendo em vista a grande prevalência de população hipertensa no Brasil (cerca de 23%), do alto custo para o tratamento dessa demanda e dos efeitos deletérios dessa patologia, a qual é responsável por 33% dos óbitos com causas conhecidas de doenças cardiovasculares, torna-se relevante a busca de tratamentos alternativos para o seu tratamento. Dentre as ferramentas disponíveis para identificação de novos fármacos, destaca-se a busca de moléculas bioativas a partir de matérias primas vegetais comumente utilizadas na medicina popular. Das plantas da região amazônica utilizadas com finalidade medicinal pela população e identificadas botanicamente por nosso grupo de pesquisa, podemos citar a *Passiflora nitida* Kunt (Passifloraceae). Esta espécie cresce em vegetação secundária e possui frutos que são consumidos como alimento *in natura* e para o tratamento de distúrbios gastrointestinais. Além disso, propriedades antioxidantes têm sido atribuídas à família Passiflora. Este estudo teve por objetivo investigar o potencial antihipertensivo e inibidor do remodelamento cardíaco e renal do extrato aquoso das folhas de *Passiflora nitida* em ratos hipertensos 2R1C. Os animais foram tratados por via oral (100mg/Kg) por 21 dias e tiveram sua pressão arterial sistólica determinada através de pletismografia de cauda. Também foram avaliados parâmetros metabólicos tais como peso, fluxo urinário, consumo de água e ração, além dos índices de hipertrofia cardíaca e renal. Não foram observadas alterações significativas da pressão arterial e índices de hipertrofia cardíaca e renal esquerda e direita de animais controle hipertensos como se observa na literatura. Quanto ao peso corporal, fluxo urinário e ingestão de água e ração, não foram observadas diferenças entre os grupos avaliados, mesmo os que receberam o extrato de *P. nitida*. Por fim, não foi possível verificar efeitos de redução dos valores pressóricos com o uso do extrato aquoso de *Passiflora nitida*. Baseado nos resultados obtidos até o presente momento, ainda não podemos concluir sobre o efeito do tratamento de ratos hipertensos 2R-1C com *P. nitida* sobre os parâmetros avaliados. A fim de melhor testar esta hipótese, faz-se necessária a repetição ou inclusão de um maior número de animais nos grupos experimentais, realizando-se aferições da pressão arterial de maneira mais padronizada. Outras doses do extrato também precisarão ser testadas.

**Palavras-chaves:** 2R-1C, *Passiflora nitida*, hipertensão renovascular

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>6</b>
2.1	Objetivo Geral.....	6
2.2	Objetivos Específicos .....	6
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>6</b>
3.1	Tratamento Farmacológico.....	8
3.2	Determinação da pressão arterial sistólica.....	8
3.3	Avaliação de parâmetros metabólicos .....	8
3.4	Cálculo do índice de hipertrofia cardíaca.....	9
3.5	Cálculo do índice de hipertrofia renal.....	9
3,6	Análise estatística.....	9
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>10</b>
4.1	Determinação da pressão arterial sistólica .....	10
4.2	Determinação da parâmetros metabólicos.....	12
4.3	Avaliação dos Índices de Hipertrofia Cardíaca.....	13
4.4	Avaliação dos Índices de Hipertrofia Renal.....	13
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>15</b>
	REFERENCIAS.....	18

## 1- Introdução

A hipertensão arterial é uma patologia que resulta em anomalias dos mecanismos fisiológicos de controle da pressão arterial (IRIGOYEN *et al.*, 2003). Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, encéfalo, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não fatais. (CESARINO, 2008)

Segundo pesquisas recentes, a prevalência de hipertensos no Brasil é de aproximadamente 23,3% (BRASIL, 2010), sendo responsável por cerca de 25% dos casos de cardiopatia isquêmica e 40% dos acidentes vasculares cerebrais. No país, as doenças cardiovasculares são responsáveis por 33% dos óbitos com causas conhecidas (PASSOS *et. al*, 2006).

Diante da alta prevalência de população hipertensa no Brasil, do alto custo para o tratamento dessa demanda e dos efeitos deletérios induzidos por essa patologia para os pacientes, torna-se relevante a busca de tratamentos eficazes, de baixo custo e seguros para o tratamento desta patologia. Dentre as ferramentas disponíveis para identificação de novos fármacos, destaca-se a busca de moléculas bioativas com potencial farmacoterapêutico a partir de matérias primas vegetais comumente utilizadas na medicina popular. Pesquisas realizadas em universidades brasileiras já identificaram mais de 350 mil espécies vegetais. Dentre tantas espécies, apenas dez mil possuem algum uso medicinal conhecido e destas, apenas dois mil possuem uso científico comprovado (REZENDE HA & COCCO MIM, 2002)

Das plantas da região amazônica utilizadas com finalidade medicinal pela população e identificadas botanicamente por nosso grupo de pesquisa, podemos citar a *Passiflora nítida* Kunt (Passifloraceae). Esta espécie, conhecida popularmente como maracujá-domato, cresce em vegetação secundária e possui frutos que são consumidos como alimento *in natura* e também utilizados para o tratamento de distúrbios gastrointestinais. Além disso, propriedades antioxidantes têm sido atribuídas à família Passifloraceae, o que poderia contribuir com o possível efeito anti-hipertensivo e com a prevenção de lesões de órgãos alvo a partir de extratos ou frações isoladas obtidos de partes destas plantas. (BENDINI *et al.*, 2006)

Estudos de espécies do gênero *Passiflora* demonstraram propriedades ansiolítica, sedativa, anti-inflamatória (BENINCÁ *et al.*, 2007), anticoncepcional (DHAWAN E SHARMA, 2002, 2003) e anti-hipertensiva em ratos hipertensos renais 2R-1C (PATEL *et al.*, 2011).

