



## **EFEITOS DA *Caralluma fimbriata* EM NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DE RATOS: DADOS PRELIMINARES**

BOTH, Gláucio Luis<sup>1</sup>; REHBEIN, Samuel Tomás <sup>2</sup>; MARTINEZ-PEREIRA, Malcon Andrei<sup>3</sup>

**Palavras-Chave:** Neurônios mioentéricos. *Caralluma fimbriata*. Ratos.

### **INTRODUÇÃO**

Sobrepeso e obesidade constituem um grave problema de saúde pública, visto que indivíduos obesos apresentam risco elevado de desenvolver outras patologias que podem resultar em óbito (XAVIER *et al.* 2006). No entanto, Haller (2004) relata que a abordagem farmacológica no tratamento do excesso de peso é, ainda, muito precária, sendo que os fármacos disponíveis produzem efeitos adversos graves, limitando seu uso clínico. Deste modo, buscar novas alternativas farmacológicas se faz necessário e, nesse sentido, as plantas medicinais podem ser uma possível fonte de novos agentes no combate à obesidade.

Nas últimas décadas observa-se um crescimento na utilização de fitoterápicos pela população brasileira, do mesmo modo como ocorre mundialmente. Isto se deve aos avanços nas pesquisas sobre a eficácia e segurança destes compostos, associado à busca de tratamentos menos agressivos pela população no atendimento primário à saúde (ROSA; CÂMARA; BÉRIA; 2011; SANTOS *et al.*, 2011). Dentre as plantas bioativas, com possível atividade antiobesidade, está a *Carraluma fimbriata*, uma cactácea suculenta, pertencente à família das *Asclepiadaceas*, amplamente distribuída na África, Espanha, Arábia Saudita e Índia (MAHMOOD; MUHAMMAD; SHINWARI, 2010). No entanto, apesar de Kuriyan *et al.* (2007) e Kamalakkannan *et al.* (2010), afirmarem que a *C. fimbriata* possa exercer atividade antiobesidade, os estudos mostraram-se inconclusivos, fazendo com que os compostos a base desta planta fossem proibidos no Brasil (ANVISA, 2010). Por outro lado, outros estudos demonstraram que a *C. fimbriata* possui efeito antioxidante e hipolipidêmico (TATIYA *et al.*,

<sup>1</sup> Acadêmico Medicina Veterinária – Universidade de Cruz Alta (Unicruz). Bolsista PIBIC-UNICRUZ. E-mail: glaucioboth@hotmail.com

<sup>2</sup> Acadêmico Medicina veterinária – UNICRUZ. E-mail:

<sup>3</sup> Docente Curso Medicina Veterinária, Coordenador Projeto, CCSA, UNICRUZ, e-mail: malpereira@unicruz.edu.br



2010), antiinflamatório e antinociceptivo (AHMED *et al.*, 1993; RAMESH *et al.*, 1998; 1999; ZACARIA *et al.*, 2008) e na prevenção do diabetes (HABIBUDDIN *et al.*, 2001).

O funcionamento do trato gastrointestinal (TGI) é controlado extrinsecamente pelos sistemas nervosos: simpático e parassimpático, e intrinsecamente pelo sistema nervoso entérico (SNE), cujos principais componentes são os plexos mioentérico (PM) e submucoso (FURNESS, 2006). Disfunções na motilidade intestinal foram observadas em pacientes obesos, podendo ser relacionadas com alterações do código químico dos neurônios entéricos, como observado por Surendran e Kondapaka (2005), e Vázquez *et al.* (2010). Por exemplo, em estudos sobre os efeitos da obesidade sobre neurônios mioentéricos foi verificado aumento no número de neurônios imunorreativos marcados para o receptor P2X<sub>2</sub> em ratos obesos. No entanto, houve uma diminuição significativa no número de neurônios óxido nítrico sintase (NOS), colina-acetil-transferase e calretinina imunorreativos (MIZUNO *et al.*, 2012; 2014). A atividade da nicotinamida adenina dinucleotídeo revelou a perda da estrutura morfológica do PM em ratos obesos (VÁZQUEZ *et al.*, 2010). Ainda, Baudry *et al.* (2012) observou que a dieta pode exercer um efeito neuroprotetor e plástico nos neurônios entéricos que resultam em alterações da motilidade do TGI.

Assim, considerando a escassez de dados sobre os efeitos no combate da obesidade promovidos pelo extrato de *Caralluma fimbriata*, foram investigadas as possíveis alterações morfológicas e neuroquímicas no plexo mioentérico (PM) do intestino delgado de ratos em um modelo de indução de obesidade.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 20 ratos Wistar, machos, 30 dias de idade, pesando entre 100-130g no início do experimento, fornecidos pelo Biotério da UNICRUZ, divididos em quatro grupos: dieta padrão do biotério (controle, n=5), dieta padrão+extrato de *C. fimbriata* (n=5), dieta hiperlipídica+solução salina (n=5) e dieta hiperlipídica+extrato de *C. fimbriata* (n=5). O protocolo de indução de obesidade seguiu o descrito por Silva (2011) e Beck (2012). Os segmentos do duodeno e jejuno foram submetidos às técnicas de detecção da atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE, KARNOVSKY e ROOTS, 1964) e diaforase da enzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPHd, WEINBERG *et al.*, 1996). Depois de incubados foram confeccionados preparados de membrana da túnica muscular que foram observados em microscópio óptico. Para a descrição do formato e mensuração da área de superfície ganglionar as imagens foram obtidas em objetiva de 10 x e as áreas ganglionares mensuradas por meio do *software Image J*. Para a contagem neuronal as imagens foram



capturadas em magnificação de 20 x e analisadas utilizando o mesmo programa. Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais desta Universidade (protocolo 003/2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O PM nos ratos apresenta um padrão ganglionar bem organizado, formado por gânglios que seguem o sentido dos feixes de fibras da camada muscular longitudinal e estão conectados por ramos calibrosos, de forma que constituem uma extensa rede gangliônica.

