

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

RELATÓRIO FINAL PIBIC 2013-2014

**PIB-B/0104/2013 - Avaliação da atividade do extrato aquoso
de *Curcuma zerumbet* na função renal e pressão arterial de
ratos normotensos e hipertensos 2R-1C**

Orientando: Giuseppe Lemos Pertoti de Figueiredo

Colaborador: Luana Catarina Marinho Serruya

Orientador: Prof. Dr. José Wilson do Nascimento Corrêa

Manaus, 30 de julho de 2014

Resumo

A hipertensão arterial sistêmica é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. 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. Dados do Ministério da Saúde apontam que a hipertensão arterial é diagnosticada em cerca de 33 milhões de brasileiros. Ao longo dos anos, foram feitos progressos expressivos da indústria farmacêutica para a produção de medicamentos cada vez mais eficazes, os quais associados a terapias alternativas resultaram em benefícios comprovados na redução da mortalidade e morbidade relacionadas a eventos cardiovasculares. Dentre o tratamento alternativo, a fitoterapia caracteriza-se pelo tratamento com o uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas. O uso de plantas medicinais no tratamento e cura de enfermidades é tão antigo quanto é a espécie humana. Nesse âmbito, a planta *Curcuma zerumbet* se destaca por sua utilização na medicina popular. Neste projeto, foi avaliado o efeito do tratamento de ratos hipertensos renais 2R-1C com o extrato aquoso de raízes de *Curcuma zerumbet* sobre a pressão arterial sistólica, parâmetros metabólicos e índices de hipertrofia cardíaca e renal. Metodologia: A hipertensão foi induzida em ratos Wistar (modelo 2R-1C) e os dados comparados a animais de mesma idade *sham* operados (2R). Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais, sendo apenas um grupo hipertenso tratado por via oral com 500mg/dia do extrato aquoso de *C. zerumbet* por 21 dias. Foram determinadas a pressão arterial sistólica por pletismografia de cauda, avaliados parâmetros metabólicos como consumo de ração e água, fluxo urinário, além de calculados os índices de hipertrofia cardíaca e renal esquerda e direita. Os resultados demonstraram que os valores pressão arterial após o tratamento com *C. zerumbet* não foram modificados, assim como os parâmetros metabólicos e índices de hipertrofia avaliados. Não foram observadas diferenças importantes associadas ao modelo 2R-1C, como elevação da pressão arterial sistólica e do fluxo urinário em relação a ratos normotensos 2R, aumento do índice de hipertrofia cardíaca e renal direita, além de redução do índice de hipertrofia renal esquerda. Discussão: Em vista dos resultados, não podemos ainda concluir sobre o efeito do tratamento de ratos hipertensos 2R-1C com *C. zerumbet* sobre a pressão arterial, morfologia renal e metabolismo. Deste modo, para que seja possível a obtenção de dados conclusivos sobre o efeito de *C. zerumbet* em modelos de hipertensão arterial será necessária a realização de maior número de experimentos além da reavaliação das condições experimentais.

Palavras-chaves: 2R-1C, *Curcuma zerumbet*, hipertensão renovascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Pág. 4
2. OBJETIVOS	Pág. 6
2.1 Objetivos geral	Pág. 6
2.2 Objetivos específicos	Pág. 6
3. MATERIAL E MÉTODOS	Pág. 7
3.1 Tratamentos farmacológico	Pág. 8
3.2 Determinações da pressão arterial sistólica	Pág. 8
3.3 Avaliação de parâmetros metabólicos.....	Pág. 8
3.4 Cálculos do índice de hipertrofia cardíaca	Pág. 8
3.5 Cálculos do índice de hipertrofia renal	Pág. 9
3.6 Análises estatística	Pág. 9
4. RESULTADOS	Pág. 10
4.1 Pressões arterial sistólica	Pág. 10
4.2 Parâmetros metabólicos	Pág. 12
4.3 Índices de hipertrofia cardíaca	Pág. 12
4.4 Índices de hipertrofia renal	Pág. 13
5. DISCUSSÃO	Pág. 16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Pág. 19

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial (PA). 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).