Estudos realizados com o extrato das sementes de *Passiflora edulis* identificaram um dímero do Piceatanol, denominado "Scirpusin B", que apresentou potente efeito vasodilatador e antioxidante. Além disso, observou-se que o efeito vasodilatador era dependente do NO derivado do endotélio vascular (SANO *et al.*, 2011).

Em outro estudo, que utilizou o extrato metanólico obtido das folhas de *Passiflora nepalensis*, ratos normotensos e hipertensos receberam doses crescentes de extrato por via endovenosa. Foi observada redução dose-dependente da pressão arterial de ambos os grupos, além de efeitos antioxidantes renais e prevenção da oxidação de túbulos renais durante a isquemia e reperfusão (PATEL *et al.*, 2011).

Pesquisa realizada com extratos aquosos, etanólico e hexânico de folhas da planta *Passiflora nítida* realizada por Carvalho e colaboradores (2010) detectaram indícios da presença de substâncias sequestradoras de radicais livres, os quais têm potencial de reagir com espécies reativas de oxigênio (EROs) liberadas durante o estresse oxidativo. As propriedades antioxidantes de extratos de plantas do gênero *Passiflora* têm sido atribuídas à presença de compostos flavonóides (DHAWAN & SHARMA, 2002, 2003; BENINCÁ *et al.*, 2007).

EROs, ao reagirem com o NO, diminuem sua biodisponibilidade, o que resulta em prejuízo nos mecanismos endógenos de regulação da pressão arterial, predispondo à hipertensão arterial. Além disso, a geração de espécies reativas de oxigênio influencia uma série de vias de sinalização, cujas interações são complexas e sua desregulação pode contribuir para o remodelamento cardíaco, traduzido por processos fibróticos e hipertróficos observados neste modelo experimental de hipertensão arterial (CORRÊA, J.W.N., 2011).

Diante da atividade antioxidante e vasodilatadora descritas para plantas do gênero *Passiflora*, este estudo avaliou a atividade biológica do extrato aquoso das folhas de *Passiflora nítida* na pressão arterial em ratos normotensos e hipertensos renais 2R1C, por meio de tratamento farmacológico, além de avaliar o impacto do mesmo sobre os índices de hipertrofia cardíaca e renal, peso, fluxo urinário, consumo de água e de ração.

## **2- Objetivos**

### **2.1 – Objetivo geral**

Avaliar a atividade biológica do extrato aquoso das folhas de *Passiflora nitida* na pressão arterial, índices de hipertrofia e parâmetros metabólicos em ratos normotensos e hipertensos renais 2R-1C.

### **2.1 – Objetivos específicos**

- Avaliação do potencial antihipertensivo dos extratos aquosos das folhas de *Passiflora nitida* administrados por via oral a ratos normotensos e hipertensos renais 2R-1C através de técnicas de medida indireta da pressão arterial.
- Determinar os parâmetros do índice de hipertrofia renal e cardíaca de ratos 2R e 2R-1C na presença e ausência do tratamento com o extrato aquoso das folhas de *Passiflora nitida*.
- Avaliação da atividade do extrato aquoso de *Passiflora nitida* sobre os parâmetros metabólicos (peso, fluxo urinário, consumo de água e de ração) observados em ratos 2R-1C

## **3- Materiais e Métodos**

Os extratos das folhas de *Passiflora nitida* foram cedidos pelo colaborador do projeto da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UFAM (Prof. Dr. Emerson Silva Lima), responsável pela coleta do material vegetal, identificação e processamento do extrato.

Este projeto está de acordo com as recomendações da legislação federal pertinente ao uso científico de animais e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal do Amazonas sob o número 019/2013.

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 180 a 220g. Os animais foram obtidos do Biotério Central do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

(INPA), mantidos em gaiolas sob condições controladas de temperatura e ciclo claroescuro de 12 horas, com livre acesso a ração e água.

Os experimentos foram realizados nas salas de experimentação do Biotério do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Para a obtenção de ratos com hipertensão renal do tipo 2R-1C foi utilizada a técnica descrita por Goldblatt et al., (1934) e adaptada por Schaffenburg (1959). Os ratos, sob anestesia com quetamina/xilazina (100/20 mg/kg, i.p.), foram submetidos à laparotomia mediana para exposição do pedículo renal e implante de um clipe de prata (0,2 x 1,5 cm) com 0,2 mm de abertura, na artéria renal esquerda (grupo 2R-1C). Os ratos controle foram submetidos ao mesmo procedimento, porém sem o implante do clipe (grupo 2R). Após a cirurgia, os animais receberam tratamento com antibiótico em dose única (terramicina 0,8g/Kg) por via intramuscular (0,4 mL/Kg).

