

  <https://doi.org/10.56238/ciesaudesv1-050>

Paula Montanhini Favetta

Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – UNIPAR

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7373-6412>

Wesley Alves Trindade

Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – UNIPAR

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7370-5050>

Itaruã Machri Colla

Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – UNIPAR

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-2547-6078>

Gustavo Ratti da Silva

Doutorando(a) do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – UNIPAR

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7224-8898>

Ana Laura Bosco Caetano

Discente do curso de graduação em Nutrição – UNIPAR

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1049-719X>

Maria Eduarda Lopes da Silva Vigo

Discente do curso de graduação em Nutrição – UNIPAR

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-4246-2627>

Ricardo de Melo Germano

Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – UNIPAR

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5925-1408>

RESUMO

hiperglicemia gerada pelo diabetes mellitus promove alterações fisiológicas em todo o organismo, sendo recorrente o aparecimento de distúrbios gastrintestinais nos portadores desta doença, devido ao dano ao plexo mioentérico. Além do diabetes, sabe-se que há uma relação entre o uso do tabaco e dislipidemia no sistema digestório, porém, ainda há uma lacuna no conhecimento sobre possíveis alterações nos neurônios entéricos. Algumas plantas medicinais são apontadas como terapias complementares no tratamento de doenças gastrointestinais, dentre elas, a *Baccharis trimera*, que possui em sua composição antioxidantes, que podem exercer efeito neuroprotetor nos neurônios do plexo mioentérico. O objetivo do presente estudo foi avaliar o possível efeito protetor da *B. trimera*, popularmente conhecida como carqueja, sobre os neurônios mioentéricos, perfil lipídico e glicêmico de ratos expostos ao modelo experimental com a indução do diabetes mellitus, dislipidemia e o tabagismo. Quanto aos neurônios mioentéricos a carqueja não apresentou efeitos protetores com redução significativa na quantificação da população total, e a manutenção da subpopulação nitrérgica em todos os grupos, nos permite sugerir que estes neurônios são mais resistentes aos efeitos deletérios do diabetes, tabagismo e dieta hipercolesterolêmica.

Palavras-Chave: *Baccharis trimera*, Carqueja, Cigarro, Dislipidemia, Hiperglicemia, Plexo mioentérico.

1 INTRODUÇÃO

1.1 DIABETES MELLITUS (DM)

O Diabetes Mellitus (DM) é considerado um grande problema de saúde pública e é definido como um importante causa de morbidade e mortalidade. Com o crescente número da população e elevada prevalência de obesidade no país, estima-se que até 2030 o DM pode ser a sétima causa mais relevante de mortalidade no mundo (FLOR; CAMPOS, 2017; URANGA-OCIO et al., 2015).

O DM é classificado em dois tipos: tipo 1, caracterizado pela destruição total das células β pancreáticas, ocasionando a deficiência irrestrita da produção de insulina, e o tipo 2 é descrito como o

aumento da resistência dos receptores a ação da insulina ou redução na sua produção. Sua etiologia é abrangente, tendo como principal fator desencadeante o estresse oxidativo (LINO-FILHO *et al.*, 2017; SILVERIO *et al.*, 2008; URANGA-OCIO *et al.*, 2015).

Os sintomas da DM se dão a partir da hiperglicemia ocasionada pela não absorção das moléculas de glicose, a qual, em excesso, resulta em polidipsia, poliúria e polifagia (URANGA-OCIO, 2015), tais alterações são derivadas do distúrbio no metabolismo de carboidratos (SILVERIO *et al.*, 2008).

Nos portadores de DM a hiperglicemia gera uma má filtração dos açúcares pelo glomérulo renal fazendo com que não sejam absorvidos, essa situação leva a glicose a ser excretada pela urina, gerando a poliúria, o que leva a uma maior desidratação do indivíduo, pela perda de água em excesso, tendo como consequência a polidipsia (FERREIRA; BELÉM; ODA, 2015).

Há também, formações de corpos cetônicos em larga escala pela elevada lipólise, que chegam ao fígado, uma parcela é esterificada e a outra é utilizada pela mitocôndria. Parte pode ser utilizada para geração de energia e a outra, gerar corpos cetônicos para também serem usados como substrato energético (FERREIRA; BELÉM; ODA, 2015). Ainda para os mesmos autores, a grande preocupação dos corpos cetônicos se dá pela maior excreção renal e consequente desidratação: geração de sintomas indesejáveis como náuseas e vômitos e a nível cerebral como a cetoacidose diabética.

O DM desencadeia complicações microvasculares como neuropatias, nefropatias e retinopatias, e macrovasculares como acidente vascular cerebral (AVC), cardiopatias e doenças arteriais periféricas (LINO-FILHO *et al.*, 2017). Alterações estruturais e funcionais nas células de todo o organismo, inclusive o trato gastrointestinal (TGI) e sua inervação (SILVERIO *et al.*, 2008; URANGA-OCIO, 2015). O estresse oxidativo é citado como fator desencadeante da patogênese e as complicações do DM (CLEBIS *et al.*, 2013; FERREIRA; BELÉM; ODA, 2015; KASHYAP; FARRUGIA, 2011; REIS *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2015), pela diminuição da capacidade antioxidante das células, devido a condições de hiperglicemia, resultando na alteração nos neurônios do Sistema Nervoso Entérico (SNE) (SILVERIO *et al.*, 2009; FERREIRA; BELÉM; ODA, 2015).

Sabe-se que para o funcionamento adequado do TGI depende da plenitude dos neurônios do SNE, para desempenhar funções de motilidade, secreção e absorção. Algumas condições foram descritas como estimulantes de defeitos no funcionamento do tubo digestório, que estão ligadas a alterações nas características de neurônios do SNE, como tamanho e quantidade (SILVERIO *et al.*, 2009).