Dados do Ministério da Saúde apontam que a hipertensão arterial é diagnosticada em cerca de 33 milhões de brasileiros. Ainda de acordo com o órgão, a proporção de brasileiros diagnosticados com hipertensão arterial aumentou de 21,6%, em 2006, para 23,3%, em 2010. A maioria dos indivíduos (95%) tem hipertensão arterial denominada essencial ou primária (sem causa) e 5%, hipertensão arterial secundária com causa definida. (BRASIL, 2002)

Ao longo dos anos, foram feitos progressos expressivos no desenvolvimento e pesquisa de fármacos pela indústria farmacêutica. O potencial farmacoterapêutico disponível na atualidade, onde se inclui os medicamentos alopáticos, fitoterápicos, juntamente com as medidas de conscientização da população na manutenção de hábitos saudáveis, têm apresentado benefícios comprovados na redução da mortalidade e morbidade relacionadas a eventos cardiovasculares. (SARQUIS, 1998.) Dentre as modalidades de tratamento alternativo à alopatia, destaca-se a fitoterapia. Esta modalidade de tratamento caracteriza-se pelo uso de plantas medicinais e suas diferentes formas farmacêuticas (FERRO, 2006).

A espécie *Curcuma zerumbet*, também conhecida popularmente como gajitsu ou cúrcuma amarga, é uma espécie herbácea, perene, pertencente à família Zingiberacea, de ocorrência espontânea na Ásia e tem se destacado pelo seu uso como medicamento fitoterápico. (SCHULZ ET AL., 2002; ALONSO, 1998; NICOLETTI ET AL., 1997; TESKE; TRENTINI, 1997; KATO; FISCHER, 1996). Entre as indicações terapêuticas da *C. zerumbet*, destacam-se as propriedades tônico-estimulante, expectorante, diurética, rubefaciente, calmante, carminativa, colerética, colagoga, depurativa, antiséptica, antifúngica, anti-helmíntica, antimicrobiana, antitumoral, eupéptica, aromática, anti-inflamatória (SCHULZ ET AL., 2002; ALONSO, 1998; NICOLETTI ET AL., 1997; TESKE; TRENTINI, 1997; KATO; FISCHER, 1996), hepatoprotetora (MATSUDA ET AL., 2001) e analgésica (NAVARRO et al., 2002). As partes vegetais empregadas com finalidades terapêuticas são as raízes e os rizomas, os quais podem ser utilizados na forma de infuso, decocto, tintura, pó ou pedaços mastigáveis (TESKE; TRENTINI, 1997; KATO; FISCHER, 1996). As empresas farmacêuticas têm transformado os rizomas em produtos para tratar a gastrite e problemas digestivos (YASUDA ET AL., 1988).

Diuréticos são muitas vezes utilizados como escolha inicial na monoterapia da hipertensão arterial em razão de sua eficácia, perfil favorável de segurança, baixo custo, e seus comprovados efeitos na redução da morbidade e mortalidade associadas a esta patologia. (BLACK HR. 1996).

Recentemente, Diniz e colaboradores (DINIZ, 2009) realizaram o tratamento de ratos normotensos com *C. zerumbet* e observaram a presença de saponinas indutoras de

diurese. Entretanto, os autores não avaliaram o efeito da planta em modelos de hipertensão ou avaliaram os mecanismos relacionados à resposta diurética.

Sendo assim, torna-se importante avaliar a resposta à *C. zerumbet* em modelos de hipertensão arterial.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do tratamento com o extrato aquoso das raízes de *C. zerumbet* na função e morfologia renal e pressão arterial de ratos normotensos e hipertensos 2R-1C.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar os parâmetros da função renal de ratos 2R e 2R-1C na presença e ausência da administração do extrato aquoso das raízes de *C. zerumbet*.
- Avaliar o efeito tratamento por 21 dias com o extrato de *C. zerumbet* na pressão arterial sistólica de ratos 2R e 2R-1C.
- Determinar os índices de hipertrofia renal e cardíaca de ratos 2R e 2R-1C tratados com o extrato aquoso das raízes de *C. zerumbet*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os extratos das raízes de *C. zerumbet* foram cedidos pelos colaboradores do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA (Prof. Dr. Carlos Cleomir de Souza Pinheiro e colaboradores), responsáveis pela coleta do material vegetal, identificação e processamento do extrato. Foi utilizado o extrato aquoso e liofilizado das raízes da planta.

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as recomendações da Legislação Federal pertinente ao uso científico de animais, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal do Amazonas sob o número 023/2013.

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 180 a 220g. Os animais foram cedidos pelo Biotério do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), mantidos em gaiolas sob condições controladas de temperatura e ciclo claro-escuro de 12 horas, com livre acesso a ração e água. Os experimentos foram realizados nas Salas de Experimentação do Biotério do INPA.

Para a obtenção de ratos com hipertensão renal do tipo 2R-1C utilizou-se a técnica descrita por Goldblatt et al., (GOLDBLATT, 1934) e adaptada por Schaffenburg em 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 clipe de prata 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 0,2g/Kg) por via intramuscular.