Os animais tiveram sua pressão arterial sistólica registrada em três diferentes dias para cálculo da pressão média semanalmente, antes e após a cirurgia de indução da hipertensão ao longo de 6 semanas. A administração do extrato foi iniciada após a terceira semana da cirurgia por via oral, através de gavagem. Foram considerados hipertensos os animais que apresentaram pressão arterial sistólica superior a 140mmHg na terceira semana após a cirurgia, quando os animais foram aleatoriamente distribuídos em 3 grupos de tratamento (conforme descrito a seguir).

Após a determinação da pressão arterial e tratamento dos animais, foi realizada a laparotomia mediana, sob anestesia com quetamina/xilazina (100/20 mg/kg, i.p.) para abertura da cavidade torácica, expondo o coração ainda pulsando e realizada punção intracardiaca para coleta de sangue (5mL e perfusão dos tecidos pela infusão de aproximadamente 40 mL de solução de NaCl 0,9% e fixação com formol a 10% (20mL). O coração foi rapidamente retirado. O excesso de umidade foi removido com o auxílio de papel de filtro. O mesmo foi realizado com os rins direito e esquerdo. Os órgãos sólidos foram pesados e logo após mantidos em formol a 10% até a sua inclusão em parafina para futura análise histológica. O sangue coletado será utilizado em posterior análise bioquímica. Realizou-se a remoção da tibia direita de todos os animais e seu comprimento foi aferido com o auxílio de um paquímetro.

### **3.1 - Tratamento farmacológico**

Os animais experimentais receberam durante 21 dias (a partir da 3<sup>o</sup> semana após a cirurgia do implante do clipe) 100 mg/kg/dia do extrato aquoso de *Passiflora nítida* por gavagem. O volume máximo administrado foi de 5mL/kg e a dose máxima de 1g/kg (LAPA et al. 2007). Animais controle receberam o mesmo volume de veículo (máximo de 1 ml/kg/dia, v.o.).

Foram utilizados 20 ratos, distribuídos de acordo com os grupos descritos abaixo:

- Grupo 2R controle -11 ratos normotensos que receberam solução salina (NaCl 0,9%, máximo de 5mL/Kg/dia) por 21 dias.
- Grupo 2R-1C controle - 6 ratos hipertensos renais que receberam solução salina (NaCl 0,9%, máximo de 5mL/Kg/dia) por 21 dias.
- Grupo 2R-1C tratado – 3 ratos hipertensos renais tratados com 100 mg/kg/dia do extrato aquoso de *Passiflora nítida* por gavagem 21 dias

### **3.2 - Determinação da pressão arterial sistólica**

A pressão arterial sistólica foi determinada por pletismografia de cauda (“tailcuff”) acoplado a um medidor de pressão digital modelo LE 501 (Lettica PanLab, Barcelona, Espanha). A pressão arterial caudal foi determinada semanalmente, antes e ao longo de 6 semanas após a cirurgia de implante do clip na artéria renal, com medidas repetidas a cada 3 dias dentro da mesma semana. O animal foi previamente aquecido em ambiente entre 40° e 45° C durante 10 minutos. As aferições foram feitas dez vezes e determinou-se a média diária das aferições por rato. As médias aritméticas das medidas dentro da mesma semana foram determinadas para o estabelecido do valor semanal de pressão por animal. Antes de se iniciarem as aferições, os animais passaram por treinamento de 5 dias para adaptação ao método de aferição.

### **3.3- Avaliação de parâmetros metabólicos**

Ao final do período de tratamento, os ratos foram colocados individualmente em gaiolas metabólicas durante quatro dias consecutivos. O primeiro dia foi para adaptação



dos animais às gaiolas e os dias seguintes para avaliar os parâmetros metabólicos. As variáveis avaliadas foram: peso do animal, consumo de ração, consumo de água e fluxo urinário.

### **3.4 - Cálculo do índice de hipertrofia cardíaca**

A partir do peso do coração e da determinação do comprimento da tibia (realizados no dia da coleta), foi calculado o índice de hipertrofia cardíaca (IHC) como descrito a seguir:

$$\text{IHC} = \text{peso do coração(g)} \times 100 / \text{comprimento da tibia (mm)}$$

### **3.5 - Cálculo do índice de hipertrofia renal**

A partir do peso dos rins e da determinação do comprimento da tibia (realizados no dia da coleta), foi calculado o índice de hipertrofia renal (IHR) como descrito a seguir:

$$\text{IHR} = \text{peso do rim(g)} \times 100 / \text{comprimento da tibia (mm)}$$

### **3.6 - Análise estatística**

Após a coleta, os dados obtidos foram tabelados em planilhas do Excel e devidamente analisados por teste T ou análise de variância (ANOVA), seguida do pósteste utilizando o método de Newman-Keuls quando adequados. Foi adotado nível de significância de 5% para que as diferenças fossem consideradas estatisticamente significativas. A análise estatística e síntese de gráficos foram realizadas no programa GraphPad Prism versão 5.0.

## 4- Resultados

Os resultados são apresentados como média  $\pm$  EPM.

### 4.1 – Determinação da pressão arterial sistólica

Realizada a aferição pressórica sistólica por método indireto dos animais disponibilizados pelo Biotério do INPA, constatou-se que o valor médio de pressão arterial sistólica (PAS) antes de qualquer procedimento cirúrgico foi de  $135 \pm 3$  mmHg (n=20), conforme pode ser observado no Gráfico 1. Nesta semana os animais apresentaram peso corporal médio de  $205 \pm 3$  g.

