



Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP

Escola de Farmácia – EFAR



HULLY MOREIRA LOBO DE OLIVEIRA

Avaliação da histopatologia do íleo de animais submetidos a dieta com sobrecarga de sódio e tratados por administração oral com formulação a base de *Psidium guajava* L.

Trabalho de conclusão de curso

Ouro Preto - MG
2022

HULLY MOREIRA LOBO DE OLIVEIRA

Avaliação da histopatologia do íleo de animais submetidos a dieta com sobrecarga de sódio e tratados por administração oral com formulação a base de *Psidium guajava L.*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof. Dr. Samantha Ribeiro Bela

Co-orientadora: Me. Daiane Cristina de Assis Braga

Ouro Preto, Minas Gerais
2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

- O48a Oliveira, Hully Moreira Lobo de.
Avaliação da histopatologia do íleo de animais submetidos a dieta com sobrecarga de sódio e tratados por administração oral com formulação a base de *Psidium guajava* L.. [manuscrito] / Hully Moreira Lobo de Oliveira. . - 2022.
40 f.: il.: color., gráf..
- Orientadora: Profa. Dra. Samantha Ribeiro Bela.
Coorientadora: Ma. Daiane Cristina De Assis Braga.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .
1. Inflamação. 2. Intestinos. 3. Doenças do íleo. 4. Agentes anti-inflamatórios. 5. Sódio. I. , . II. Bela, Samantha Ribeiro. III. Braga, Daiane Cristina De Assis. IV. Universidade Federal de Ouro Preto. V. Título.

CDU 616-091.8

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP

Escola de Farmácia

ATA DA SESSÃO DE DEFESA DA 534ª MONOGRAFIA DO CURSO DE FARMÁCIA DA ESCOLA DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO. Aos 12 dias do mês de janeiro de 2022, quarta-feira, realizou-se a partir das 09 horas e 30 minutos, por videoconferência, a sessão de defesa de monografia do candidato ao grau de Farmacêutico Generalista, **Hully Moreira Lobo de Oliveira, matrícula 15.2.2014**, intitulada “**Avaliação da histopatologia do íleo de animais submetidos a dieta com sobrecarga de sódio e tratados por administração oral com formulação a base de *Psidium guajava L***”. A banca examinadora foi constituída pela Doutoranda Flávia de Souza Marques (UFOP), pelo Doutorando Marcos Adriano Carlos Batista (UFOP), pela coorientadora Doutoranda Daiane Cristina de Assis Braga (UFOP) e pela orientadora Profa. Dra. Samantha Ribeiro Béla (DECBI/UFOP). De acordo com o regulamento do curso, o orientador, presidente da banca, abriu a sessão, passando a palavra ao candidato, que fez a exposição do seu trabalho. Em seguida, foi realizada a arguição pelos examinadores na ordem registrada acima, com a respectiva defesa do candidato. Finda a arguição, a Banca Examinadora se reuniu, sem a presença do candidato e do público, tendo deliberado pela sua **APROVAÇÃO**, com a **NOTA 9,0 (nove)**. Comunicou-se ao candidato que essa nota somente será liberada para a PROGRAD, após a entrega do exemplar definitivo de acordo com as normas estabelecidas pelo Sistema de Bibliotecas e Informação (Sisbin), com as devidas correções sugeridas pela banca e com o aval escrito do orientador. Nada mais havendo para constar, a presente ata foi lavrada e após a leitura pública seguirá assinada pelo orientador e pelo presidente do Colegiado. Ouro Preto, 12 de janeiro de 2022.

Profa. Dra. Samantha Ribeiro Béla
(Orientadora)

Profa. Dra. Nancy Scardua Binda
(Presidente do Colegiado de Farmácia)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Antônio Carlos e Carmen Lúcia e aos meus irmãos Hugo, Matheus e Thiago por todo o apoio e por sempre me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos e focar nos estudos.

Agradeço ao meu namorado, Artur por todo suporte, paciência e amor.

Agradeço a toda equipe do Laboratório de Morfopatologia e a todos os docentes que contribuíram para a minha formação e a Universidade Federal de Ouro Preto por toda a estrutura propícia aos estudos.

Agradeço a minha orientadora Samantha Bela por toda competência, por fazer parte da minha formação, por todo o direcionamento e paciência. E, também a minha coorientadora, Daiane, por todo conhecimento transmitido, competência, carinho e paciência, com certeza, não teria conseguido sem ela.

Agradeço também a todos os meus amigos, pelos bons momentos, dentro e fora do ambiente estudantil, não teriam tido tantos momentos de aprendizagem e companheirismo sem eles.

Por fim, agradeço à Formulare, Lafarc, Cric e Calf-jb pela maturidade adquirida, grande desenvolvimento pessoal e senso de pertencimento a Escola de Farmácia.

RESUMO

O aumento do consumo de sódio na dieta decorrente do processo de industrialização e os hábitos errôneos de vida tem ocasionado diversos distúrbios metabólicos e doenças como hipertensão e inflamação, principalmente no intestino. Para o tratamento destas complicações são necessárias novas terapias, já que as terapias convencionais podem não ser eficazes para toda população. Uma dessas estratégias é utilização de *Psidium guajava* L. (goiabeira). Dados da literatura mostram que *Psidium guajava* L. possui diversas funções, dentre elas ação antiinflamatória. O objetivo desse trabalho foi avaliar alterações na arquitetura tecidual de íleo de ratos alimentados com dieta com sobrecarga de sódio por 12 semanas (HS12W) e tratamento oral (gavagem orogástrica) de uma formulação a base de *Psidium guajava* L. através das medidas de altura das vilosidades intestinais e da área de linfonodos. Os animais foram divididos em quatro grupos, sendo dois tratados com formulação a base de extrato de folha de goiabeira (SPs) e dois não tratados (veículos), sendo realizada a administração oral de SPs por 4 semanas a partir da 12^a semana pós desmame. Posteriormente, os animais foram eutanasiados e tiveram o intestino delgado removido, sendo realizada a preparação histológica para análise do tecido intestinal, morfometria das vilosidades e área dos linfonodos. Como resultado, não observamos na análise microscópica, em nenhum dos grupos, modificações na arquitetura tecidual, apenas um sutil encurtamento das vilosidades e também uma área maior ocupada pelos linfonodos que quando analisadas estatisticamente não apresentaram diferença. Assim, nosso modelo de hipertensão não foi hábil para alterar estruturas teciduais e após o tratamento por quatro semanas serem reparadas. No entanto, podemos afirmar que a utilização do extrato sozinho não causa alterações histológicas, se mostrando seguro para seguir sendo uma opção de tratamento pelas propriedades já relatadas na literatura.

Palavras chaves: Sódio; Inflamação; Íleo; Intestino.