Os animais tiveram sua pressão arterial sistólica registrada em três diferentes dias para cálculo da pressão média semanal, 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 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 a punção intracardíaca para coleta de sangue (5mL) para futura realização de determinações bioquímicas, além de 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 feito 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. Realizou-se a remoção da tíbia direita de todos os animais e seu comprimento foi aferido com o auxílio de um paquímetro.

3.1 Tratamento farmacológico

Os animais hipertensos renais 2R-1C receberam durante 21 dias (a partir da 3ª semana após a cirurgia do implante do clipe) 500 mg/kg/dia do extrato aquoso de *C. zerumbet* 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, via oral).

Foram utilizados 21 ratos, distribuídos de acordo com os grupos descritos abaixo:

- **Grupo 2R** - 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 receberão solução salina (NaCl 0,9%, máximo de 5mL/Kg/dia) por 21 dias.
- **Grupo 2R-1C tratado** - 4 ratos hipertensos renais tratados com 500 mg/kg/dia do extrato aquoso das raízes de *C. zerumbet* por gavagem por 21 dias.

3.2 Determinação da pressão arterial sistólica

A pressão arterial sistólica foi determinada em pletismografo de cauda (“tail-cuff”) acoplado a 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 a cada 3 dias dentro da mesma semana. Para cada determinação, o animal foi previamente aquecido em ambiente entre 40° e 45° C durante 10 minutos. As aferições foram feitas dez vezes para determinação da média de pressão arterial sistólica do dia. Foi calculada a média aritmética das três determinações realizadas na mesma semana para o estabelecido do valor semanal de pressão sistólica por animal.

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 avaliação dos 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:

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

3.5 Cálculo Do Índice De Hipertrofia Renal

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

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

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 pós-teste 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 Pressão Arterial Sistólica

Constatou-se que o valor médio de pressão arterial sistólica (PAS) dos animais disponibilizados pelo Biotério do INPA antes de qualquer procedimento cirúrgico foi de 135 ± 3 mmHg (n=21) como pode ser observado na Gráfico 1. Os animais nesta etapa apresentaram peso corporal médio de 205 ± 3 g.

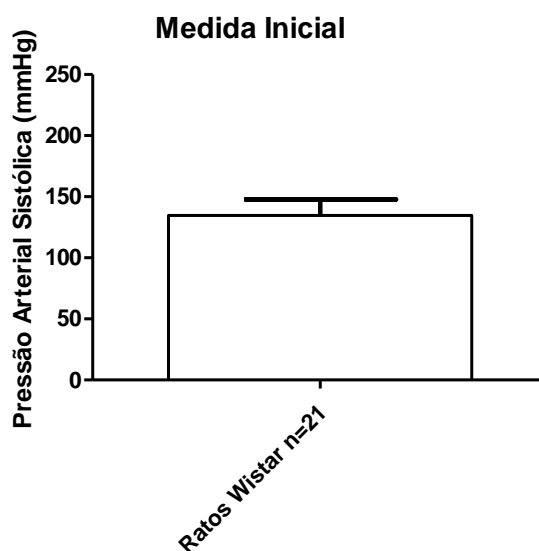


Gráfico 1 – Aferição da pressão arterial sistólica inicial de ratos Wistar por pletismografia de cauda

Ao final da 3^a semana após o procedimento cirúrgico para indução da hipertensão, ratos 2R apresentaram PAS de 144 ± 1 mmHg (n=11) e ratos 2R-1C apresentaram PAS de 161 ± 5 mmHg (n=10). De modo inesperado, não foram observadas diferenças significativas na pressão sistólica entre os grupos, conforme pode ser observado na Gráfico 2.

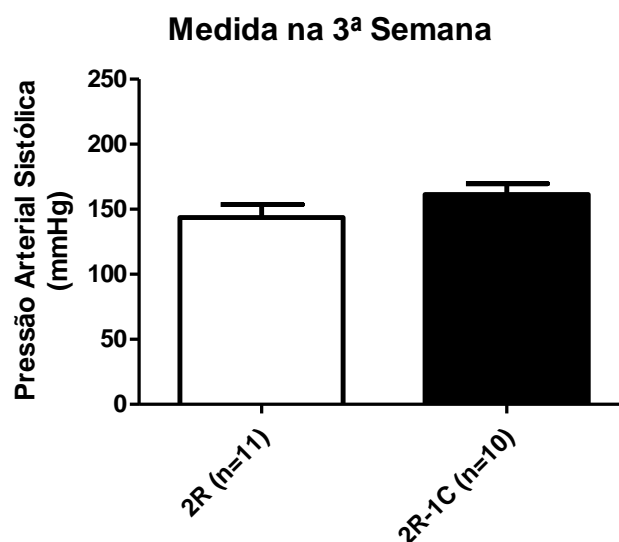


Gráfico 2 – Aferição da pressão arterial sistólica de ratos 2R e 2R-1C três semanas após o procedimento cirúrgico por pletismografia de cauda