É sabido que o estresse oxidativo pode ocasionar lesões em diversos órgãos que atingem o SNE oportunizando neuropatias diabéticas (CLEBIS *et al.*, 2013; SILVERIO *et al.*, 2009) e essa condição advém do desequilíbrio entre a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) e os mecanismos

antioxidantes das células (KASHYAP; FARRUGIA, 2011). Sintomas gastrintestinais são relatados por 75% de pacientes portadores da DM (ZHAO; LIAO; ZHAO, 2017). Os distúrbios mais comuns na DM são disfagia, refluxo, constipação, dor abdominal, náuseas, vômito e diarreia (FERREIRA, BELÉM, ODA, 2015; ZHAO; LIAO; GREGERSEN, 2003), os autores também afirmam que a duração da dieta e má-controle da glicemia agravam os sintomas gastrintestinais. Esses sintomas podem ser não característicos, entretanto, em alguns casos podem ser preocupantes o bastante por reduzir a qualidade de vida dos portadores do DM, apesar desses sintomas terem mecanismos fisiopatológicos complexos, envolvem inúmeros fatores e que ainda não são bem elucidados (ZHAO; LIAO; ZHAO, 2017).

1.2 HIPERCOLESTEROLEMIA

O excesso de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e diminuição de lipoproteína de alta densidade (HDL) é apontada como um importante fator de risco para aterosclerose e consequentes Doenças Cardiovasculares (DCV), número que vem aumentando em todo o mundo e está entre as principais causas de morte, chegando a 24,9% (GUEDES et al., 2016; MACEDO, FAERSTEIN, 2017).

Além do desequilíbrio do perfil lipêmico ocasionado pela má qualidade da alimentação suscitando a obesidade, também são citados como fatores de risco diabetes, tabagismo e sedentarismo (GUEDES et al., 2016; MATOS et al., 2016), tais fatores estão intimamente ligados com o desenvolvimento de DCV.

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica (CHRYSOCHOU et al., 2009) causada por lesões com placas de ateroma nas artérias musculares e elásticas de médio e grande calibre. A placa se estabelece pelo acúmulo do colesterol e a propagação de células musculares lisas, que em conjunto com leucócitos e tecidos conectivos, afetam as margens de intenso fluxo sanguíneo, causando morte tecidual, o que desencadeia imensas complicações cardiovasculares aos portadores (MATOS et al., 2016; MILLER, 1994). Matos et al. (2016), descrevem como consequências graves: infarto do miocárdio, infarto cerebral, aneurisma aórtico e gangrena dos membros inferiores.

Além disso, as DCV também são descritas como problema social, uma vez que há uma elevada taxa de mortalidade por suas complicações, número de internações, custos e benefícios sociais destinados a esses pacientes (MARTINEZ, 2006).

1.3 TABAGISMO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de um terço da população mundial é fumante e está diretamente relacionada aos 5,4 milhões de mortes anuais. O tabagismo reduz as

chances de sobrevivência em torno de 10 anos na vida de fumantes, cada ano corresponde a menor três meses de vida (DANTAS et al., 2015).

Doenças cardiovasculares associada a aterosclerose é descrita como uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo, sendo que, aproximadamente 10% pode ser causado pelo consumo elevado de cigarro, esses efeitos também podem ser sentidos por indivíduos que não são fumantes, mas que estão expostos ao fator de risco (CSORDAS; BERNHARD, 2013).

A fumaça produzida pelo cigarro é constituída por cerca de mais de quatro mil compostos, como: espécies reativas de oxigênio (EROS), espécies reativas de nitrogênio, monóxido de carbono, óxido nítrico, hidrocarbonetos e nicotina, além de metais e oxidantes (CSORDAS; BERNHARD, 2013).

2 O INTESTINO E O SISTEMA NERVOSO ENTÉRICO

O intestino delgado consiste em duodeno, jejuno e íleo, entre o duodeno e jejuno há uma estrutura que os liga, denominada de ligamento de Treitz, porém não há demarcação anatômica entre o jejuno e o íleo. O intestino grosso é composto pelo ceco, cólon ascendente, cólon transversal, cólon descendente e cólon sigmoide. Ambas estruturas possuem formato tubular (ZHAO; LIAO; ZHAO, 2017).

O tubo digestório para realizar suas funções possui a inervação extrínseca formada pelos nervos simpáticos e parassimpáticos e a inervação intrínseca constituída pelo SNE, o qual foi classificado por Langley (1921) como o terceiro componente do sistema nervoso autônomo. Segundo Furness (2006), o referido conceito é reforçado pelo fato do SNE exercer muitas das suas funções sem a interferência ou participação da inervação extrínseca.

Quanto à origem embrionária do SNE, estudos em vertebrados permitiram estabelecer que os precursores neurais e da glia entéricos são oriundos da crista neural (GERSHON; CHALAZONITIS; ROTHMAN, 1993) formadas pelas células neuroectodérmicas multipotentes (COSTA; BROOKES, 1994; FURNESS; BORNSTEIN, 1995). O SNE é uma inervação intrínseca e se estende desde o canal do esôfago até o esfíncter anal (FURNESS; COSTA, 1987). É agrupado em dois principais plexos: mientérico também chamado de Auerbach e submucoso, denominado Meissner, que são responsáveis pelo controle das funções digestivas como a motilidade e secreção (FURNESS; COSTA, 1987; SILVA et al, 2015). A estrutura do SNE é composta por uma grande quantidade de tecido neural organizados em plexos localizado na parede intestinal. Nesse sistema encontram-se as células gliais que dão suporte e células nervosas, formando um aglomerado. O SNE independe dos comandos do cérebro e da medula espinhal, isso se dá por sinais entre o SNE e o Sistema Nervoso Central (SNC) (FURNESS; COSTA, 1987).

O TGI possui neurônios sensoriais, interneurônios e neurônios motores excitatórios e inibitórios em todas as camadas musculares a fim de controlar o peristaltismo e secreção, além da assimilação a dor, e são independentes ao controle extrínseco (URANGA-OCIO et al, 2015; ZHAO; LIAO; ZHAO, 2017).

Como o exposto, o SNE desempenha inúmeras funções complexas e de grande importância para o funcionamento correto do TGI, porém, é bastante sensível e vulnerável a lesões, tais lesões levam a alterações das funções do TGI (FERREIRA; BELÉM; ODA, 2015).