ABSTRACT

The increase in sodium consumption in the diet resulting from the industrialization process and the wrong lifestyle habits has caused several metabolic disorders and diseases such as hypertension and inflammation, mainly in the intestine. For the treatment of these complications, new therapies are needed, since conventional therapies may not be effective for the entire population. One of these strategies is the use of *Psidium guajava* L. (guava tree). Literature data show that *Psidium guajava* L. has several functions, including anti-inflammatory action. The objective of this work was to evaluate alterations in the tissue architecture of the ileum of rats fed a sodium overload diet for 12 weeks (HS12W) and oral treatment (orogastric gavage) of a *Psidium guajava* L. intestinal villi and lymph node area. The animals were divided into four groups, two treated with a formulation based on guava leaf extract (*SPs*) and two untreated (vehicles). Subsequently, the animals were euthanized and the small intestine was removed, and the histological preparation was performed for analysis of the intestinal tissue, morphometry of the villi and area of the lymph nodes. As a result, we did not observe in the microscopic analysis, in any of the groups, changes in the tissue architecture, only a subtle shortening of the villi and also a larger area occupied by the lymph nodes that, when analyzed statistically, showed no difference. Thus, our model of hypertension was not able to change tissue structures and after treatment for four weeks they were repaired. However, we can say that the use of the *SPs* alone does not cause histological changes, proving to be safe to continue being a treatment option due to the properties already reported in the literature.

Keywords: Sodium; Inflammation; ileum; intestine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistema representativo do modelo HS12W e os tratamentos.

Figura 2. Objetiva de 20x: Altura das vilosidades.

Figura 3. Altura da vilosidade de íleo ao final do período de tratamento.

Figura 4. Objetiva de 5x: Área do tamanho dos linfonodos.

Figura 5. Área de linfonodos de íleo ao final do período de tratamento.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- ACC - Antagonistas dos canais de cálcio
- AVC -Acidente vascular cerebral
- BRA II - Bloqueador do receptor AT₁ da Angiotensina II
- CD - Doença de Crohn
- NaCl - Cloreto de sódio
- cm - Centímetros
- DIIs - Doenças inflamatórias intestinais
- UC - Colite ulcerosa
- ECA - Inibidores da enzima conversora da angiotensina
- HAS - Hipertensão arterial sistêmica
- HE - Hematoxilina/Eosina
- HS - Dieta com sobrecarga de sódio
- SD - Dieta padrão
- IL-10 - Interleucina-10
- IL-17 - Interleucina-17
- IL-6 - Interleucina-6
- iNOS - Óxido nítrico-sintase induzida
- OMS - Organização Mundial de Saúde
- kg - Kilograma
- mg - Miligrama
- PA – Pressão arterial
- SGK1 - Quinase 1 regulada por glicocorticóides séricos
- SPs - Formulação a base de extrato de *Psidium Guajava L.*
- T_H17 - Linfócitos TH17
- TLR4 - Receptor do tipo toll 4
- TNF α - Fator de necrose tumoral alpha

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
OBJETIVOS.....	12
METODOLOGIA.....	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
REFERÊNCIAS	26

INTRODUÇÃO

O sódio é um íon substancial para muitas atividades fisiológicas, como a manutenção da pressão osmótica, distribuição de fluidos corporais, manutenção do pH normal e para a maioria dos processos metabólicos (STRAZZULLO; LECLERCQ, 2014). Mas, se ingerido em grande quantidade, pode ser prejudicial ao organismo. O alto consumo de sal, pode acarretar inúmeras doenças, como hipertensão arterial (QIN; LI; LOU; CHANG *et al.*, 2014), complicações cardiovasculares (O'DONNELL; MENTE; ALDERMAN; BRADY *et al.*, 2020), síndrome metabólica (TAKASE; MACHII; NONAKA; OHNO *et al.*, 2020) e disfunções do trato gastrointestinal (LI; SUN; GUO; FAN, 2019), sendo estas diretamente associadas ao estilo de vida populacional. Seu consumo ainda é atrelado a costumes regionais e está intimamente ligado a aspectos culturais e ao processo de industrialização (ARAÚJO; RIBEIRO; PADRÃO; MOREIRA, 2019).

O consumo de sódio se dá pela via oral e a mucosa intestinal é a principal superfície de contato com o meio externo além de ser o primeiro tecido a interagir com inúmeros ingredientes alimentares (LYTE; VULCHANOVA; BROWN, 2011). Já o trato gastrointestinal relaciona-se continuamente com a microbiota e os antígenos dietéticos (DIETERICH; SCHINK; ZOPF, 2018). Em circunstâncias normais, a exposição a essas proteínas antigênicas induz à tolerância oral. Contudo, qualquer falha na homeostase intestinal pode resultar em uma resposta inflamatória relacionada à microbiota e aos antígenos alimentares (FROSALI; PAGLIARI; GAMBASSI; LANDOLFI *et al.*, 2015). Essas reações estão particularmente presentes durante as doenças inflamatórias intestinais (DIIs), como na colite ulcerosa (UC) e na doença de Crohn (CD) (AGUIAR; MIRANDA; GUIMARÃES; SANTIAGO *et al.*, 2018).

Com isso, os medicamentos naturais vêm se tornando cada vez mais usuais como tratamentos alternativos já que estes apresentam efeitos colaterais baixos (PUTNAM; SCUTT; BICKNELL; PRIESTLEY *et al.*, 2007), ao passo que, a utilização de fármacos convencionais podem não possuir eficácia para todos os indivíduos, principalmente se tratando da hipertensão arterial (YUGAR-TOLEDO; MORENO JÚNIOR; GUS; ROSITO *et al.*, 2020), uma vez que uma a cada cinco pessoas é hipertensa (20% da população) (BOCK; VUNGARALA; COVASSIN; SOMERS, 2022).

Como tratamento medicamentoso convencional, cita-se o uso de diuréticos, podendo causar efeitos colaterais como hipotasseemia e hipomagnesemia induzindo hiperuricemia, aumento do risco do diabetes melito, arritmias ventriculares e aumento de triglicérides; dos bloqueadores do receptor AT₁ da angiotensina II (BRAII), com a principal queixa sendo a tontura e em poucos casos, hipersensibilidade cutânea; dos inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA), causadores de sintomas como inchaço angioneurótico, mudanças no paladar, tosse seca e em alguns casos hipersensibilidade seguida de erupção cutânea; de antagonistas dos canais de cálcio (ACC), com efeitos colaterais como rubor facial, edemas de extremidades, cefaleia e tontura. A depender do medicamento prescrito, pode haver obstipação intestinal, bloqueio atrioventricular e depressão miocárdica, como é o caso no verapamil; e por fim, os betabloqueadores, podendo causar distúrbios da condução atrioventricular, vasoconstrição periférica, broncoespasmo, disfunção sexual, depressão psíquica, bradicardia e insônia (KOHLMANN JR; GUS; RIBEIRO; VIANNA *et al.*, 2010).

A utilização das plantas para tratamento, prevenção e cura de doenças é uma farmacoterapia antiga. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 60 a 80% da sociedade habitante de países subdesenvolvidos fazem uso de plantas medicinais e as têm como única forma de obtenção a cuidados básicos de saúde

(CARVALHO; DA COSTA LEITE; COSTA, 2021).