Os valores médios de PAS ao final do período de tratamento foram: 2R (n=11) 161 ± 0 mmHg; 2R-1C Controle (n=6) – 175 ± 8 mmHg e 2R-1C (n=4) Tratado – 189 ± 4 mmHg. De maneira inesperada, ratos 2R-1C não tiveram pressão maior que a de ratos 2R. O tratamento de ratos 2R-1C com *C. zerumbet* também não modificou a PAS desses animais. Tais resultados podem ser observados no Gráfico 3:

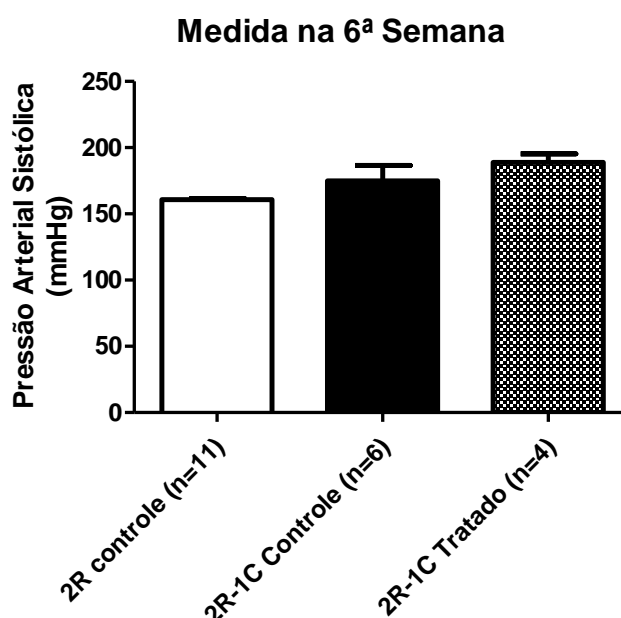


Gráfico 3 – Aferição da pressão arterial sistólica de ratos 2R e 2R-1C controle ou 2R-1C tratados com *C. zerumbet* seis semanas após o procedimento cirúrgico por pletismografia de cauda.

4.2 Parâmetros Metabólicos

O resultado dos parâmetros metabólicos de avaliação do consumo de água (mL/Kg/24h); consumo de ração(g/Kg/24h); peso (g) e fluxo urinário (mL/Kg/24h) podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros metabólicos de ratos 2R e 2R-1C controle e 2R-1C tratados com o extrato aquoso de *C. zerumbet*.

	2R (n=11)	2R-1C Controle(n=6)	2R-1C Tratado (n=4)
Consumo de água (mL/Kg/24h)	0,01 ± 0,84	0,09 ± 0,24	0,12 ± 0,40
Consumo de ração (g/Kg/24h)	0,05 ± 0,74	0,51 ± 0,19	0,64 ± 0,05
Peso ao final do experimento (g)	449,5 ± 8,84	434,6 ± 11,65	386,7 ± 32,70*
Fluxo Urinário (mL/Kg/24h)	80,77 ± 15,02	54,32 ± 1,91	90,67 ± 12,96
			* p<0.05 vs 2R

Não houve alteração nos valores de consumo de água, de ração e fluxo urinário entre os diferentes grupos de animais. Entretanto, observou-se redução do peso corporal de ratos 2R-1C tratados com o extrato de *C. zerumbet* quando comparados a ratos 2R.

4.3 Índice De Hipertrofia Cardíaca

O índice de hipertrofia cardíaca de ratos 2R-1C não foi diferente de ratos 2R (38,60 ± 1,99, n=6 vs 36,80 ± 1,74, n=11). O tratamento de ratos 2R-1C com o extrato aquoso de *C. zerumbet* também não modificou o índice de hipertrofia cardíaca desses animais (40,17 ± 2,27, n=4). Os resultados são apresentados no Gráfico 4.