3 POPULAÇÃO NEURONAL DO PLEXO MIOENTÉRICO

O plexo mioentérico, localizado entre os estratos circular e longitudinal da túnica muscular, está distribuído desde o esôfago até o canal anal com a maioria dos neurônios agrupada em gânglios (GABELLA, 1979; IRWIN, 1931; STERNINI, 1988).

A organização e a densidade dos neurônios na túnica muscular podem, contudo, variar de acordo com a espécie animal, com a circunferência e o segmento do tubo intestinal considerado (GABELLA, 1971; MARI et al., 2007; MARI et al., 2011; MATSUO, 1934; MELLO; MIRANDA-NETO; NATALI, 1996; MIRANDA-NETO et al., 1997; MOLINARI et al., 1994; STABILLE et al. 1999; STABILLE et al., 1998).

Os neurônios mioentéricos, organizados predominantemente em gânglios, recebem sua nutrição por difusão dos vasos sanguíneos encontrados no tecido conjuntivo que o circunda (GABELLA, 1987). Segundo Furness (2006), não há uma barreira sangue/neurônios efetiva, ou seja, medicamentos ou outras drogas podem afetar o SNE.

Nos neurônios do plexo mioentérico muitos neurotransmissores já foram identificados, como a acetilcolina (ACh), o óxido nítrico (NO), a noradrenalina (NA), peptídeo vasoativo intestinal (VIP), serotonina ou 5-Hidroxitriptamina (5-HT), as trancinas (TK) entre elas a substância P, o ácido gama-aminobutírico (GABA), a somatostatina (SOM), a calretinina e a calbindina, entre outros (FURNESS, 2006).

Entre os neurônios entéricos, em termos funcionais, Furness (2006) relata a presença de neurônios motores e interneurônios, e os respectivos códigos químicos apresentados por estas células.

De acordo com Furness (2006), os neurônios motores intrínsecos são: a) neurônios motores excitatórios e inibitórios; b) neurônios vasomotores; c) neurônios secretomotores; e d) neurônios que inervam as células enteroendócrinas.

Entre os interneurônios, Furness (2006) considera: a) neurônios colinérgicos que se projetam no sentido oral e que estão envolvidos com o reflexo propulsivo do intestino; b) neurônios que se

projetam no sentido anal, envolvidos com a motilidade reflexa local, com os complexos mioelétricos e com os reflexos secretomotores.

A ACh é o principal neurotransmissor excitatório da musculatura lisa do tubo digestório atuando através dos receptores muscarínicos M2 e tendo como co-transmissor a substância P (TAKEUCHI et al., 2005; FURNESS, 2006).

O neurotransmissor que atua como mediador não-adrenérgico não-colinérgico (NANC) presente no tubo digestório é o NO, cuja ação regula a atividade neural motora colinérgica e promove o relaxamento do músculo liso gastrointestinal (BROOKES, 1993).

O NO é um neurotransmissor de características muito próprias, porque não é armazenado, mas é produzido quando a demanda da enzima óxido nítrico sintase (NOS) é ativada (FURNESS, 2006).

Os neurônios mioentéricos podem ser evidenciados por inúmeros métodos que incluem desde as técnicas de coloração baseadas na afinidade de corantes químicos pelas estruturas celulares, até técnicas histoquímicas e imunohistoquímicas. Algumas técnicas permitem evidenciar a população total de neurônios e outras são específicas para subpopulações.

Entre os métodos disponíveis para avaliar a população neuronal mioentérica total, a técnica de coloração de Giemsa que utiliza o corante azul de metileno em preparados de membrana dos segmentos do tubo digestório (BARBOSA, 1978) tem sido utilizada. Esta técnica de coloração se baseia na afinidade do corante por estruturas ácidas das células nervosas, permitindo evidenciar todos os neurônios (BUTTOW; MIRANDA NETO; BAZOTTE, 1997; CORREA et al., 2011; FURLAN; MOLINARI; MIRANDA-NETO, 2002; HERNANDES et al., 2000; NANNI, 2010; NATALI et al., 2005; PEREIRA, 2006; ROMANO; MIRANDA-NETO; CARDOSO, 1996; SANT'ANA et al., 1997a).

A subpopulação de neurônios que expressam NO (neurônios nitrérgicos) pode ser identificada por meio da imunohistoquímica para a NOS ou pela histoquímica da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato diaforase (NADPH-diaforase) (SCHERER-SINGLER et al., 1983).

De acordo com Scherer-Singler et al. (1983), a utilização da histoquímica da NADPH-diaforase evidencia neurônios com atividade da enzima NOS, permitindo visualizar aproximadamente 50% dos neurônios evidenciados pela histoquímica da NADH-diaforase (SANTER, 1994). A NOS é imprescindível para a síntese do NO produzido quando a L-arginina é reduzida para L-citrulina numa reação dependente de cálcio, calmodulina e NADPH-diaforase (OLSSON; HOLMGREN, 2001; WADE, 2002).

A distribuição de neurônios evidenciados pela NADPH-diaforase e pela imunohistoquímica da NOS é idêntica (BELAI et al., 1992; SAFFREY, 2004; SANTER, 1994).

Os neurônios nitrérgicos possuem função inibitória no controle da motilidade gastrointestinal (JARVINEN et al., 1999) e são mais resistentes às condições que determinam morte celular por apresentarem possível efeito defensivo antioxidante (BOLAÑOS et al., 1997). Calcula-se que existam, aproximadamente, 34% de neurônios NADPH-diaforase positivos entre a população total de neurônios mioentéricos (WESTER; O'BRIAIN; PURI, 1999).

Segundo Phillips, Kieffer e Powley (2003), a população nitrérgica mais a população colinérgica perfazem 98% da população total de neurônios mioentéricos. Assim, considerando-se a população total de neurônios menos os neurônios nitrérgicos evidenciados pela histoquímica da NADPH-diaforase, se obtêm a quantidade de neurônios NADPH-diaforase negativos estimando, desta forma, o número de neurônios colinérgicos presentes na população mioentérica (HERMES-ULIANA et al., 2011; PHILLIPS; KIEFFER; POWLEY, 2003; PHILLIPS; POWLEY, 2007; SANT'ANA et al., 2012; SILVA-PORTO et al., 2012).

Ressalta-se, contudo, que alguns neurônios nitrérgicos também são colinérgicos (QU et al., 2008).