Algumas dessas plantas, possuem atividades terapêuticas (MATU; VAN STADEN, 2003), como a *Psidium Guajava L.* pertencente à família *Myrtacea* e popularmente conhecida como goiabeira. Além do uso em alimentos, suas folhas e cascas são relatadas como sendo utilizadas na medicina popular como antidiarréico (FRATIWI, 2015), antihipertensivo (GUTIÉRREZ; MITCHELL; SOLIS, 2008; OJEWOLE, 2005) e hipoglicêmico (DIAZ- DE-CERIO; RODRIGUEZ-NOGALES; ALGIERI; ROMERO *et al.*, 2017). Vários estudos têm confirmado a maioria das atividades biológicas alegadas de *Psidium guajava L.* realizados com extratos preparados de folhas e cascas, como antidiarréico (FRATIWI, 2015), atividade antimicrobiana (METWALLY; OMAR; HARRAZ; EL SOHAFY, 2010), hipoglicêmica, antihipertensiva (OJEWOLE, 2005) e antiinflamatória (OKTAVIA; DEVELOPMENT, 2021). Extratos preparados de folhas de *Psidium guajava L.* contêm muitos compostos como os fenólicos e flavonóides, (THENMOZHI; RAJAN, 2015), possuidores de atividades biológicas importantes (NASEER; HUSSAIN; NAEEM; PERVAIZ *et al.*, 2018).

Sendo assim, justifica-se a realização deste trabalho por trazer a utilização de uma possível alternativa terapêutica para o tratamento de alterações intestinais de ratos hipertensos, principalmente no íleo, ajudando por exemplo, a reestabelecer a altura de suas vilosidades acometidas pelo alto consumo de NaCl. Além disso, visa avaliar se o extrato natural utilizado neste estudo é capaz de recuperar alterações histológicas causadas pelo excesso de sódio no íleo no intestino delgado de ratos Wistar alimentados com dieta contendo sobrecarga de sódio (2%) por 12 semanas (HS12W) e submetidos a administração oral de formulação a base de extrato de folhas de *Psidium guajava L.* (goiabeira) por 4 semanas.

REFERENCIAL TEÓRICO

Consumo de sódio

O sódio é um nutriente primordial constituinte do fluido extracelular além de ser indispensável em inúmeros processos fisiológicos atuando na osmolalidade, nos processos de transporte transmembrana, na manutenção do volume extracelular e nos potenciais de membrana (KIRKENDALL; CONNOR; ABBOD; RASTOGI *et al.*, 1976). Apesar de sua importância, houve um aumento expressivo em seu consumo no decorrer dos anos, principalmente decorrente do êxodo rural e industrialização (KRAMER, 2017). Este elevado consumo de sódio proporcionou o surgimento de várias doenças no organismo como hipertensão (KARPPANEN; MERVAALA, 2006) e distúrbios cardiovasculares (ITO; GORDON; SVED, 1999), já que o organismo humano não estaria apto ao recebimento de grandes quantidades desse íon.

No decorrer dos anos, viu-se uma necessidade em diminuir o consumo de sódio para se evitar eventuais problemas de saúde e em especial os cardíacos (MORRISON; NESS, 2011). Dessa forma, a OMS estipulou em 2012 que o consumo desse ingrediente deveria ser 5g/dia (WHO, 2012). Diante disso, a indústria alimentícia tem buscado alternativas para reduzir o consumo de sódio sem comprometer as características organolépticas e de conservação dos alimentos, já que o sal é um ingrediente utilizado para estas finalidades (DÖTSCH; BUSCH; BATENBURG; LIEM *et al.*, 2009). Em contrapartida, um estudo realizado em uma amostra da população de Vitória, mostrou que esse consumo no Brasil, extrapolava o recomendado em três vezes (RODRIGUES; SOUZA JUNIOR; PIMENTEL; BALDO *et al.*, 2015). Para tanto, é notadamente complexo haver diminuição da quantidade de sal ingerida na dieta uma vez que alimentos com grandes concentrações de sal são inseridos de forma precoce na alimentação das

crianças e estes podem permanecer no decorrer dos anos ou por toda a vida (BOYLAND; HALFORD, 2013) .

Sendo assim, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) é tida como a doença crônica de maior predominância no mundo. De acordo com dados do III Inquerito Nacional de Exames de Saúde e Nutrição, angariados no decorrer dos anos de 1988 e 1991, toma-se que por volta de 43 milhões de americanos sejam hipertensos, sendo por volta de 23% da população estadunidense. Por outro lado, no Brasil, cerca de 15 a 20% da população adulta (indivíduos de 20 a 59 anos) é tida como hipertensa. Diante disso, a coronariopatia isquêmica e o acidente vascular cerebral (AVC) são a causa da morte de 1/3 da população brasileira, sendo também, notável o número de adultos se aposentando de forma precoce devido a problemas sérios de saúde. Dessa forma, a HAS é um problema de saúde pública no que concerne a todo o mundo, o que compete que bilhões de reais sejam empregados em custos diretos ou indiretos para tratamento da doença (SALGADO; CARVALHAES, 2003).

Intestino e inflamação

O intestino além de ser o maior órgão imunológico do corpo humano, é essencial para o processo digestivo (HEINTZ-BUSCHART; WILMES, 2018). Dessa forma, é necessário ressaltar sua importância adjunto ao tecido linfóide e a imunidade da mucosa no que concerne a vigilância imunológica (FOURNIER-BETZ; QUENTEL; LAMOUR; LEVEN *et al.*, 2000). Esta se faz presente mesmo sem a invasão de patógenos, podendo também ocorrer por antígenos estranhos ou próprios do corpo humano, para que assim o organismo consiga manter um bom estado de funcionamento (LI; SUN; GUO; FAN, 2019; VERDU; SCHUPPAN; BIOLOGY, 2020).

Por outro lado, estudos demonstram que dietas contendo grandes quantidades de

NaCl podem induzir o aumento de células T_{H17} (WILCK; MATUS; KEARNEY; OLESEN *et al.*, 2017) e agravamento de modelos experimentais de colite pela ativação da quinase 1 regulada por glicocorticóides séricos (SGK1) (AGUIAR; MIRANDA; GUIMARÃES; SANTIAGO *et al.*, 2018). No estudo de Aguiar e colaboradores (2018), relacionou-se o efeito de dietas ocidentalizadas e o aumento da incidência de DII pelo alto consumo de gorduras e carboidratos contrastando com uma baixa quantidade de fibras (AGUIAR; MIRANDA; GUIMARÃES; SANTIAGO *et al.*, 2018).

Além disso, foi observado que o consumo exacerbado de sal está associado ao desenvolvimento de doenças imuno mediadas, como é o caso da esclerose múltipla e da artrite reumatóide, aumento de linfócitos T auxiliares (T_{H17}) e o fator de necrose tumoral (TNF- α), sendo uma grande forma de contribuição à inflamação da mucosa associada a DII (AGUIAR; MIRANDA; GUIMARÃES; SANTIAGO *et al.*, 2018). Ademais, com o crescente avanço das técnicas empregadas na biologia molecular juntamente com o uso de diferentes modelos animais, tem-se um melhor entendimento dos fatores que arranjam a resposta inflamatória destrutiva do tecido gastrointestinal presente nesses distúrbios, afetando centenas de milhares de pessoas no mundo (MONTELEONE; MARAFINI; DINALLO; DI FUSCO *et al.*, 2017).

No momento atual, entende-se que as DIIs tem uma maior facilidade de desenvolvimento em indivíduos predispostos geneticamente, sendo resultado de uma resposta imune exagerada da mucosa intestinal contra bactérias comensais habitantes do lúmen (MONTELEONE; MARAFINI; DINALLO; DI FUSCO *et al.*, 2017).