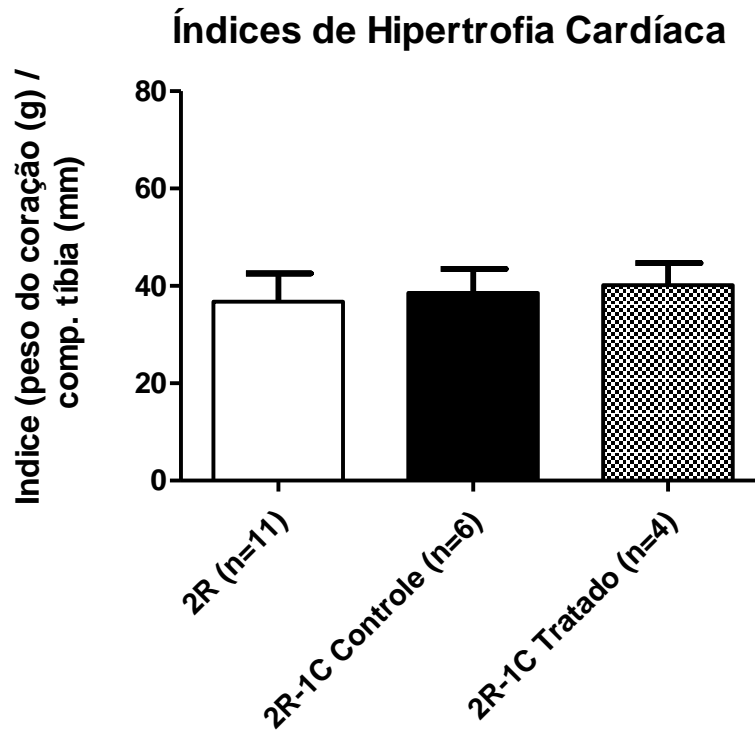


Gráfico 4 – Índices de hipertrofia cardíaca de ratos 2R e 2R-1C controle e 2R-1C tratados com o extrato aquoso de *C. zerumbet*

4.4 Índice De Hipertrofia Renal

O índice de hipertrofia do rim direito de ratos 2R-1C não foi diferente de ratos 2R ($51,50 \pm 5,8$; $n=6$ vs, $45,07 \pm 1,83$ $n=11$). O tratamento de ratos 2R-1C com o extrato aquoso de *C. zerumbet* também não modificou o índice de hipertrofia do rim direito desses animais ($50,66 \pm 3.338$, $n=4$). Os resultados são apresentados no Gráfico 5.

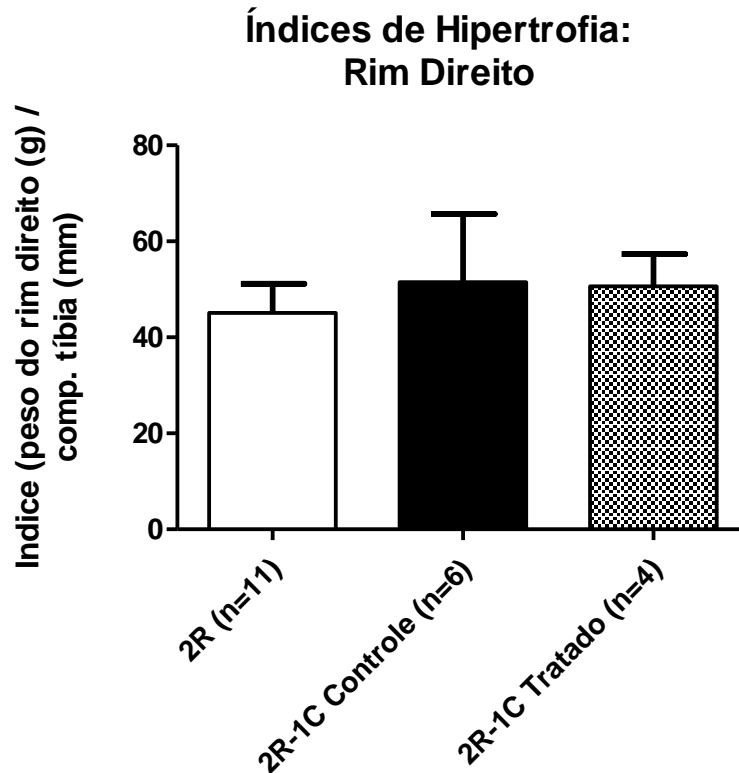


Gráfico 5 – Índices de hipertrofia renal direita de ratos 2R e 2R-1C controle e 2R-1C tratados com o extrato aquoso de *C. zerumbet*

O índice de hipertrofia do rim esquerdo de ratos 2R-1C mostrou-se reduzido se comparados a 2R ($22,08 \pm 3,182$, $n=6$ vs $38,30 \pm 3,18$, $n=11$, $P<0,05$). O tratamento de ratos 2R-1C com o extrato aquoso de *C. zerumbet*, entretanto, não modificou o índice de hipertrofia desses animais ($22,35 \pm 4,938$, $n=4$). Os resultados são apresentados no Gráfico 6.