A densidade dos neurônios do plexo mioentérico varia ao longo do comprimento e da circunferência intestinal (MIRANDA-NETO et al., 2001).

Alterações nos neurônios do plexo mioentérico são evidenciadas em diferentes condições experimentais como diabetes (ALVES et al., 2006; CHANDRASEKHARAN; PEREIRA et al., 2008; SHOTTON; ADAMS; LINCOLN, 2007; SILVERIO et al., 2009; SRINIVASAN, 2007; ZANONI et al., 2005); envelhecimento (BRITTO MARI et al., 2008; GAGLIARDO et al., 2008; JOHNSON et al., 1998; SANTER, 1994); na desnutrição e restrições proteica ou calórica (COWEN et al., 2000; MOREIRA et al., 2008; NATALI; MIRANDA-NETO; ORSI, 2005; SANT'ANA et al., 2012; SILVA-PORTO et al., 2012); desnutrição ao longo do envelhecimento (ARAÚJO et al., 2006; COWEN et al., 2000; SCHOFFEN et al., 2005); toxoplasmose (HERMES-ULIANA, et al. 2011; SUGAUUARA et al., 2008, 2009); enterites e colites (BOYER et al. 2005, 2007; LOMAX et al., 2006); ingestão do herbicida 2,4-D (CORREA et al., 2011; NANNI, 2010), entre outras condições.

Tais alterações revelam manutenção, hiper ou hipoplasia da população ou subpopulações neuronais, acompanhadas ou não de hipertrofia ou atrofia do corpo celular dos neurônios, dependendo, sobretudo, do tipo e da severidade da condição imposta e do segmento do tubo digestório analisado.

Assim, as alterações neuronais não acometem toda a população de neurônios simultaneamente e nem do mesmo modo. Alguns tipos neuronais são mais ou menos suscetíveis às condições impostas do que outros. Neurônios colinérgicos, por exemplo, são mais suscetíveis aos efeitos deletérios decorrentes do envelhecimento (PHILLIPS; KIEFFER; POWLEY, 2003), enquanto os neurônios nitrérgicos são mais resistentes não só aos efeitos do envelhecimento, como também aos efeitos do

diabetes (BELAI; COOPER; BURNSTOCK, 1995; COWEN et al., 2000; GAGLIARDO et al., 2008; MIRANDA-NETO et al., 2001; PHILLIPS; KIEFFER; POWLEY, 2003; SILVA-PORTO et al., 2012; ZANONI et al., 2003).

4 BACCHARIS TRIMERA – CARQUEJA

As plantas medicinais são definidas Organização Mundial de Saúde como substâncias precursoras de fármacos sintéticos e que possuem ação no organismo para fins terapêuticos, já os fitoterápicos são definidos como o uso de matérias-primas vegetais que produzem benefícios para o usuário, seja de forma profilática ou curativa, sua eficácia é conhecida bem como os riscos também, comercializado em produtos embalados e que pode conter outras substâncias permitidas pela legislação (VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

As plantas medicinais, bem como a fitoterapia, são utilizadas a anos como recurso terapêutico, devida sua facilidade para obtenção, principalmente quando há dificuldades na distribuição de medicamentos pela atenção básica, isso ocorre, pois, grande parte da população tem acesso a medicamentos, elevando o número de pessoas que optam por plantas medicinais como agentes terapêuticos (OLIVEIRA et al., 2015).

O uso das plantas medicinais como recurso terapêutico é transmitida de forma empírica, mas, de certa forma, esse conhecimento vem sendo minimizado pelas novas gerações, faz-se necessário a recuperação desse conhecimento a fim de proporcionar melhores alternativas, contribuindo para a ciência contemporânea (OLIVEIRA et al., 2015).

Através da investigação experimental é possível verificar como os princípios ativos atuam no organismo e quais os resultados, efeitos adversos e toxicidade. A Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde – RENISUS, é um sistema que possibilita o uso das variedades de plantas medicinais no Brasil a fim de proporcionar a herança cultural, tratamento, cura e até evitar o surgimento de outras comorbidades (MUNIZ, 2013).

No Brasil, plantas nativas são utilizadas, muitas vezes, sem comprovação científica, pela automedicação, sem prescrição e orientação adequada, para isso, é importante levar em conta a toxicidade das plantas medicinais. Além da toxicidade, as plantas medicinais também podem apresentar atividade de sinergismo – interferindo na absorção de medicamentos (VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

A *Baccharis trimera*, pertence à família Asteraceae e é conhecida popularmente como Carqueja, possui compostos como terpenos, carquejol, derivados de clerodane, saponinas e glicosídeos. É proveniente da região sul do Brasil, utilizada para o tratamento de diabetes, reumatismo, disfunções estomacais e intestinais e possui potente efeito hepatoprotetor (BORGES et al., 2007).

A carqueja possui ação hipoglicemiante e hipotriglicemiante, além de seu uso na medicina popular para o diabetes, anemia, diarreia, inflamações urinárias, verminoses, e é apontada pela sua ação antioxidante e importante fator para redução da peroxidação lipídica, disfunção endotelial e oxidação do colesterol, o que pode conter o desenvolvimento de aterosclerose (VERDI et al., 2005; PAUL, 2005), ademais, a carqueja também possui atividade hipolipemiante, reduzindo a produção de gordura pelo fígado, pelo aumento de glicose que leva a hiperglicemia.

A hiperglicemia é uma circunstância que acarreta grande dano endotelial sendo uma condição importante para o desenvolvimento da obesidade, uma vez que todo o excesso de glicose é transformado pelos hepatócitos em gordura e são armazenadas pelos adipócitos, condição que pode levar a formação de trombos e futuramente aterosclerose (COELHO et al., 2004; GUYTON, 2002).

4.1 OS EFEITOS DA CARQUEJA SOBRE OS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS

De forma a investigar possíveis influências na quantificação dos neurônios da população total e subpopulação inibitória do plexo mioentérico, presentes no jejuno, além dos níveis de colesterol e triglicerídeos, e perfil glicêmico, foi realizada uma pesquisa com de 25 ratos machos, da linhagem Wistar, expostos a fatores de risco como dieta hipercolesterolêmica, associado a indução experimental do diabetes mellitus e ao tabagismo, tratados com diferentes frações (30, 100 e 300mg/kg) do extrato de *Baccharis trimera*.