As vilosidades intestinais são responsáveis pela absorção do sal, sendo esta em maior quantidade principalmente quando oriunda de dietas com sobrecarga de sódio (S. FORDTRAN; C. RECTOR; W. CARTER, 1968). Percebe-se também, nesses grupos, um aumento da ingestão de água e diurese. Mas em contrapartida, não houve diferenças na osmolaridade do plasma ou na mucosa do intestino delgado. (WANG; LI; FANG;

YANG *et al.*, 2018).

Wilck e colaboradores (2017), também relacionaram o aumento de citocinas inflamatórias ao consumo de dietas com sobrecarga de sódio (WILCK; MATUS; KEARNEY; OLESEN *et al.*, 2017). Estudos de Wilck e colaboradores (2017) mostraram que uma dieta de NaCl a 4% (8 a 10 vezes a recomendada para roedores) foi capaz de alterar a composição da microbiota intestinal e, conseqüentemente, levar a produção de citocinas inflamatórias como a interleucina-17 (IL-17) (WILCK; MATUS; KEARNEY; OLESEN *et al.*, 2017). Assim, os autores concluíram que o consumo de dietas com elevada concentração de sódio pode levar a disbiose intestinal e ainda a produção de citocinas inflamatórias, ocasionando inflamação a nível central e intestinal.

Estudos recentes revelam que uma dieta rica em sal afeta o sistema imunológico de forma substancial uma vez que tanto a imunidade inata quanto a adaptativa respondem ao estímulo de forma rápida porém carecem de especificidade, sendo a mucosa a primeira barreira de proteção do intestino contra corpos estranhos (LI; SUN; GUO; FAN, 2019). Ademais, no estímulo e função das células dendríticas, os macrófagos M1 são estimulados a partir de dietas HS ao passo que macrófagos M2 são encontrados enfraquecidos *in vitro* e *in vivo* (LI; SUN; GUO; FAN, 2019).

De maneira curiosa, descobriu-se que os macrófagos podem exercer a função de regular a homeostase do sal visto que o NaCl apresenta grande hipertonidade estimulando-os dessa forma a se deslocar em direção ao aumento de sal *in vitro* e comportar-se como células apontadoras de antígenos, secretando assim mediadores pró inflamatórios e proteínas, como a interleucina-6 (IL-6), TNF- α , ciclooxigenase-2 (COX-2), além de induzir a sintase de óxido nítrico (iNOS) (LI; SUN; GUO; FAN, 2019).

Classes de antihipertensivos

O tratamento farmacológico faz-se necessário uma vez que os portadores de HAS não se adequam a mudanças em sua vivência, como atividades físicas e hábitos alimentares saudáveis, tendo como benefício a redução da pressão arterial (PA). Todavia, é importante ressaltar que a depender do caso, essas alterações no estilo de vida podem não reduzir a PA de maneira satisfatória fazendo com que o uso de medicações seja necessária (MARTINS, 2017).

O tratamento farmacológico nesse caso, irá abranger múltiplas classes medicamentosas prescritas com base na idade, no sexo, na etnia, nas comorbidades correlatadas, no histórico familiar, em lesões presentes em órgãos-alvo e na gestação (caso haja), constituindo dessa forma um maior cuidado tanto para os profissionais de saúde quando para os portadores de HAS visando um tratamento que seja mais eficaz e adaptado ao indivíduo (FAVA; DA SILVA; GONÇALVES; GOMES *et al.*, 2017).

Deste modo, como monoterapia, tem-se os diuréticos tiazídicos, os BRA II, os ECAs, os ACCs e os betabloqueadores (FAVA; DA SILVA; GONÇALVES; GOMES *et al.*, 2017). O mecanismo de ação dos diuréticos se relaciona a uma baixa da quantidade de volume no meio extracelular. Em seguida, o volume circulante apresenta níveis próximos aos normais no decorrer de quatro a seis semanas gerando uma resistência vascular periférica baixa. Esse tipo de fármaco é prescrito em casos onde a HAS encontra-se em associação a insuficiência renal ou na insuficiência cardíaca onde há retenção de volume sendo esses recomendados em baixas dosagens (KOHLMANN JR; GUS; RIBEIRO; VIANNA *et al.*, 2010).

Já os fármacos anti-hipertensivos BRAII são utilizados em populações com comorbidades ou com alto risco cardiovascular. Além de comprovado benefício na prevenção de AVC, insuficiência cardíaca congestiva e nefroproteção em pacientes de

diabetes melito tipo II, atuando como antagonista da ação da angiotensina II bloqueando dessa forma, os receptores AT₁ (KOHLMANN JR; GUS; RIBEIRO; VIANNA *et al.*, 2010).

Por outro lado, os ECAS atuam impedindo a transformação da angiotensina I em II nos tecidos do corpo humano e no sangue circulante. Se operados por longos períodos, essa classe medicamentosa tarda a diminuição da função renal naqueles indivíduos que apresentam o quadro de nefropatia diabética, sendo utilizados para o tratamento de pacientes com grande risco de doença aterosclerótica; com diagnóstico de insuficiência cardíaca e com aqueles que já apresentaram infarto agudo do miocárdio. Visto isso, possui contraindicações no caso de mulheres em estado gestacional por trazerem complicações ao feto sendo necessário o emprego dos ECAS de forma monitorada tanto em mulheres que estejam em idade reprodutiva quanto em adolescentes que necessitem utilizá-los (KOHLMANN JR; GUS; RIBEIRO; VIANNA *et al.*, 2010).

Não raro, o uso de ACC se dá pela divisão em três subgrupos, sendo eles: diidropiridinas, fenilquilaminas e denzotiazepinas. Estes apresentam diferentes farmacologias e composições, sendo a ocorrência de sua ação anti-hipertensiva devido a atenuação do volume de cálcio presente nas células da musculatura vascular lisa, gerando dessa forma uma resistência vascular periférica menor. Para esse tipo de fármaco, é preferível agentes de longa duração em comparação aos de curta, sendo seu uso não aconselhado (FAVA; DA SILVA; GONÇALVES; GOMES *et al.*, 2017).

Ademais, os betabloqueadores são medicações que diferem entre gerações, possuindo aqueles de primeira, segunda e terceira geração. As inovações no mercado (geração mais recente), possibilitam a vasodilatação tanto pela barreira simultânea do receptor alfa-1 adrenérgico, como é o caso do carvediol quanto pela ampliação da liberação e síntese endotelial do óxido nítrico, por exemplo, pelo medicamento nebivolol. A ação anti-hipertensiva desempenhada pelos betabloqueadores transcorre a

atenuação da secreção de renina, a diminuição do débito cardíaco e das catecolaminas presentes nos sinais neuronais além da readaptação dos barorreceptores. São medicamentos melhor indicados para aqueles pacientes com idade abaixo dos 60 anos (KOHLMANN JR; GUS; RIBEIRO; VIANNA *et al.*, 2010).