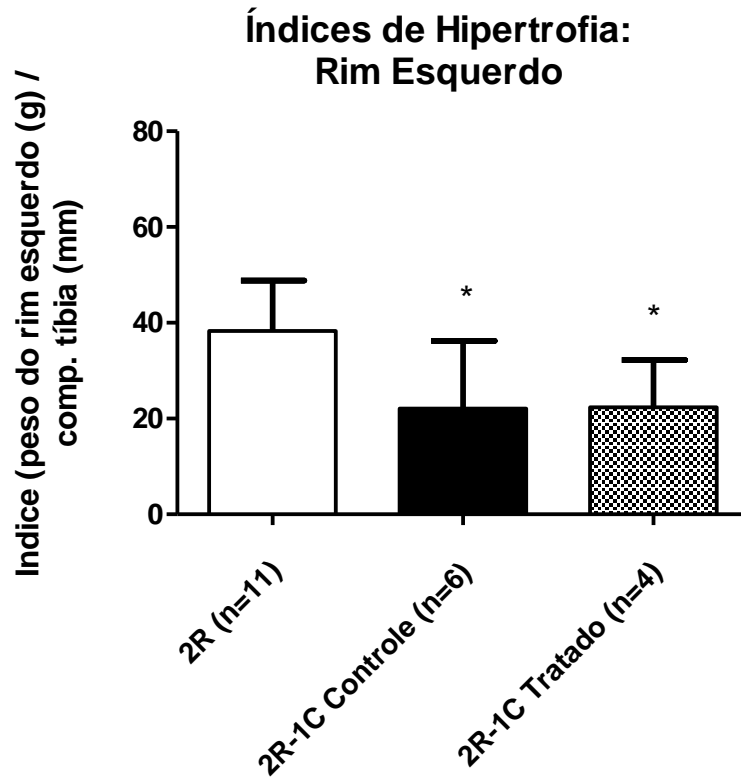


Gráfico 6 – Índices de hipertrofia renal esquerda de ratos 2R e 2R-1C controle e 2R-1C tratados com o extrato aquoso de *C. zerumbet*

5. DISCUSSÃO

Este trabalho avaliou a pressão arterial sistólica, os índices de hipertrofia cardíaca e renal e parâmetros metabólicos de ratos normotensos (2R) e hipertensos renais (2R-1C), na presença e ausência de tratamento com o extrato aquoso das raízes de *C. zerumbet*. Nesta etapa do projeto não foram realizados o tratamento de ratos 2R (grupo 2R Tratado) por limitações na obtenção do extrato da planta, bem como pelo reduzido número de animais disponibilizados pelo INPA.

A pressão arterial média dos ratos Wistar encontrada antes da cirurgia de clipagem da artéria renal foi de 135 ± 3 n=21 mmHg, que se mostrou dentro da média observada em outros trabalhos para essa linhagem de animais, aproximadamente 116 ± 2 mmHg, n=20 (SANTOS, MRV et al 2010)

Após a cirurgia de indução da hipertensão, ratos 2R-1C e 2R não apresentaram diferenças significativas em suas pressões sistólicas. Dados da literatura mostram que os valores de pressão sistólica podem ser semelhantes em animais hipertensos 2R-1C três semanas após a cirurgia (BOONLA, 2013). Ressalta-se, entretanto, que os valores de pressão dos animais 2R estavam mais elevados na terceira semana em relação ao período pré-cirurgia ($P < 0,05$). Cabe aqui salientar que o estresse ambiental, além do estresse emocional do animal durante o procedimento de aferição da pressão também influencia na variabilidade das medidas (BRUDER-NASCIMENTO, T. 2013). Tais situações podem explicar ao menos em parte o aumento inesperado na pressão sistólica observado em ratos 2R na 3ª semana após a cirurgia.

Após o tratamento de ratos 2R-1C com o extrato aquoso do rizoma de *C. zerumbet* não foi observada redução da pressão arterial nestes animais. Outros trabalhos apresentam efeito anti-hipertensivo desta planta atribuído à substâncias ativas isoladas de suas raízes tais como a curumina (BOONLA, 2013). O fato de não reproduzirmos o mesmo resultado pode estar relacionado a não termos sido capazes de observar diferenças na pressão sistólica entre animais 2R e 2R-1C (conforme demonstrado no gráfico 2). Por outro lado, o uso do extrato aquoso liofilizado bruto da *C. zerumbet* no lugar de suas frações isoladas e o reduzido número de animais em nosso grupo 2R-1C tratado também pode ter contribuído. Além disso, atribuímos estes resultados à variedade de pesquisadores envolvidos na manipulação dos animais de nosso estudo, o

que pode refletir em maior estresse desses animais devido a diferenças no manuseio de cada pesquisador, principalmente no que diz respeito às medidas de pressão sistólica.