O estudo seguiu todos os preceitos éticos aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), tendo sido respeitadas todas as normativas e recomendações do CONCEA, a fim de proporcionar o bem-estar dos animais envolvidos na pesquisa.

O experimento foi conduzido durante quatro semanas, sendo, ao final, observada uma redução de peso nos animais do grupo controle positivo, o qual passou pela exposição aos fatores de risco para doenças cardiovasculares (DM, dislipidemia e tabagismo), no entanto, não recebeu a carqueja, e também, nos grupos que continham animais expostos aos fatores e tratados com as diferentes frações de carqueja.

Tal fato pode estar relacionado à elevação do estresse oxidativo causado pelo DM, resultado de uma progressiva disfunção celular que resulta na perda de peso, e devido ao estresse oxidativo, o uso de compostos antioxidantes são apontados como alternativa ao tratamento, no entanto, no presente estudo, a carqueja não interferiu na manutenção de peso e também no nível da glicemia dos animais. Nas doses de 30 e 100mg/kg a *B. trimera* reduziu valores do perfil lipídico quando comparado ao grupo controle positivo, atribuindo a atividade hipolipemiante.

Com relação aos neurônios mioentéricos, foi realizada a técnica de Giemsa (BARBOSA, 1978), que cora a população total de neurônios, e teve como resultado uma redução significativa nos grupos

de controle positivo e tratados com a fração do extrato de carqueja, quando comparados ao grupo controle negativo, o basal, e isto pode ser decorrente da associação do estado diabético a mais dois fatores de risco, a hipercolesterolemia e o tabagismo, acelerando o processo de morte neuronal.

Pelo método da histoquímica da NADPH-diaforase, são evidenciados os neurônios que expressam óxido nítrico (ON) (neurônios nitrérgicos). No estudo realizado, a densidade de neurônios mioentéricos não apresentou diferenças significativas entre os grupos, o que pode ser atribuído a resistência dos neurônios nitrérgicos ao estresse oxidativo.

O ON possui um papel protetor sobre os neurônios do plexo mioentérico, sendo assim, os neurônios que utilizam o ON, constantemente adquirem uma melhora no seu mecanismo de defesa contra os radicais livres (COWEN et al., 2000, BELAI et al., 1995; PHILLIPS et al., 2003), que são gerados no diabetes e tabagismo.

As alterações provocadas por determinadas doenças, não afetam a população neuronal de forma simultânea, uma vez que alguns tipos de neurônios são mais resistentes as condições experimentais impostas do que outros, como por exemplo, os neurônios colinérgicos, que são mais suscetíveis aos efeitos deletérios decorrentes do envelhecimento (GAGLIARDO et al., 2008).

Os neurônios nitrérgicos, são mais resistentes aos efeitos do envelhecimento e o diabetes (PHILLIPS et al., 2003; BELAI et al., 1995; COWEN et al., 2000; GAGLIARDO et al., 2008; MIRANDA-NETO et al., 2001; SILVA-PORTO et al., 2012; ZANONI et al., 2003).

Nas condições em que o estudo foi conduzido, verificou-se que os ratos não apresentaram redução da glicemia após serem tratados com a fração do extrato de carqueja, mas com relação ao perfil lipídico, houve resultado significativo com a dose de 30mg/kg. A carqueja, nas diferentes doses utilizadas, não apresentou efeitos protetores sobre os neurônios do plexo mioentérico, houve redução significativa na população total de neurônios (Giemsa+) dos grupos controle positivo e tratados em relação ao controle negativo, também não sendo encontradas alterações quantitativas significativas na população nitrérgica (NADPH-d+).

REFERÊNCIAS

- Alves, a. M.; alves, e. P.; fregonesi, c. E.; defani, m. A.; stable, s. R.; evangelista, c. C.; dos santos, c. A.; miranda neto, m. H. Morphoquantitative aspects of nadh-diaphorase myenteric neurons in the ileum of diabetic rats treated with acetyl-l-carnitine. *Anatomia, histologia, embryologia.*, v. 35, n. 1, p. 13-18, 2006.
- Araújo, a. E. J.; sant'ana, d. M. G.; molinari, s. L.; miranda-neto m. H. Quantitative study of the myenteric plexus of the descending colon of young rats subjected to intense protein deficiency. *International journal of morphology*, v. 24, n. 4, p. 591-597, 2006.
- Barbosa, a. J. A. Técnica histológica para gânglios nervosos intramurais em preparados espessos. *Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas*, v. 11, p. 95-97, 1978.
- Belai, a., cooper, s., burnstock, g. Effect of age on nadph-diaforase-containing myenteric neurons of rat ileum and proximal colon. *Cell and tissue research*, v. 279, p. 379-383, 1995.
- Belai, a., schmidt, h.h.h.w., hoyle, c.h.v., hassall, c.j.s., saffrey, m.j., moss, j., förstmann, u., murad, f., burnstock, g., colocalization of nitric oxide synthase and nadph-diaforase in the myenteric plexus of the rat gut. *Neuroscience letters*, v. 143, p. 60-64, 1992.
- Bolaños, j. P.; almeida, a.; stewart, v.; peuchens, s.; land, j. M.; clark, j. B.; heales, s. J. Nitric oxide-mediated mitochondrial damage in the brain: mechanisms and implications for neurodegenerative diseases. *Journal of neurochemistry*. V. 68, p. 2227-2240, 1997.
- Boyer, l.; ghoreishi, m.; templeman, v.; vallance, b. A.; buchannan, a. M.; jevon, g.; jacobson, k. Myenteric plexus injury and apoptosis in experimental colitis. *Autonomic neuroscience*, v. 117, p. 41-53, 2005.
- Britto mari, r.; clebis, n. K.; gagliardo, k.; guimarães, j. P.; stable, s. R.; germano, r. M.; de souza, r. R. Effects of exercise on the morphology on the myenteric neurons of the duodenum of wistar rats during the ageing process. *Anatomia histologia embryologia*, v. 37, p. 289-295, 2008.
- Brookes, s. Neuronal nitric oxide in the gut. *Journal of gastroenterology and hepatology*, v. 8, n. 6, p. 590-603, 1993.
- Buttow, n. C.; miranda neto, m. H.; bazotte, r. B. Morphological and quantitative study of myenteric plexus of the duodenum of streptozotocin-induced diabetic rats. *Arquivos de gastroenterologia*, v. 34, p. 34-42, 1997.
- Chandrasekharam, b.; srinivasan, s. Diabetes and enteric nervous system. *Neurogastroenterology and motility*, v. 19, p. 6-18, 2007.
- Chrysochou, c.; kalra, p. A. Epidemiology and natural history oftherosclerotic renovascular disease. *Progress in cardiovascular diseases*, v. 52, n. 3, p. 184-195, 2009.
- Clebis, n. K.; zanoni, j. N.; stable, s. R.; lisboa, m. J. S.; oliveira, m. F. P.; luci, s.; miranda neto, m. M. H.; gagliardo, k. M.; souza, r. R. De. Effects of ascorbic acid supplementation on myenteric neurons in the stomach of diabetic rats. *Arquivos de ciências da saúde da unipar*, v. 17, n. 3, p. 175-181, 2013.