***Psidium guajava* L.**

Psidium guajava L, também conhecida como goiabeira, é um arbusto de pequeno porte, possuindo cerca de 10 metros de altura (JAIARJ; KHOOHASWAN; WONGKRAJANG; PEUNGVICHA *et al.*, 1999). Sua casca é lisa, fina, descascada e de formato irregular. As folhas por sua vez, são pecioladas curtas, opostas, com veias pinadas aparentes, dispendo de 5 a 15 centímetros (cm) de comprimento e apresentam lâmina oval. Em relação as flores, estas têm pétalas brancas chegando até 2 cm de comprimento e numerosos estames (MERCADANTE; STECK; PFANDER, 1999). Por fim, os frutos são de coloração amarela que vão do formato ovóide ao globular e têm cerca de 5 cm de diâmetro. Contam ainda com um mesocarpo na cor rosa englobando algumas sementes brancas e pequenas, sendo essas comestíveis (GUTIERREZ; MITCHELL; SOLIS, 2008).

As folhas de goiabeira são nativas de toda a extensão do sul do México ao norte da América do Sul (CHAPLA; CAMPOS; TECHNOLOGY, 2010), apresentando assim preferência por climas secos, podendo ainda ser cultivadas nos demais países devido a seu alto poder de adaptação a diferentes condições climáticas (DIAZ-DE-CERIO; VERARDO; GOMEZ-CARAVACA; FERNANDEZ-GUTIERREZ *et al.*, 2017). Pertencente à família *Myrtaceae*, é afamada pelas suas propriedades antioxidantes (ASHRAF; SARFRAZ; RASHID; MAHMOOD *et al.*, 2016), antialérgica (SEO; ITO; WANG; YAO *et al.*, 2005), antimicrobiana (ABDELRAHIM; ALMAGBOUL; OMER;

ELEGAMI, 2002), antihipertensiva (MATHUR; DUTTA; VELPANDIAN; MATHUR, 2015; OJEWOLE, 2005), hipoglicêmica (OJEWOLE, 2005) e anti-inflamatória (OJEWOLE, 2006). Dessa forma, há muitos anos as folhas de goiaba têm sua utilização voltada ao tratamento de úlceras, feridas, diarreia, cólera e bronquite sendo compostas por taninos, carotenóides, triterpenóides, fenóis e flavonóides, atuantes na terapia inflamatória (THOME; SUDIANA; BAKAR, 2019).

Com o passar dos anos, os extratos das folhas de goiaba têm ganhado mais destaque no comércio de países como China, Coréia e Japão sendo frequentemente comercializados como suplementos dietéticos (VAN WYK; WINK, 2015). Nos dias atuais, percebe-se um crescimento referente ao estudo das plantas pela sua atuação tanto em terapias farmacológicas quanto em nutracêuticos e alimentos funcionais (OKTAVIA; DEVELOPMENT, 2021).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar alterações histopatológicas no íleo de ratos Wistar alimentados com dieta contendo sobrecarga de sódio por 12 semanas (HS12W) e submetidos a administração oral (gavagem orogástrica) de uma formulação abase de *Psidium guajava L.* (goiabeira).

Objetivos específicos

- (1) Identificar processos patológicos e mudanças na arquitetura tecidual do íleo de ratos sob regime de dieta com sobrecarga de sódio e submetidos a administração oral de formulação a base de *Psidiumguajava L.* (goiabeira) por 4 semanas.
- (2) Verificar se a administração oral da formulação a base de *Psidium guajava L.* (goiabeira) foi capaz de reverter as possíveis alterações estruturais no íleo desencadeadas pelo consumo de dieta com sobrecarga de sódio.

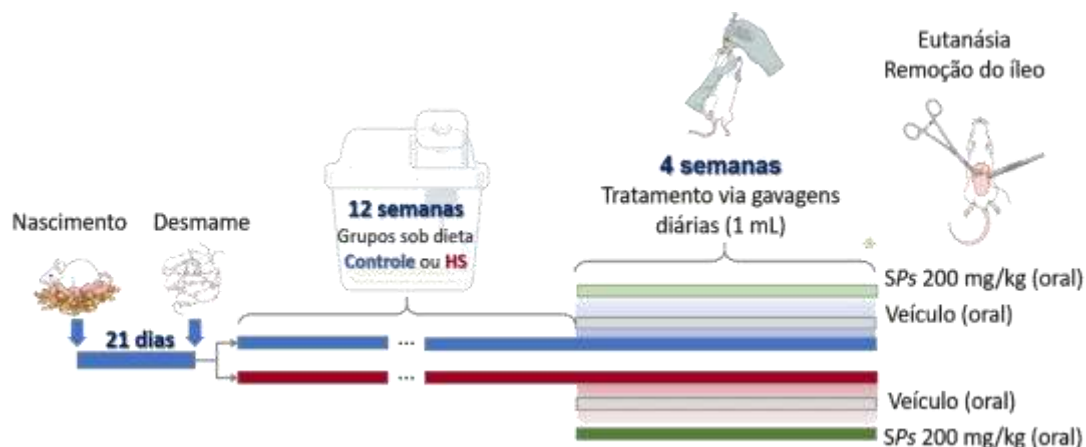
METODOLOGIA

Modelo animal: Para a execução deste trabalho foram utilizados ratos da linhagem Wistar machos. Após o nascimento, os animais permaneceram com suas mães por 21 dias (período de amamentação). Posteriormente, os filhotes foram divididos aleatoriamente em quatro grupos: 1) Dois grupos recebendo dieta da marca Nuvilab®, moída, (0,27% Na⁺) por 12 semanas (grupo SD); 2) Dois grupos recebendo dieta da marca Nuvilab®, moída, acrescida de cloreto de sódio até atingir 0,9% Na⁺ por 12 semanas após o desmame (grupo HS) (n=33).

Durante todo período, antes de serem submetidos a quaisquer procedimentos, os animais foram gerados e mantidos em racks ventiladas no Centro de Ciência Animal da Universidade Federal de Ouro Preto, com trocas de ar, ração e água (de torneira) livre, ciclo claro-escuro de 12h e temperatura média de 24±1°C. Todos os procedimentos que foram realizados utilizando os animais, tiveram aprovação prévia da Comissão de Ética em Uso Animal da Universidade Federal de Ouro Preto, sob protocolo CEUA de nº 8880090719.

Administração oral da formulação de Psidium guajava L (Goiabeira): Na 12^a semana pós desmame, os ratos ainda submetidos as suas respectivas dietas (HS ou SD), começaram a receber por gavagens orogástricas uma formulação a base de *Psidium guajava* L. (sPs) na dose de 200 mg/kg e o veículo (água destilada) sendo a dose de extrato de *Psidium guajava* L. corrigida pelo peso corporal dos animais, perdurando estas gavagens por 4 semanas. As gavagens eram feitas diariamente no mesmo horário. A divisão dos grupos e seus tratamentos, estão expressos na figura 1.

Figura 1. Sistema representativo do modelo HS12W e os tratamentos.



Eutanásia dos animais: A eutanásia dos animais foi realizada após injeção intraperitoneal de uma sobredose (três vezes a dose terapêutica) de anestésico Cetamina (Ketalex, Dechra, Londrina, PR) e xilasina (Syntec do Brasil Ltda, Hortolândia, SP). Esta etapa dos experimentos ocorreram no Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular.