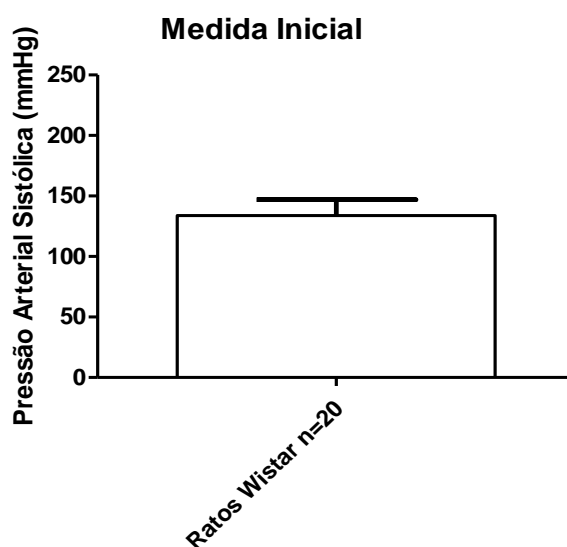


Gráfico 1- Aferição da Pressão Arterial inicial de Ratos Wistar

No dia anterior ao início do tratamento, 3 semanas após o procedimento cirúrgico para indução da hipertensão, ratos 2R apresentaram PAS de 144 mmHg (n=11) e os animais 2R-1C apresentaram PAS de  $161 \pm 6$  mmHg (n=9). Como seria esperado, a PAS de 2R-1C foi superior a 140 mmHg. Entretanto, a PAS de ratos 2R apresentou-se mais elevada do que o esperado (110 a 120mmHg) de modo que não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Os resultados podem ser visualizados no Gráfico 2.

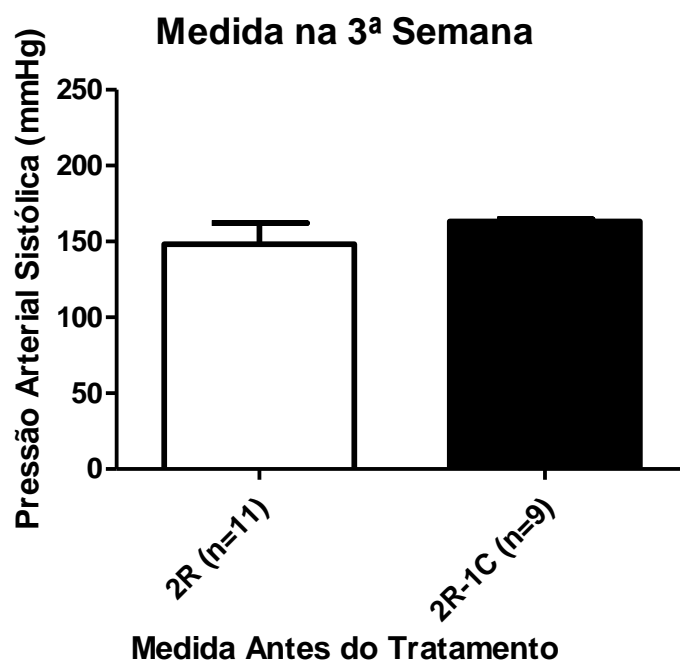


Gráfico 2- Aferição da Pressão Arterial Sistólica (pletismografia de cauda) de ratos normotensos (2R) e hipertensos (2R-1C) na 3ª semana após a cirurgia.

Os valores médios de PAS ao final do período de tratamento foram: 2R  $162 \pm 1$  mmHg (n=11); 2R-1C Controle –  $188 \pm 8$  mmHg (n=6) e 2R-1C Tratado –  $186 \pm 18$  mmHg (n=3). De maneira inesperada, ratos 2R-1C não tiveram pressão maior que a de ratos 2R, o tratamento também não modificou a PAS desses animais. Os resultados podem ser observados no Gráfico 3.

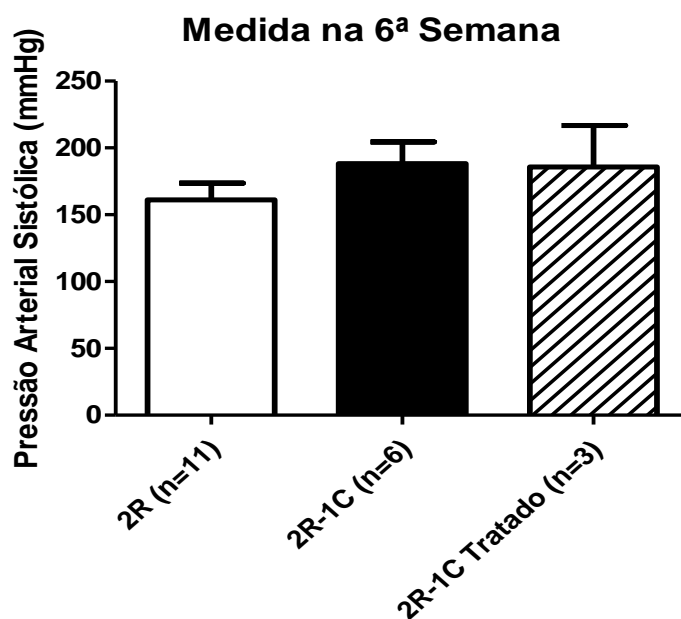


Gráfico 3- Pressão arterial Sistólica de ratos normotensos (2R) e hipertensos (2R-1C) na ausência ou presença de tratamento com *P. nitida* na 6ª semana após a cirurgia.