Coelho, m. G. P.; reis, a.; gava, v. B.; marques, p. R.; gayer, g. A. T.; laranja, l.; sabino, k. C. C. Anti-arthritic effect and subacute toxicological evaluation of baccharis genistelloides aqueous extract. Toxicology letters, v. 154, n. 1-2, p. 69-80, 2004.

Correa, o. P.; mari, r. B.; toledo, e. L.; guimarães, j. P.; pereira, j. N. B.; germano, r. M.; faria, h. G.; souza, r. R.; stabile, s. R. Effects of the ingestion of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid on jejunal myenteric neurons in rats. Journal of morphological sciences, v. 28, n. 2, p. 104-112, 2011.

Costa, m.; brookes, s. J. H. The enteric nervous system. The american journal of gastroenterology, v. 89, n. 8, p. S129-37, 1994.

Cowen, t.; johnson, r. J. R.; soubeyre, v.; santer, r. M. Restricted diet rescue rat enteric motor neurons from age related cell death. Gut, v. 47, p. 653-660, 2000.

Csordas, a.; bernhard, d. The biology behind the atherothrombotic effects of cigarette smoke. Nature reviews cardiology, v. 10, n. 4, p. 219, 2013.

Dantas, d. R. G.; moura, d. M. De.; almeida p. De.; patrick, a. L. Tabagismo como fator de risco para desenvolvimento de doença cerebrovascular em hospital público de campina grande-pb, brasil. Revista saúde & ciência online, v. 4, n. 3, p. 21-30, 2015.

Ferreira, p. E. B.; oliveira b. M.; oda, j. Y. O efeito do uso de antioxidantes na prevenção e tratamento da neuropatia diabética no sistema nervoso entérico. Arquivos de ciências da saúde da unipar, v. 19, n. 2, 2015.

Flor, l. S.; campos, m. R. The prevalence of diabetes mellitus and its associated factors in the brazilian adult population: evidence from a population-based survey. Revista brasileira de epidemiologia, v. 20, n. 1, p. 16-29, 2017.

Furlan, m. M. D. P.; molinari, s. L.; miranda neto, m. H. Morphoquantitative effects of acute diabetes on the myenteric neurons of the proximal colon of adult rats. Arquivos de neuro-psiquiatria, são paulo, v. 60, p. 576-581, 2002.

Furness, j. B. The enteric nervous system. Massachusetts: blackwell publishing. 2006, 274p.

Furness, j. B.; bornstein, j. C. The enteric nervous system and its extrinsic connections. In: uamada, t. Ed. Textbook of gastroenterology. 2. Ed. Philadelphia: j. B. Lippincott. 1995, p. 2-24.

Furness, j. B.; costa, m. The enteric nervous system. Edinburgh etc.: churchill livingstone, 1987.

Gabella, g. Detection of nerve cells by histochemical technique. Experientia, v. 25, p. 218-219, 1969.

Gagliardo, k. M.; clebis, n. K.; stabile, s. R.; mari, r. B.; souza, j. M. A.; de souza, r. R. Exercise reduces inhibitory neuroactivity and protects myenteric neurons from age-related neurodegeneration. Autonomic neuroscience: basic & clinical, v. 141, p. 31-37, 2008.

Gershon, m. D.; chalazonitis, a.; rothman, t. P. From neural crest to bowel: development on the enteric nervous system. Journal of neurobiology, v. 24, n. 2, p. 199-214, 1993.

Guedes, r. F.; melo, t. E.; lima, a. P.; aguiar, a. L.; moreira, n. B. B.; garcia, p. G. Análise do perfil lipídico e dos fatores de risco associados a doenças cardiovasculares em acadêmicos da área da saúde. *Hu revista*, v. 42, n. 2, 2016.

Hermes-uliana, c.; pereira-severi, l. S.; luerdes, r. B.; franco, c. L. M.; silva, a. V.; arújo, e. J. A.; sant'ana, d. M. G. Chronic infection with toxoplasma gondii causes myenteric neuroplasticity of the jejunum in rats. *Autonomic neuroscience: basic and clinical*, v. 160, p. 3-8, 2011.

Hernandes, l.; bazotte, r. B.; gama, p.; miranda neto, m h. Streptozotocin-induced diabetes duration is important to determine changes in the number and basophilicity of myenteric neurons. *Arquivos de neuro-psiquiatria, são paulo*, v. 58, p. 1035-1039, 2000.

Jarvinen, m. K.; wollmann, w. J.; powrozek, t. A.; schultz, j. A.; powley, t. L. Nitric oxide syntase-containing neurons in the myenteric plexus of the rat gastrointestinal tract: distribution and regional density. *Anatomy and embryology*, v. 199, p. 99-112, 1999.

Johnson, r. J. R.; schemann m.; santer, r. M.; cowen, t. The effects of age on the overall population and on sub-populations of myenteric neurons in the rat small intestine. *Journal of anatomy*, v. 192, p. 479-88, 1998.