Coleta de intestino: Após a confirmação do óbito dos ratos, foi realizada a perfusão cardíaca através de uma cânula com utilização de metanol (Neon, Suzano, SP) e dimetilsulfóxido (Syntec do Brasil Ltda, Hortolândia, SP), nas proporções (80% v / 20% v) até a completa remoção de quaisquer resquícios de sangue de órgãos e tecidos. Além disso, foi realizada laparotomia e localização do intestino delgado, sendo este compreendido entre a porção do piloro e do cécum. Após autópsia, o intestino foi colocado sobre superfície limpa, sendo removido o tecido adiposo remanescente e as fezes. Findado este processo, o intestino delgado foi dividido em três partes (duodeno, jejuno e íleo), sendo estas partes separadas, identificadas, enroladas, imersas na solução de metanol/ dimetilsulfóxido e armazenadas em temperatura (-4° C) até o processamento. Contudo, apesar da remoção das três porções do intestino delgado, optou-se em utilizar apenas o íleo para os ensaios histológicos. Durante os três dias posteriores, a solução metanol e demetilsulfóxido foi trocada e as amostras de intestino delgado foram mantidos sob refrigeração até os procedimentos futuros.

Processamento: As amostras de intestino foram selecionadas, cortadas e posteriormente colocadas em cacetes histológicos devidamente identificados e imersas na solução metanol e dimetilsulfóxido por 24 horas. Após esse período, foram processados pelas seguintes etapas:

- 1) Desidratação: Imersas por 40 minutos utilizando os álcoois de concentração 70%, 80%, 90% e 100% absoluto I e II (Neon, Suzano, SP).
- 2) Clarificação: Imersas em duas concentrações distintas de xilol I e II (Neon, Suzano, SP) por cerca de 30 minutos.

Logo após, o material foi imerso em parafina líquida e mantidos por 12 horas dentro da estufa de secagem a 60° C. Para a criação dos blocos de parafina foram utilizadas formas de aço inox para emblocar o material sendo necessários aproximadamente 1 minuto para endurecimento. Visando a otimização deste processo, mergulhou-se os cacetes histológicos em recipientes contendo gelo para que a parafina endurecesse mais rapidamente.

Preparo da lâmina: O corte do material foi realizado no micrótomo (Model Jung Histocut 820, Leica, Nussloch, Alemanha), com espessura de 5µm. Para fixação do material na lâmina para microscopia (26x76 mm, K5-7105, Kasvi), utilizou-se uma solução de albumina e glicerina (1:1), feita a partir de 50 ml de clara de ovo “batida em neve” e 50ml de glicerina, filtrada em papel-filtro e com adição de cristais de timol como conservante. Em seguida, com auxílio de uma pinça, os cortes foram inseridos na superfície de um recipiente plástico com água em temperatura ambiente, para que, dessa forma, o corte pudesse ficar o mais limpo possível, sem a presença de grumos de parafina advindos de ranhuras no dente da lâmina utilizada. Em seguida, com a lâmina já identificada e com um movimento na vertical, fixou-se o corte na lâmina e o transferiu ao equipamento de banho-maria (Easy Path modelo EP-31-2015) com temperatura entre 40

a 50° C, visando não causar danos ao tecido a ser estudado. Os cortes foram inseridos novamente na superfície da água para posteriormente, fixá-lo de forma definitiva e por fim, colocar as lâminas preparadas em um suporte de poliacrilamida para serem encaminhadas a estufa de secagem (DeLeo, Brazil) a 60° C para retirada do excesso de parafina restante no tecido.

Coloração em HE: Para a coloração do tecido, as lâminas foram submetidas aos seguintes processos:

- 1) Hidratação do material com 2 banhos em xilol I e II (Neon, Suzano, SP) por cerca de 30 minutos cada;
- 2) Imersão do em álcoois (Neon, Suzano, SP) nas concentrações 100% absoluto I e II, 90%, 80%, 70% por 5 minutos;
- 3) Imersão em água por 5 minutos;
- 4) Imersão em hematoxilina previamente filtrada por 1 minuto e 30 segundos;
- 5) Banho em água corrente por 30 minutos para retirada do excesso de reagente;
- 6) Imersão em eosina entre 40 segundos a 1 minuto;
- 7) Lavagem em água corrente para retirada de excesso do segundo reagente, por aproximadamente 10 segundos.

Colocação da lamínula: Para fixação da lamínula de vidro K5-2450 24x40mm) foi utilizado o meio de montagem sintético, enthelan (EasyPath. Modelo: EP-51-05041).

Finalmente, as lâminas foram colocadas em um suporte de madeira para secagem de forma horizontal, em temperatura ambiente por cerca de 24h para posteriormente serem analisadas no microscópio ótico Leica DM5000B.

Foto documentação: No laboratório Multiusuário de Microscopia de Campo Claro/Fotodocumentação e Morfometria do NUPEB/UFOP, foi realizada a documentação de imagens. As imagens foram obtidas através do microscópio ótico digital semi-automatizado (Leica DM5000B), com calibração automática, nas objetivas de 5x e 20x. A primeira possui calibração 0.671; lentes objetivas (Plan 10x/0.15) e condensador semi-automatizado 0.12. Já a segunda 0.168, lentes objetivas (N-Plan 20x/0.40) e condensador semi-automatizado 0,75. A captura de imagens ficou a cargo da câmera (Leica MC 170HD, CCD). Todas as imagens foram escalonadas utilizando o software Leica Application Suite (Versão para Windows).

Análise das imagens: Visando analisar as imagens obtidas na foto documentação, fez-se uso de uma plataforma de código aberto para análise de imagens biológicas denominada Image J (Versão 1.53f51), onde foram avaliadas o tamanho de vilosidades através das fotos onde estas estavam completamente visíveis da camada submosa até a mucosa, além de serem consideradas somente as ímpares. Mais adiante, a área dos linfonodos foi totalmente circundada para a obtenção de sua totalidade no tecido. Aqueles cuja área não foi possível ser observada em apenas uma imagem, somou-se as área das respectivas imagens para se ter o valor total da medição.