#### 4.2 – Determinação de parâmetros metabólicos

Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros metabólicos dos grupos estudados conforme observado na Tabela 1.

**Tabela 1 – Parâmetros metabólicos de ratos de ratos normotensos (2R) e hipertensos (2R-1C) controle e tratados com o extrato aquoso de *P.nitida***

	2R (n=11)	2R-1C controle (n=6)	2R -1C tratado (n=3)
<b>Consumo de Água (mL/Kg/dia)</b>	44,64 ± 7,44	38,5 ± 2,86	38,53 ± 2,57
<b>Consumo de Ração (g/Kg/dia)</b>	22,39 ± 0,65	22,36 ± 2,22	20,92 ± 0,89
<b>Peso (g)</b>	449,5 ± 8,84	434,6 ± 11,65	426,9 ± 25,97
<b>Fluxo Urinário (mL/Kg/24h)</b>	80,77 ± 15,02	54,32 ± 1,91	59,11 ± 5,07

#### 4.3– Avaliação dos Índices de Hipertrofia Cardíaca

Ao fim do experimento, o grupo 2R apresentou índice de hipertrofia cardíaca de  $36,80 \pm 1,738$  (n=11), enquanto o grupo 2R-1C apresentou índice de  $38,60 \pm 1,993$  (n=6) e o grupo 2R-1C tratado apresentou  $39,40 \pm 4,786$  (n=3) de índice. Não foram observadas alterações significativas no índice de hipertrofia cardíaca entre os diferentes grupos de animais. Os resultados podem ser visualizados no Gráfico 4.

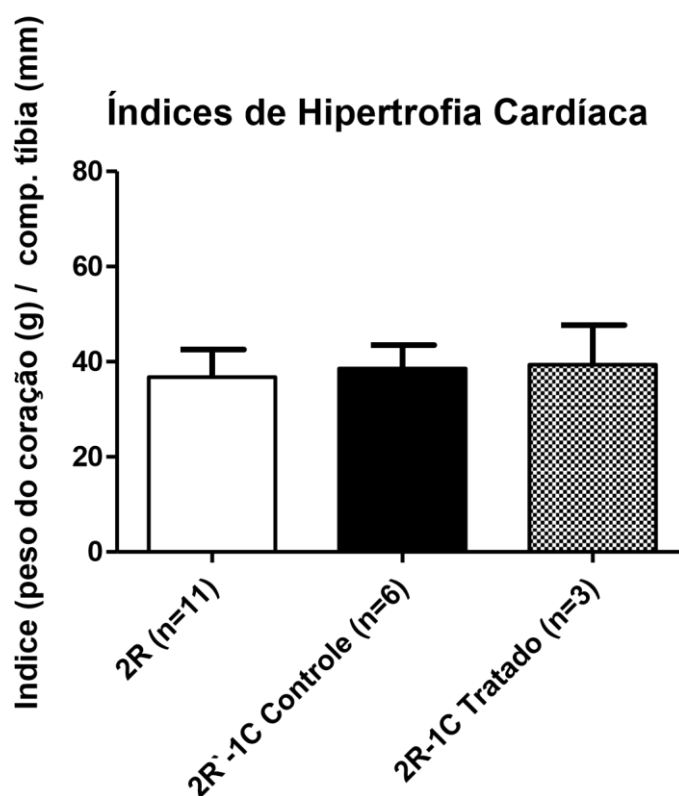


Gráfico 4- Índice de hipertrofia cardíaca de ratos normotensos (2R) e hipertensos (2R1C) controle e tratados com o extrato aquoso de *P.nitida*

#### 4.4– Avaliação dos Índices de Hipertrofia Renal

Ao final do experimento, o índice de hipertrofia renal direita do grupo 2R foi de  $45,07 \pm 1,831$  (n=11), enquanto o grupo 2R-1C controle foi de  $51,50 \pm 5,8$  (n=6) e 2R1C tratado  $57,28 \pm 2,803$  (n=3). Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. Os resultados estão expressos no gráfico 5.