Quanto aos parâmetros metabólicos, após o tratamento, o consumo de água não apresentou diferenças significativas entre os grupos, o que contrasta com resultados de outras publicações que afirmam que ratos hipertensos aumentam seu consumo de água (SANTOS, C.M et al, 2005). O consumo de ração não apresentou diferenças significativas entre os grupos. Entretanto, conforme observado no Tabela 1, o peso do grupos de animais tratado com *C. zerumbet* apresentou-se reduzido, indicando um possível efeito catabólico do extrato em preferência ao efeito central ativador da saciedade. Há relatos na literatura que descrevem efeitos anti-hiperglicemiante (NISHIYAMA, 2005; SHARMA 2006) e hipolipemiante (CHAVES, 2008) em animais submetidos ao tratamento com *C. zerumbet*. Não foram observadas alterações no fluxo urinário de ratos 2R-1C na ausência ou presença do tratamento com *C. zerumbet*. Dados da literatura relatam fluxo urinário reduzido em animais 2R-1C (BÜRGELOVÁ et al, 2005). A redução de fluxo urinário talvez seja componente fundamental para o desenvolvimento da hipertensão neste modelo experimental, o que justificaria o fato de não havermos observado diferenças na PAS entre ratos 2R e 2R-1C em nosso estudo.

O índice de hipertrofia cardíaca não apresentou diferenças entre os grupos. Outros estudos, inclusive resultados de nosso grupo, demonstram aumento do índice de hipertrofia cardíaca nos animais hipertensos. (CORREA, JWN 2011; YU, TING TING 2013). Caso os animais 2R-1C em nosso estudo estivessem realmente hipertensos, tais resultados podem ainda ser demonstrados por técnicas mais fidedignas, como a morfometria com quantificação da parede livre dos ventrículos e septo interventricular, além da análise do diâmetro do cardiomiócito. Portanto, este estudo não pode concluir sobre o efeito do extrato da planta sobre a morfologia cardíaca.

O tratamento com o extrato aquoso liofilizado de *C. zerumbet* não modificou o índice de hipertrofia renal esquerda ou direita de ratos 2R-1C. Apesar disto, evidenciou-se importante atrofia do rim esquerdo desses animais quando comparados a ratos 2R. Tal constatação também foi observada em outros estudos da literatura e são características bem estabelecidas deste modelo, aparentemente associadas aos efeitos da estenose da artéria renal esquerda sobre o rim. Em relação ao rim direito, contralateral ao clipado, observa-se o relato do aumento compensatório por hiperplasia

(EBRAHIMI, B, 2013; MOHAMMED, 2014). Em nosso estudo não observamos este aumento. Podemos atribuir esse resultado ao tempo de avaliação dos animais, que nos estudos comparados foi maior que seis semanas (MOHAMMED, 2014), ou a ausência da hipertensão, já que resultados prévios de nosso grupo demonstram tanto atrofia renal esquerda quanto hipertrofia renal direita em ratos 2R-1C.

Apesar de não terem sido encontradas diferenças estatisticamente significativas quanto aos níveis pressóricos entre os grupos de ratos normotensos (2R), hipertensos renais controle (2R-1C) e hipertensos renais tratados (2R-1C tratado) ao final do experimento, contrastando com resultados da literatura, podemos inferir que alguns fatores podem ter interferido nas análises presentes neste trabalho, dentre eles poderíamos incluir: ambiente, manuseio do animal, modo de aferição, dose do extrato e 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).

Em vista dos resultados, não podemos ainda concluir sobre o efeito do tratamento de ratos hipertensos 2R-1C com *C. zerumbet* sobre a pressão arterial, morfologia cardiorenal e metabolismo. Para tal, deverão ser incluídos um maior número de animais nos grupos experimentais e realizadas aferições da pressão arterial de maneira mais padronizada. Precisamos também 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 genótípicas e fenótípicas de sua prole. Outra possibilidade seria utilizar animais com hipertensão estabelecida (mais que três semanas após a cirurgia). Diferentes doses do extrato de *C. zerumbet* também precisarão ser testadas.