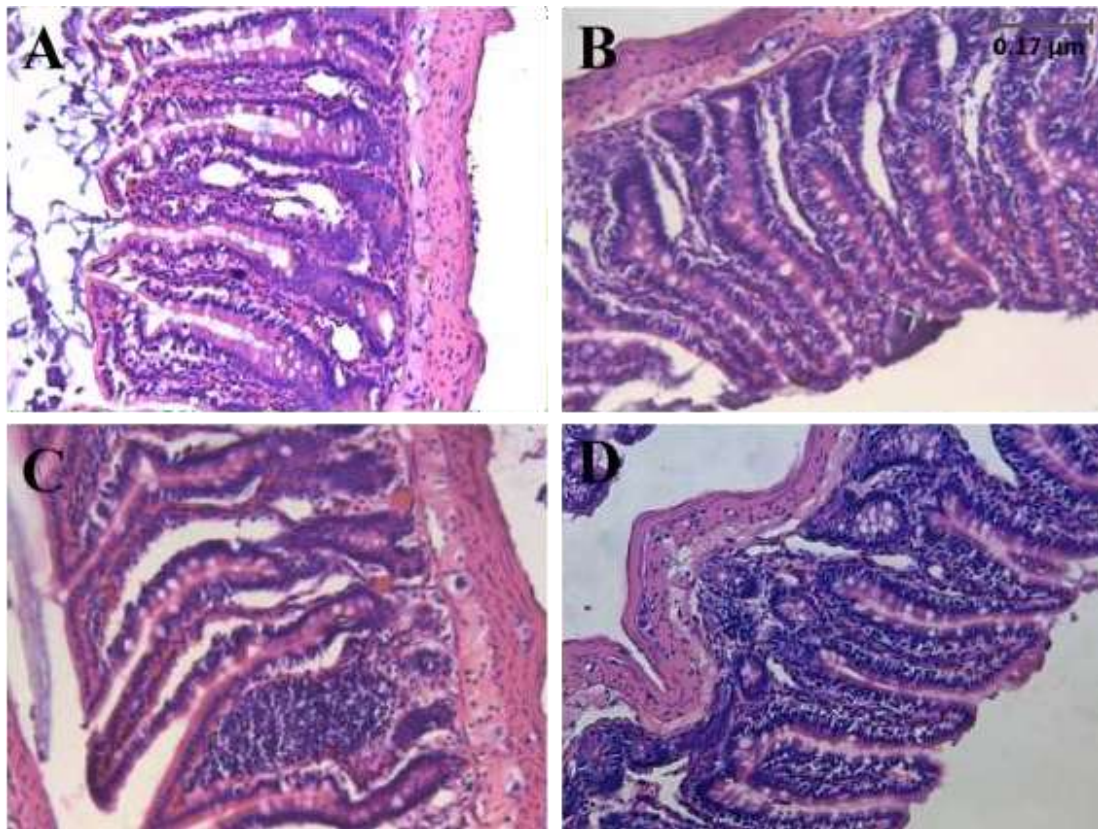
Análise estatística: Os dados foram expressos em média e erro padrão da média. As comparações entre os grupos foram realizadas por análise de variância *two-way* (ANOVA) para medidas repetidas quando aplicável. O pós-teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas entre pares de médias após a ANOVA detectar diferença nas variâncias entre os grupos. Todos os dados foram analisados estatisticamente utilizando o software GraphPad Prism 8.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego Califórnia, EUA). As diferenças entre pares de médias foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As lâminas de todos os grupos foram observadas em microscopia de luz, onde foram procurados processos patológicos e alterações da arquitetura tecidual induzida por estes processos. Como resultado, não observamos nenhuma alteração tecidual significativa quando avaliados os grupos controle e os grupos experimentais, apesar de haver sutil encurtamento das vilosidades e aumento das áreas dos linfonodos que foram avaliadas morfometricamente.

Neste trabalho, foi avaliado a altura das vilosidades e a área de linfonodos presentes em no íleo de ratos HS e SD tratados ou não com formulação a base de extrato de folha de *Psidium guajava* L. (SPs). A figura 2 mostra a prancha histológica representando a altura das vilosidades dos cortes dos ratos SD veículo, HS veículo, HS SPs e SD SPs, painéis A, B, C e D, respectivamente.

Figura 2. Objetiva de 20x: Altura das vilosidades A) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos SD veículo; B) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos HS veículo; C) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos HS SPs; D) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos SD SPs. HE.



Como resultados do experimento, em relação ao tamanho das vilosidades, não houve diferenças entre os grupos e tratamentos (SD veículo $257.715 \pm 25.059 \mu\text{m}$; HS veículo $232.209 \pm 12.411 \mu\text{m}$; SD SPs $233.974 \pm 16.423 \mu\text{m}$; HS SPs $241.974 \pm 8.307 \mu\text{m}$, ANOVA *two way*, pós Teste Tukey, $p < 0.05$) conforme demonstrado na figura 3.

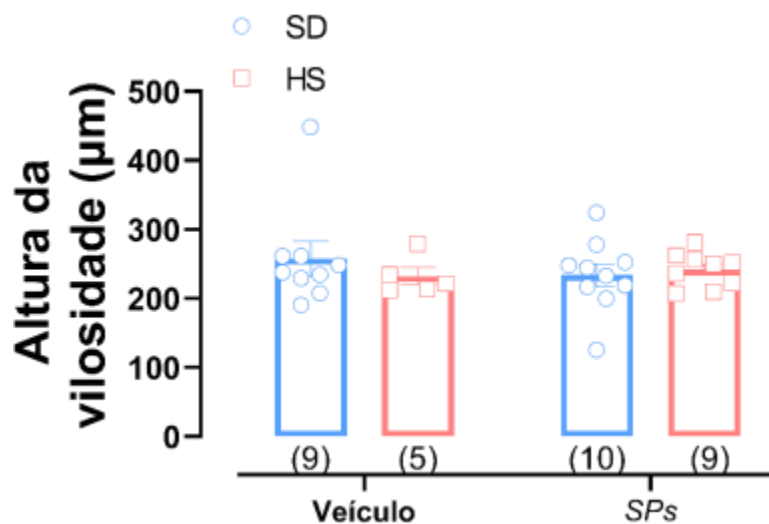
Wang e colaboradores (2018) realizaram um estudo pelas quais ratos machos Sprague-Dawley com quatro semanas de idade foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos (WANG; LI; FANG; YANG *et al.*, 2018). O grupo controle foi alimentado com dieta padrão (0,4% NaCl), enquanto os grupos de tratamento foram alimentados com dieta rica em sal (4,0% NaCl) suplementada com betaína (planta possuidora de alto poder anti-inflamatório) a 0,0%, 0,5% e 1,0%, respectivamente. O experimento teve duração de 28 dias (WANG; LI; FANG; YANG *et al.*, 2018). Os resultados mostraram que a altura das vilosidades intestinais do intestino delgado diminuiu significativamente no grupo da dieta rica em sal. No entanto, a suplementação de betaína foi capaz de

reestabelecer a altura das vilosidades em relação ao grupo controle (WANG; LI; FANG; YANG *et al.*, 2018).

O estudo também evidencia que a alta ingestão de sal fez com que houvesse menor variedade da microbiota intestinal ao passo que a suplementação de betaína neutralizaria a diminuição da vilosidade (WANG; LI; FANG; YANG *et al.*, 2018). Resultado semelhante foi observado na relação entre a altura das vilosidades e a profundidade das criptas ($p < 0,05$). Em conclusão, os resultados indicam que a betaína melhora a função intestinal (WANG; LI; FANG; YANG *et al.*, 2018) e, quando há suplementação, as concentrações de cortisol retornam aos níveis habituais expondo que a betaína seria capaz de compensar possíveis condições adversas originadas pelo grande consumo de NaCl. (WANG; LI; FANG; YANG *et al.*, 2018).