Kashyap, p.; farrugia, g. Oxidative stress: key player in gastrointestinal complications of diabetes. *Neurogastroenterology & motility*, v. 23, n. 2, p. 111-114, 2011.

Langley, j. *The autonomic nervous system, part i*. Cambridge: w. Heffer, 1921.

Lino-filho, a. M.; godoi, a. L. C. R.; martins, g.; alves, l. B. A.; damasceno, b. M.; santos, a. M. S. Diabetes mellitus tipo 2: controle glicêmico intensivo versus controle glicêmico convencional e o seu impacto nas alterações vasculares. *Revista educação em saúde*, v. 5, 2017.

Lomax, a. E.; linden, d. R.; mawe, g. M.; sharkey, k. A. Effects of gastrointestinal inflammation on enteroendocrine cells and enteric neural reflex circuits. *Autonomic neuroscience: basic and clinical*, v. 126, p. 250-257, 2006.

Macedo, l. E. T.; faerstein, e. Colesterol e a prevenção de eventos ateroscleróticos: limites de uma nova fronteira. *Revista de saúde pública*, v. 51, p. -, 2017.

Mari, r.b.; scoz, j. R.; germano, r. M.; pereira, j. N. B.; toledo, e. L.; faria, h. G.; stable, s. R. Quantification and morphometry of myenteric neurones in the jejunum of holtzman rats (*rattus norvegicus*). *Anatomia histologia embryologia*, v. 40. P. 256–262, 2011.

Martinez, t. L. R.; santos, r. D.; armaganijan, d.; torres, k. P.; loures-vale, a.; magalhães, m. E.; lima, j. C.; moriguchi, e.; amodeo, c.; ortiz, j. Campanha nacional de alerta sobre o colesterol elevado: determinação do nível de colesterol de 81.262 brasileiros. *Arquivo brasileiro de cardiologia*, v. 80, n. 6, p. 631-4, 2003.

Matos, l. S.; zafra, v. B.; elias, r. M.; nogueira, p. L. B.; silva, l. M. Gênese da aterosclerose em crianças e adolescentes: artigo de revisão. *Connection line*, n. 14, 2016.

Matsuo, h. A contribution of the anatomy auerbach's plexus. *Journal of medicine*, v. 4, p. 417-428, 1934.

Mello, e. V. S.; miranda-neto, m. H.; natali, m. R. M. Estudo da parede do colo proximal de ratos. *Unimar*, v. 18, n. 2, p. 369-386, 1996.

Miller, g. J. Lipoproteins and the haemostatic system in atherothrombotic disorders. *Best practice & research clinical haematology*, v. 12, n. 3, p. 555-575, 1999.

Miranda-neto, m. H.; molinari, s. L.; sant'anna, m. A. Neurons number in the myenteric plexus of the ascending colon of rats. A comparative study using two staining techniques. *Arquivos de neuropsiquiatria*, v. 55, n. 3, p. 460-465, 1997.

Miranda-neto, m. H.; molinari, s. L.; sant'anna, m. A. Neurons number in the myenteric plexus of the ascending colon of rats. A comparative study using two staining techniques. *Arquivos de neuropsiquiatria*, v. 55, n. 3, p. 460-465, 1997.

Molinari, s. L.; pereira, m. S.; de souza, r. R.; miranda-neto, m. H., estudo morfológico do plexo mioentérico do estômago glandular do pato (*anas* sp). *Unimar*, v. 16, n. 2, p. 419-426, 1994.

Moreira, n. M.; hermes, c.; almeida, c. S. L.; santana, e. C.; sant'ana, d. M. G.; araujo, e. J. A. Quantitative analysis of the neurons from the myenteric plexus in the ileum of rats submitted to severe proteic deficiency. *Arquivos de neuropsiquiatria, são paulo*, v. 26, n. 2a, p. 242-245, 2008.

Muniz, r. M. C. C.; cavalcante, a. L. C.; pereira, l. M. S.; sousa, f. C. F.; vasconcellos, s. M. M.; macedo, d. S.; viana, g. C. B.; fonteles, m. M. F. Plantas medicinais da renisus de atuação central. *Infarma-ciências farmacêuticas*, v. 24, n. 1/3, p. 75-80, 2013.

Natali, m. M. R.; miranda-neto, h. M.; orsi, m. A. Morphometry and quantification of the myenteric neurons of the duodenum of adult rats fed with hypoproteic chow. *International journal of morphology*, v. 21, n. 4, p. 273-277, 2003.

Natali, m. R. M.; molinari, s. L.; valentini, l. C.; miranda-neto, m. H. Morphoquantitative evaluation of the duodenal myenteric neuronal population in rats fed with hypoproteic ration. *Biocell*, v. 29, n. 1, p. 39-46, 2005.

Oliveira, l. S.; muzitano, m. F.; coutinho, m. A. S.; melo, g. O.; costa, s. S. Plantas medicinais como recurso terapêutico em comunidade do entorno da reserva biológica do tinguá, rj, brasil—metabólitos secundários e aspectos farmacológicos. *Inter science place*, v. 1, n. 17, 2015.

Olsson, catharina; holmgren, susanne. The control of gut motility. *Comparative biochemistry and physiology part a: molecular & integrative physiology*, v. 128, n. 3, p. 479-501, 2001.

Paul, e. L. Análise experimental da ação hepatoprotetora e antiinflamatória de *baccharis trimera* (less) dc asteraceae. Diss. (mestrado) – faculdade de medicina, programa de pós-graduação em ciências médicas, ufrgs, 2005.

Pereira, a. P. C. Efeitos da ingestão do ácido 2, 4-diclorofenoxiacético sobre neurônios mioentéricos do duodeno de ratos (*rattus norvegicus*). 2006. 84p. Dissertação (mestrado em anatomia dos animais domésticos e silvestres) faculdade de medicina veterinária e zootecnia, universidade de são paulo, são paulo, 2006.

Phillips, r. J.; kieffer, e. J.; powley, t l. Aging of the myenteric plexus: neuronal loss is specific to cholinergic neurons. *Autonomic neuroscience*, v. 106, p. 69–83, 2003.