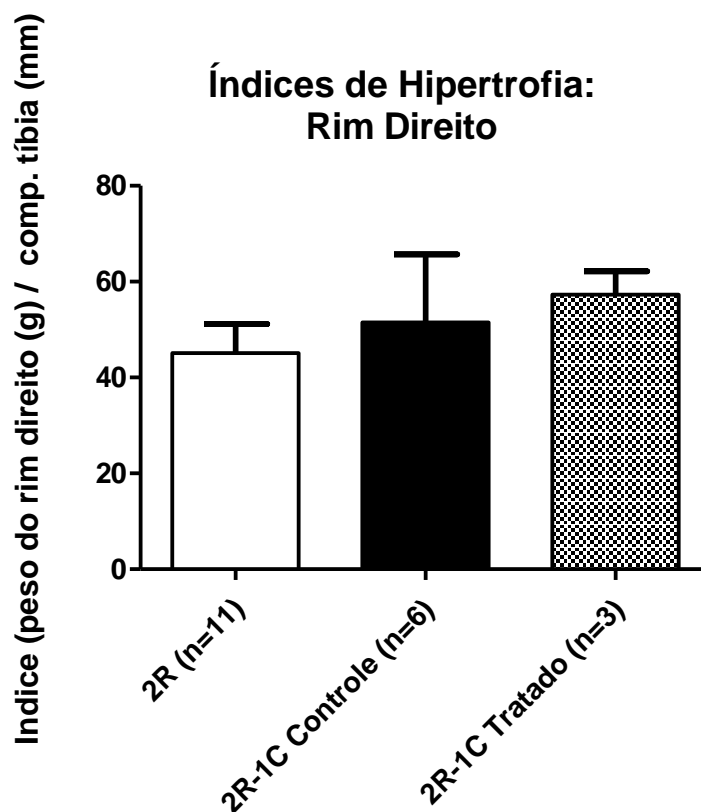


Gráfico 5- Índice de hipertrofia renal direita (rim direito) de ratos normotensos (2R) e hipertensos (2R-1C) controle e tratados com o extrato aquoso de *P.nitida*

Em relação à hipertrofia renal esquerda, o grupo 2R apresentou índice  $38,30 \pm 3,182$  (n=11) e o grupo 2R-1C  $22,08 \pm 5,791$  (n=6). O grupo 2R-1C tratado apresentou índice  $26,84 \pm 11,62$  (n=3). Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. Os resultados estão expressos no gráfico 6.

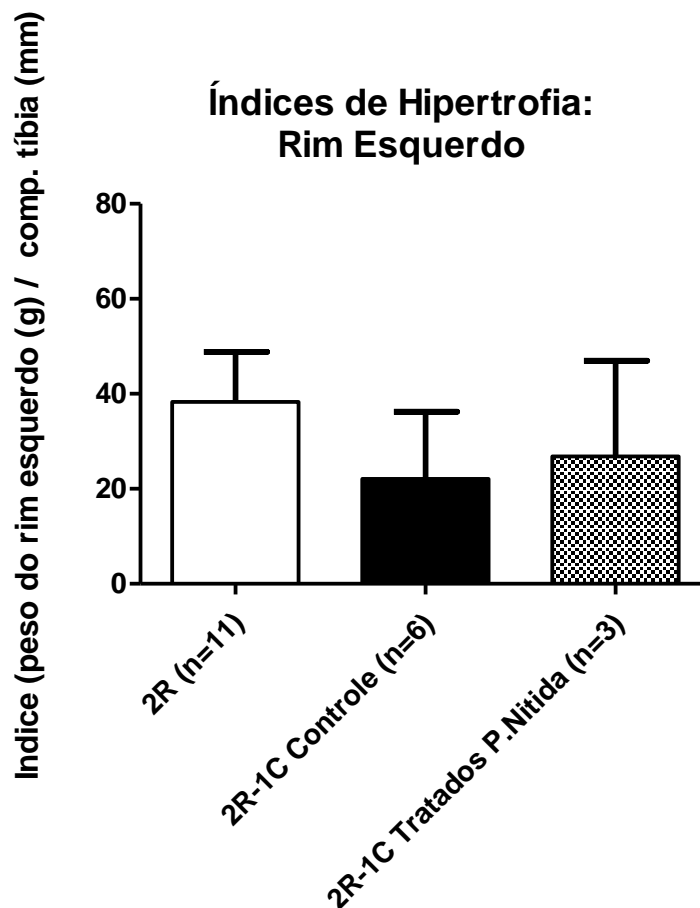


Gráfico 6 - Índice de hipertrofia renal (rim esquerdo) de ratos normotensos (2R) e hipertensos (2R-1C) controle e tratados com o extrato aquoso de *P.nitida*

## 5-Discussão

Este trabalho pretendeu avaliar a pressão arterial sistólica, os índices de hipertrofia cardíaca, renal e parâmetros metabólicos de ratos normotensos controle (2R) e hipertensos (2R-1C) controle e tratado com o extrato aquoso de *P.nitida*.

O grupo 2R tratado não foi incluído devido à dificuldades na obtenção de animais, além da limitação na quantidade de extrato disponível. Dessa forma, não foi avaliado o efeito do extrato de *P. nitida* sobre ratos 2R.

A pressão arterial média dos ratos Wistar antes da cirurgia de clipagem da artéria renal de  $135 \pm 3$  mmHg se mostrou dentro do observado em outros trabalhos, os quais encontraram uma pressão arterial sistólica média de  $116 \pm 2$  mmHg em ratos normotensos (SANTOS, MRV *et al* 2010)

Após a cirurgia de indução da hipertensão, os ratos do grupo 2R-1C não apresentaram diferenças significativa nos valores médios de pressão arterial sistólica em relação ao grupo 2R. Relatos da literatura suportam resultados semelhantes de pressão sistólica entre ratos 2R e 2R-1C após uma média de 3 semanas da cirurgia (BOONLA, O. 2013). Ressalta-se que os valores de pressão dos animais 2R estavam mais elevados que o esperado, inclusive quando comparados ao período pré-cirúrgico ( $P < 0,05$ ). É necessário salientar que o estresse ambiental, além do estresse emocional do animal durante o procedimento de aferição da pressão também influencia nos resultados obtidos (BRUDER-NASCIMENTO, T. 2013). Tais situações podem explicar ao menos em parte os valores discrepantes obtidos, principalmente quando avaliada a PAS de animais do grupo 2R. Acreditamos que será necessário aumento no número de observações para confirmação deste resultado.