Até o momento foi possível observar que não houve diferença no número de neurônios AChE-positivos entre os animais tratados com as dietas padrão+ *C. fimbriata* e hiperlipídica+salina, apesar de Mizuno *et al.* (2012; 2014) indicar que a obesidade induz perda neuronal. No entanto, aqueles tratados com dieta hiperlipídica associada a extrato de *C. fimbriata* apresentaram um número significativamente maior de neurônios AChE-positivos.

Os dados obtidos, até o presente, revelaram que não houve diferença entre os grupos experimentais, quanto ao número de neurônios NADPHd-positivos. Conforme Hope *et al.* (1991), a NADPHd presente no sistema nervoso é considerada a enzima NOS, e a histoquímica da NADPH tem sido utilizada, portanto, como um marcador histoquímico específico para neurônios que produzem NO. Diversos autores, dentre eles Aimi *et al.* (1993) demonstraram o NO é o principal neurotransmissor inibitório não-adrenérgico e não-colinérgico do TGI. O NO liberado no plexo entérico é sintetizado pela ativação de nNOS e esta enzima está bem demonstrada no PM.

## CONCLUSÕES

Os dados ora apresentados podem ser um indicativo de que o efeito do extrato de *C. fimbriata* produza maior excitação nos neurônios mioentéricos AChE-positivos, aumentando a motilidade intestinal e diminuindo a absorção de gorduras. Ainda, reforçando esta hipótese tem-se a manutenção do número de neurônios NADPHd-positivo em todos os grupos. Contudo, esta observação, neste momento, é extremamente especulativa, sendo necessária a análise total dos dados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED MM, *et al.* Anti-inflammatory of *Caralluma tuberculata* alcoholic extract. Fitoterapia 1993;114:357-360.



AIMI Y, *et al.* Histochemical localization of nitric oxide synthase in rat enteric nervous system, *Neuroscience* 53:553–560, 1993.

BAUDRY C, *et al.* Diet-induced obesity has neuroprotective effects in murine gastric enteric nervous system: involvement of leptin and glial cell line-derived neurotrophic factor. *J Physiol* n590, v3, pp 533–544, 2012.

BECK, V. R. Avaliação da atividade antinociceptiva e antiedematogênica da *Caralluma fimbriata* em ratos. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade de Cruz Alta. 2012.

HABIBUDDIN M, *et al.* Antidiabetic effect of alcoholic extract of *Caralluma sinaica* L. on streptozotocin-induced diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol* 2008;117:215–220.

HOPE BT, *et al.* Neuronal nadph diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.s.a. proc. Nati. Acad. Sci. Usa. Neurobiology.* 1991;88:2811-2814.

KAMALAKKANNAN S, *et al.* Antiobesogenic and Antiatherosclerotic Properties of *Caralluma fimbriata* Extract. **J Nutr Metab** 1-6. 2010

KARNOVSKY MJ, Roots L. A “direct-coloring” method for cholinesterase. *J. Histochem. Cytochem.* 1964;12: 219-221.

KURIYAN R, *et al.* Effect of *Caralluma Fimbriata* extract on appetite, food intake and anthropometry in adult Indian men and women. **Appetite** 2007;48 338–344.

MIZUNO MS, Velloso LA, Castelucci P. Efeito da obesidade sobre o receptor P2X2 e o código químico nos neurônios mioentéricos de camundongos machos e fêmeas (*ob/ob*).

RAMESH M, *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory activity of a flavonoid isolated from *Caralluma attenuata*. *J Ethnopharmacol* 1998;62:63–66.

RAMESH M, *et al.* Prabhakar MC, Reddy BM. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of carumbelloside-I isolated from *Caralluma umbellata*. *J Ethnopharmacol* 1999;68:349–352.

ROSA, C.; CÂMARA, S.G. BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, n 16,v 1, p. 311-318, 2011.

SANTOS, R.L.; GUIMARAES, G.P.; NOBRE, M.S.C.; PORTELA, A.S. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.4, p.486-491, 2011.

SILVA, B. A. Avaliação da atividade da *Caralluma fimbriata* sobre o perfil lipídico e glicêmico de ratos. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade de Cruz Alta. 2011.



SURENDRAN S, KONDAPAKA SB. Altered expression of neuronal nitric oxide synthase in the duodenum longitudinal muscle–myenteric plexus of obesity induced diabetes mouse: Implications on enteric neurodegeneration. *Biochem and Biophys Res Commun* 338 (2): 919–922, 2005.

TATIYA AU, *et al.* Antioxidant and hypolipidemic effect of *Caralluma adscendens* Roxb in alloxanized diabetic rats. *Int Journal Pharmacol* 6:400-406, 2010.

VÁZQUEZ SM, *et al.* Auerbach plexus structure with NADH histochemistry in a line of obese rats: effects of dietary restriction. *Acta Gastroenterol Latinoam.* 40(3):251-257, 2010.

WEINBERG RJ, Valtschanoff JG, Schimidt HHHW. The NADPH diaphorase histochemical stain. In: Feelisch M, Stamler JS. *Methods in Nitric Oxide Research.* John Willey & Sons Ltd. 1996, cap. 16, p. 237-248.

ZACARIA MNM, *et al.* Anti-nociceptive and anti-inflammatory properties of *Caralluma arabica*. *J Ethnopharmacol* 2001;76:155–158.