Phillips, r. J.; powley, t. L. Innervation of the gastrointestinal tract: patterns of aging. *Autonomic neuroscience: basic and clinical*, v. 136, p. 1-19, 2007.

Qu, z.d.; thacker, m.; castelucci, p.; bagyánszki, m.; epstein, m.l.; furness, j.b. immunohistochemical analysis of neuron types in the mouse small intestine. *Cell and tissue research*, v. 334, p. 147–161, 2008.

Reis, j. S.; veloso, c. A.; mattos, r. T.; purish, s.; nogueira-machado, j. A. estresse oxidativo: revisão da sinalização metabólica no diabetes tipo 1. *Arquivo brasileiro de endocrinologia metabologia*, v. 52, n. 7, p. 1096-1105, 2008.

Romano, e. B.; miranda-neto, m. H.; cardoso, r. C. S. Preliminary investigation about the effects of streptozotocin-induced chronic diabetes on the nerve cell number and size of myenteric ganglia in rat colon. *Revista chilena de anatomia*, v. 14, p. 139-145, 1996.

Saffrey, m. J. Ageing of the enteric nervous system. *Mechanisms of ageing and development*, v.125, p.899-906, 2004.

Sant'ana, d. M. G.; miranda neto, m. H.; de souza, r. R.; molinari, s. L. Morphological and quantitative study of the myenteric plexus of the ascending colon of rats subjected to proteic desnutrition. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, v. 55, n. 3b, p. 687-695, 1997.

Santer, r. M. Survival of the population of nadph-diaphorase stained myenteric neurons in the small intestine of aged rats. *Journal of the autonomic nervous system*, v. 49, p. 115-121, 1994.

Scherer-singler, u.; vincent, s. R.; kimura, h.; mcgeer, e. G. Demonstration of unique population of neurons with nadph-diaphorase histochemistry. *Journal of neuroscience methods*, v. 9, n. 3, p. 229-234, 1983.

Schoffen, j. P. F.; soares, a.; freitas, p.; buttow, n. C.; natali, m. R. M. Effects of hypoproteic diet on myosin-v imunostained myenteric neurons and the proximal colon of aging rats. *Autonomic neuroscience: basic and clinical*, v. 83, p. 122-77, 2005.

Shotton, h. R.; adams, a.; lincoln, j. Effect of aminoguanididine treatment on diabetes-induced changes in myenteric plexus of rat ileum. *Autonomic neuroscience.*, v. 132, p. 16-26, 2007.

Silva, e. Da.; silva, m. F. Da.; toledo, m. M.; natali, a. J.; maldonado, i. R. S. C. Neuropatia entérica e diabetes. *Anais simpac*, v. 3, n. 1, 2015.

Silva-porto, g., pereira, j. N.b., tibúrcio, v.g., stable, s.r., faria, h.g., germano, r.m., mari, r.b. effect of caloric restriction on myenteric neuroplasticity in the rat duodenum during aging. *Autonomic neuroscience: basic & clinical*, v. 168, p. 43-47, 2012.

Silverio, s. M. Mari, r. B.; clebis, n. K.; scoz, j. R.; germano, r. M.; agreste, f.; bombonato, p. P.; stable, s. R. Assessment of nadph-diaphorase stained myenteric neurons of the jejunum of diabetic rats supplemented with ascorbic acid. *Pesquisa veterinária brasileira*, v. 28, n. 2, p. 95-102, 2008.

Silverio, s. M.; mari, r. B.; clebis, n. K.; scoz, j. R.; germano, r. M.; major, j. A. A.; bombonato, p. P.; stable, s. R. Effects of acorbic acid supplementation in ileum myenteric neurons streptozotocin-induced diabetic rats. *Pesquisa veterinária brasileira, rio de janeiro*, v. 29, n. 4, p. 295-302, 2009.

Stabile, s.r.; lima, m. A.; germano, r. M. Morphological and quantitative aspects of the myenteric plexus of the anterior intestinal segment of *cyprinus carpio* (linnaeus, 1758) osteichthyes, cyprinidae. *Acta scientiarum: biological sciences, maringá*, v. 20, n. 2, p. 217-220, 1998.

Stabile, s. R.; mizuno, m. S.; germano, r. M. Morphoquantitative characteristics of myenteric neurons of the terminal segment of the intestine of *cyprinus carpio* (linnaeus, 1758) osteichthyes, cyprinidae. *Brazilian journal of morphological sciences, são paulo*, v. 16, n. 1, p. 39-44, 1999.

Takeuchi, t.; fujinami, k.; goto, h.; fujita, a.; taketo, m.; manabe, t.; matsui, m.; hata, f. Roles of m2 and m4 muscarinic receptors in regulating acetylcholine release from myenteric neurons of mouse ileum. *Journal of physiology*, v.93, n.5, p. 2841-2848, 2005.

Uranga-ocio, j. A.; bastús, s.; delkáder-palacios, d.; garcía-cristóbal, n.; leal-garcía, m. A.; abalo-delgado, r. Enteric neuropathy associated to diabetes mellitus. *Revista espanhola de enfermidades digestivas*, v. 107, n. 6, p. 366-373, 2015.

Veiga-junior, v. F.; pinto, a. C.; maciel, m. A. M. Plantas medicinais: cura segura. *Química nova*, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

Verdi, l. G.; brighente, i. M. C.; pizzolatti, m. G. Gênero baccharis (asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química nova*, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

Wade, p. R. Aging and neural control of the gi tract. I age-related changes in the enteric nervous system. *American journal of physiology-gastrointestinal and liver physiology*, v. 283, p. 489-495, 2002.

Wester, t.; o'briain, d.; puri, p. Notable postnatal alterations in the myenteric plexus of normal human bowel. *Gut*, v. 44, n. 5, p. 666-674, 1999.

Zanoni, j. N.; de freitas, p. Pereira, r. V. F.; dos santos pereira, m. A.; miranda neto, m. H. Effects of supplementation with ascorbic acid for a period of 120 days on the myosin-v and nadph-d positive myenteric neurons of the ileum of rats. *Anatomia, histologia, embryologia*, v. 34, p. 149-53, 2005.