Após o tratamento com o extrato aquoso das folhas *P. nitida* não foi observada redução da pressão arterial no grupo 2R-1C tratado, apesar do provável efeito antioxidante atribuído à planta (MONTEFUSCO-PEREIRA, C.V. *et al* 2013). Este resultado pode estar associado ao número reduzido de animais no grupo 2R-1C tratado, além de um nível de hipertensão arterial em ratos controle inferior ao que se esperava à sexta semana após indução da hipertensão. Além disso, atribuímos estes resultados à variedade de pesquisadores envolvidos na manipulação dos animais de nosso estudo. Apesar desta ter sido uma estratégia necessária haja visto a extensa carga horária do curso de medicina, tal fator pode refletir em maior estresse dos animais devido a diferenças no manuseio entre os pesquisadores. Sabe-se que ratos expostos a situações de estresse têm seus níveis de pressão arterial sistólica aumentados (BRUDERNASCIMENTO, T. 2013). Outra variável que pode ter refletido em ausência de resposta na pressão arterial sistólica dos animais foi a dose administrada (100 mg/Kg). É possível que aumentando a dose sejam observados efeitos redutores da pressão arterial devido ao aumento de biodisponibilidade de substâncias ativas presentes no extrato. É importante ressaltar que em estudos preliminares realizados em nosso laboratório, a dose de 500 mg/Kg causou efeitos debilitantes nos animais tais como queda do estado geral e convulsões.

Quanto aos parâmetros metabólicos após o período de tratamento, o consumo de água não apresentou diferenças significativas entre os grupos. Entretanto, dados da literatura relatam que em ratos hipertensos no modelo 2R-1C o consumo de água



encontra-se aumentado (SANTOS, C.M et al, 2005). O consumo de ração e o peso dos diferentes grupos de animais não apresentam diferenças significativas, bem como o fluxo urinário. Em outras publicações o fluxo urinário dos animais 2R-1C e 2R apresentam diferenças, de forma que o fluxo encontra-se reduzido nos animais hipertensos (BÜRGELOVÁ *et al*, 2005).

O índice de hipertrofia cardíaca não apresentou diferenças entre os grupos. Apesar dos efeitos antioxidantes atribuídos à *P. nítida*, não foi notada diminuição da hipertrofia cardíaca neste estudo. Dados de nosso laboratório (CORREA, JWN 2011) e da literatura demonstram aumento do índice de hipertrofia cardíaca nos animais hipertensos (YU, T. 2013), o que aponta para a possível ausência de hipertensão nos animais clipados neste estudo. Acreditamos que estes experimentos precisam ser repetidos.

O tratamento com o extrato aquoso liofilizado de *P nítida* não modificou o índice de hipertrofia renal esquerda ou direita de ratos 2R-1C. Hipertrofia renal direita e atrofia renal esquerda são características bem estabelecidas do modelo 2R-1C, aparentemente associadas aos efeitos da estenose da artéria renal esquerda sobre o rim esquerdo e respostas compensatórias à sobrecarga pressórica e hiperreninemia observada no rim contralateral, onde se observa hiperplasia (EBRAHIMI, B, 2013; MOHAMMED, 2014). Alguns estudos apontam a necessidade de um tempo superior a seis semanas para observação deste efeito (MOHAMMED, 2014).

É importante salientar que os índices calculados a partir do peso de órgãos sólidos em relação ao comprimento da tíbia (que apresenta crescimento linear com a idade do animal) fornecem uma estimativa não muito precisa a respeito dos órgãos analisados. Faz-se necessária a avaliação por métodos mais fidedignos, como a análise morfométrica histológica. Esta não foi realizada a tempo para este estudo devido a dificuldades de pessoal técnico no laboratório de histologia da UFAM relacionadas à greve dos técnicos-administrativos.

Uma vez que não foram observadas diferenças significativas quanto aos níveis pressóricos entre os grupos de ratos normotensos (2R), hipertensos renais controle (2R1C) e hipertensos renais tratados (2R-1C tratado) após o fim do experimento, contrastando com resultados de estudos presentes na literatura utilizada como referência (principalmente em relação a ratos 2R e 2R-1C controle), podemos inferir que alguns

fatores podem ter interferido nas análises presentes neste trabalho. Dentre estes poderíamos citar: o ambiente, manuseio do animal, modo de aferição, dose do extrato utilizada e o tamanho da amostra. Portanto, conclui-se que estudos posteriores devem ser realizados a fim de aprimorar as técnicas utilizadas, assim como avaliar o efeito de diferentes doses. É necessário, além de tudo, padronizar ainda mais o ambiente de desenvolvimento de futuras pesquisas e isso implica em redução de contingente pessoal tratando os animais e redução de situações de estresse dos animais (luminosidade, ruído e ventilação).