REFERÊNCIAS

1. ALONSO, V. Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas. 1.ed. Buenos Aires: Indugraf, 1998.
2. BLACK HR. The evolution of low-dose diuretic therapy: the lessons from clinical trials. *Am J Med* 1996;101(suppl3A):47S-52S.
3. BOONLA, O., et al. Curcumin Attenuates Blood Pressure and Oxidative Stress in 2K-1C Renovascular Hypertensive Rats. *ศรีนครินทร์ เวช สาร (Srinagarind Medical Journal)* 28.4 (2013): 215-218.
4. BRASIL, Cadernos de Atenção Básica. Manual técnico para o controle da tuberculose. Ministério da saúde. Brasília. 2002. Disponível em http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/02_0327_m.pdf.
5. BRUDER-NASCIMENTO, Thiago 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.
6. BÜRGELOVÁ, MARCELA, et al. "Effects of angiotensin-(1-7) blockade on renal function in rats with enhanced intrarenal Ang II activity." *Kidney international* 67.4 (2005): 1453-1461.
7. CESARINO, C.B.; CIPULLO, J.P.; MARTIN, J.F.V.; CIORLIA, L.A.; GODOY, M.R.P.; CORDEIRO, J.A.; RODRIGUES, I.C. Prevalência e fatores sociodemográficos em hipertensos de São José do Rio Preto. *Arq Bras Card* 2008; 91(1): 31-35.
8. CHAVES, JULIANA SILVA, et al. "ação hipolipidemiante do corante curcumina em coelhos1." /2008
9. CORRÊA, José Wilson do Nascimento. Mecanismos envolvidos nos efeitos anti-hipertensivo e anti-hipertrófico 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
10. 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): 395-401.
11. EBRAHIMI, B., et al. "Evolution of cardiac and renal impairment detected by high-field cardiovascular magnetic resonance in mice with renal artery stenosis." *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 15.1 (2013): 98.
12. FERRO D 2006. Legislação de Fitoterapia. In: Ferro D. Fitoterapia: conceitos clínicos. São Paulo: Atheneu, p. 83-114.
13. GOLDBLATT H; LYNCH J; HANZEL R; SUMMERVILLE.WW. Studies on experimental hypertension I the production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *Journal Experimental Medicine*, p.347: 379, 1934.

14. KATO, E.T.M. & FISCHER, D.C.H. Estudo morfo-histológico e cromatográfico em camada delgada comparativo de raízes rizomas de *Curcuma zedoaria*(Bergius) Roscoe – droga, óleo essencial e extrato fluido. *LECTA-USF, Bragança Paulista*, (14),n.2, p.9-26, 1996
15. MATSUDA, H.; Morikawa, T.; Ninomiya, K.;Yoshikawa, hepatoprotetor constituintes M. de rhizoma *Zedoariae*: absolut estéreo structures de três carabrane tipo sesquiterpenos novo, curcumenolactones A, B e C. *Bioorganic e Química Medicinal*, (9) , p.909-916, 2001.
16. MOHAMMED AL-SURAIH, Joseph Peter Grande; Al-Suraih M et al. Renal artery stenosis. Management of renal artery stenosis: What does the experimental evidence tell us? . *World Journal of Cardiology*, 2014
17. NAVARRO, DD; SOUZA, MM; NETO, RA; Golin, V.; Niero, R.; YUNES, RA; delleMonache, F.; Cechinel, V. análise fitoquímica e propriedades analgésicas da *Curcuma zedoaria* cultivadas no Brasil. *Phytomedicine* (9), p.427-432, 2002.
18. NICOLETTI, M.A.; ORSINE, M.A.E. & ZAMUR, S.Aspectos de emprego de fitoterápicos na higienização oral –parte 1: óleos essenciais. *Cosmetic&Toiletries*, (90), p.30-34, 1997.
19. NISHIYAMA, TOZO, et al. "Curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 diabetic KK-Ay mice." *Journal of agricultural and food chemistry* 53.4 , 2005
20. SANTOS, C. M., et al. Water intake during the development of renal hypertension (2K-1C) in mice. *Physiology & behavior* 85.4 (2005): 512-516.
21. 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).
22. SARQUIS, L.M.M. et al. A adesão ao tratamento na hipertensão arterial: análise da produção científica. *Rev.Esc.Enf.USP*, v.32, n.4, p. 335-53, dez. 1998.
23. SCHULZ, V.; HANSEL, R. & TYLER, V.E. *Fitoterapia racional*.4.ed. São Paulo: Manole, 2002, p.208.
24. SHARMA, SAMEER, SHRINIVAS K. KULKARNI, AND KANWALJIT CHOPRA. "Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*), ameliorates diabetic nephropathy in rats." *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*33.10 (2006): 940-945.
25. TESKE, M. & TRENTINI, A.M.M. *Herbarium compêndio de fitoterapia*. 3.ed. Curitiba: Herbarium laboratório botânico,1997.
26. Touyz, C Mercure, Y He, D Javeshghani, G Ya, - Angiotensin II-dependent chronic hypertension and cardiac hypertrophy are unaffected by gp91phox-containing NADPH oxidase. *Am Heart Assoc*, 2005
27. YASUDA, K.; TSUDA, T.; SHIMIZU, H.; SUGAYA, A. Multiplication of *Curcuma* species by tissue culture. *Planta Medica*, (54), p.75-79, 1988.

28. 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.