Portanto, baseando-se nos resultados obtidos neste estudo, ainda não podemos concluir sobre o efeito do tratamento de ratos hipertensos 2R-1C com *P. nitida* sobre a pressão arterial, alterações em órgãos-alvo como coração e rins e sobre o metabolismo. A fim de melhor testar esta hipótese, faz-se necessária a inclusão de um maior número de animais nos grupos experimentais, realizando-se aferições da pressão arterial de maneira ainda mais padronizada. Além disso, é necessário verificar a expressão de marcadores genéticos nos ratos Wistar disponíveis para nossa utilização no estado do Amazonas. Há a possibilidade de que os animais, em virtude de seu isolamento, tenham perdido características genotípicas e fenotípicas de sua linhagem original. Outra possibilidade seria utilizar animais com hipertensão estabelecida (mais que três semanas após a cirurgia). Diferentes doses do extrato de *P. nitida* também precisarão ser testadas.

## **6– Referências**

1. BENINCÁ, J.P. *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. *Food Chemistry*, 104. 2007. p. 1097-1105.
2. DE CARVALHO, M. J., *et al.* Pharmacognostic study and in vitro activity on blood coagulation and platelet aggregation of leaves of *Passiflora nitida* Kunth (Passifloraceae). *Acta Amazonica*, , 40.1 2010. p. 199-206.
3. CORRÊA, J.W.N. Mecanismos envolvidos nos efeitos anti-hipertensivo e antihipertrófico cardíaco do duplo bloqueio do sistema renina-angiotensina em ratos hipertensos renais 2R-1C. 2011. 152f. Tese (Doutor em Ciência)- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, São Paulo 2011
4. DHAWAN, K.; SHARMA, A.. Prevention of chronic alcohol and nicotine-induced azospermia, sterility and decreased libido, by a novel tri-substituted benzoflavone moiety from *Passiflora incarnata* Linneaus in healthy male rats. *Life Sciences*, 71. 2002. p. 3059-3069.

5. DHAWAN, K.; SHARMA, A. Restoration of chronic-  $\Delta^9$ -THC-induced decline in sexuality in male rats by a novel benzoflavone moiety from *Passiflora incarnata* Linn. *British Journal of Pharmacology*, 138. 2003. p. 117-120.
6. GOLDBLATT H; *et al.* Studies on experimental hypertension I the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *Journal Experimental Medicine*, 1934. p.347: 379,.
7. BRUDER-NASCIMENTO, T. *et al.* Effects of chronic stress and high-fat diet on metabolic and nutritional parameters in Wistar rats. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo , v. 57, n. 8, Nov. 2013 .
8. MONTEFUSCO-PEREIRA, C.V, *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory, and hypoglycemic effects of the leaf extract from *Passiflora nitida* Kunth. *Applied biochemistry and biotechnology* 170.6 2013: p. 1367-1378.
9. IRIGOYEN, M.C. *et al.* Fisiopatologia da hipertensão: o que avançamos?; Pathogenesis of hypertension: what is new?. *Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo*, 2003, 13.1: 20-45.
10. LIMA-LANDMAN, A.C.R, *et al.* Antihypertensive effect of a standardized aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth in rats: An in vivo approach to the hypotensivemechanism. *Phytomedicine*, v. 14 2007. p. 314–320.
11. PASSOS, V.M.A *et al.* Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. *Epidemiologia e serviços de Saúde*, 2006, 15.1: p. 35-45.
12. PATEL, S.S, *et al.* Antihypertensive effect of methanolic extract of *Passiflora nepalensis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2011, 21.1: p.187-189.
13. REZENDE H.A., COCCO M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. *Rev Esc Enferm USP* 2002; 36: p. 282-8.
14. SANO, S. *et al.* Identification of the strong vasorelaxing substance scirpusin B, a dimer of piceatannol, from passion fruit (*Passiflora edulis*) seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2011, 59.11 p. 6209-6213.
15. SANTOS, M. R. V. *et al.* Parâmetros bioquímicos, fisiológicos e morfológicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) produzidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena* 6.10, 2010.
16. DE SALLES, C. L. F. *et al.* Influência de vasoconstritores associados a anestésicos locais sobre a pressão arterial de ratos hipertensos e normotensos. *Acta Scientiarum. Health Science* 21 2008. p. 395-401.

17. BOONLA, O., *et al.* Curcumin Attenuates Blood Pressure and Oxidative Stress in 2K-1C Renovascular Hypertensive Rats. *Srinagarind Medical Journal* 28.4 2013. p.215-218.
18. SANTOS, C. M., *et al.* Water intake during the development of renal hypertension (2K-1C) in mice. *Physiology & behavior* 85.4 (2005): 512-516.
19. EBRAHIMI, B. *et al.* "Evolution of cardiac and renal impairment detected by highfield cardiovascular magnetic resonance in mice with renal artery stenosis." *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 15.1 (2013): 98.
20. YU, T., *et al.* Effects of traditional Chinese medicine Xin-Ji-Er-Kang formula on 2K1C hypertensive rats: role of oxidative stress and endothelial dysfunction. *BMC complementary and alternative medicine* 13.1 (2013): 173.
21. MOHAMMED AL-SURAIH, *et al.* Renal artery stenosis. Management of renal artery stenosis: What does the experimental evidence tell us? *World Journal of Cardiology*, 2014