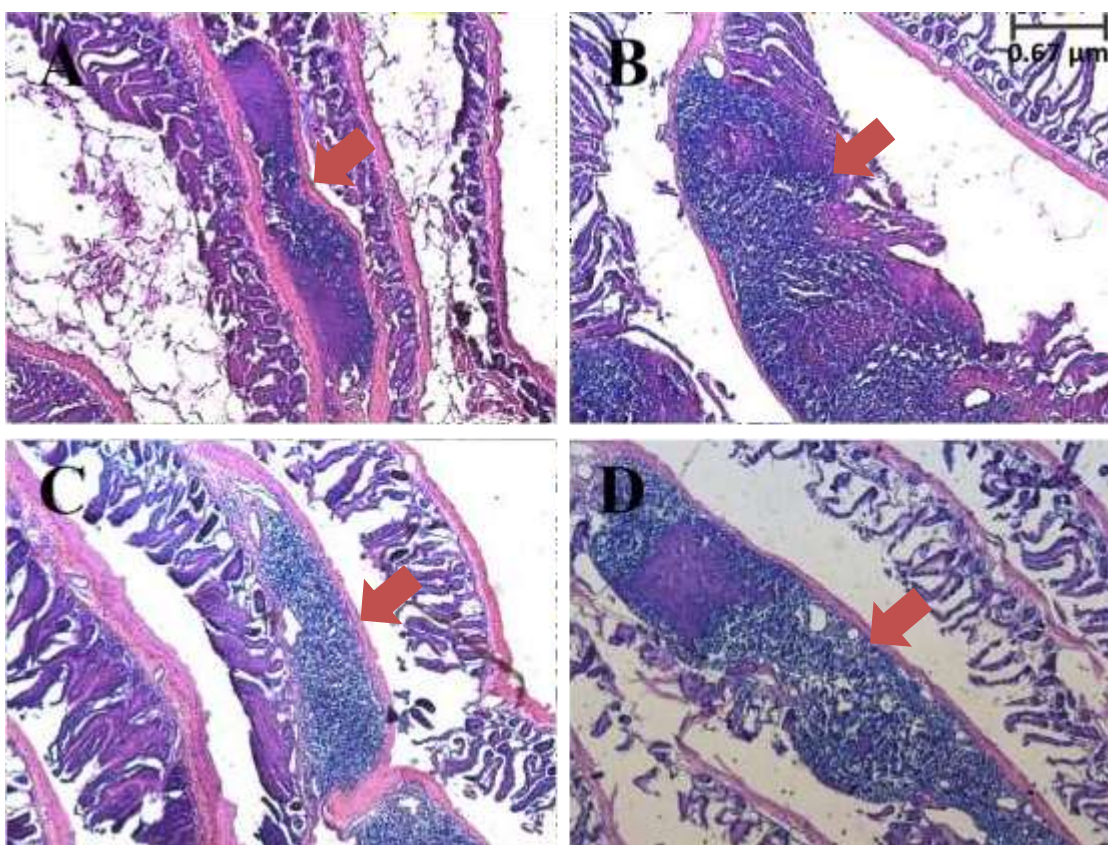
Apesar das alterações histológicas apresentadas em outros estudos de hipertensão em modelo animal, como no de Wang e Colaboradores, onde houve significativa diminuição da altura das vilosidades e na profundidade das criptas nos grupos contendo a dieta acrescida com 4% de sódio, os grupos avaliados neste trabalho em questão, não possuíram nenhuma alteração importante nessa arquitetura intertecidual além das diferenças visuais na altura das vilosidades. Contudo, a concentração de sódio utilizada no estudo de Wang e colaboradores foi maior (4%), sugerindo que este efeito na redução de vilosidades pode estar associado a quantidade de sódio na dieta.

Figura 3. Altura da vilosidade de íleo ao final do período de tratamento para ratos com dieta padrão (SD) ou dieta com sobrecarga de sódio (HS) que receberam um veículo ou formulação a base de extrato de *Psidium guajava* L. (SPs) contendo 200 mg/kg de extrato de folha de goiaba por gavagem orogástrica. Os círculos abertos representam os valores individuais e as barras representam os dados médios do grupo (média \pm erro padrão da média) (n=5 a 10). ANOVA two way seguida do pós-teste de Tukey. $p < 0,05$.



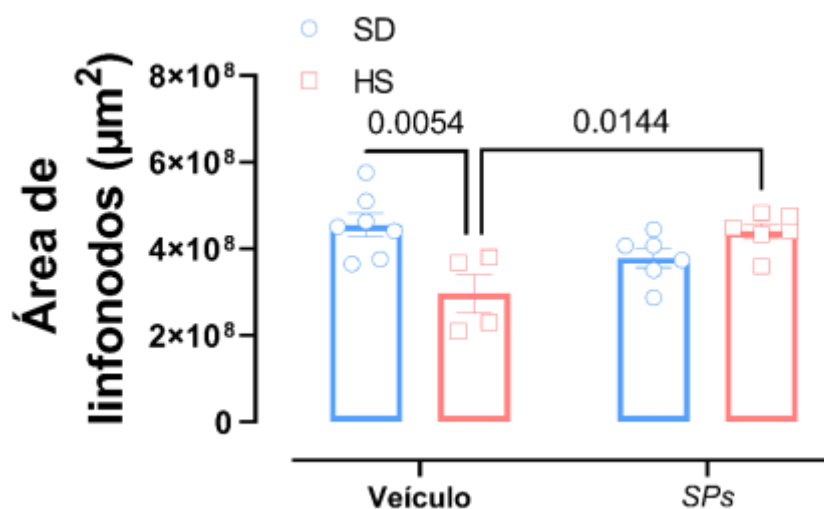
A figura 3 mostra a prancha histológica representando a altura das vilosidades dos cortes dos ratos SD veículo, HS veículo, HS *SPs* e SD *SPs*, painéis A, B, C e D, respectivamente.

Figura 4. Objetiva de 5x: Área de linfonodos A) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos SD veículo; B) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos HS veículo; C) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos HS *SPs*; D) Visão geral do corte histológico de íleo de ratos SD *SPs*. HE. As setas mostram os linfonodos.



Em relação a área dos linfonodos, também não houve diferenças entre os tipos de dieta e tratamentos (SD veículo $4.019e+008 \pm 5.780e+007\mu\text{m}$; HS veículo $2.964e+008 \pm 4.493e+007\mu\text{m}$; SD SPs $3.785e+008 \pm 2.245 e+007\mu\text{m}$; HS SPs $4.402e+008 \pm 1.791e+007\mu\text{m}$, ANOVA *two way*, pós Teste Tukey, $p < 0.05$). Os dados estão representados na figura 5.

Figura 5. Área de linfonodos de íleo ao final do período de tratamento para ratos com dieta padrão (SD) ou dieta com sobrecarga de sódio (HS) que receberam um veículo ou formulação a base de extrato de *Psidium guajava* L. (SPs) contendo 200 mg/kg de extrato de folha de goiaba por gavagem orogástrica. Os círculos abertos representam os valores individuais e as barras representam os dados médios do grupo (média \pm erro padrão da média) (n=5 a 10). ANOVA *two way* seguida do pós-teste de Tukey. $p < 0,05$.



Assim, de acordo com os achados, a dieta e o tratamento não alteram a área de linfonodos.

Na investigação de inflamação, os resultados obtidos não ficaram claramente explícitos quanto a presença de processo inflamatório. Para isto, foi feita a medida da área do linfonodo para verificar a reatividade do intestino, já que reatividade do linfonodo está relacionada a inflamação. São escassos os dados na literatura mostrando a relação dos linfonodos e consumo de sódio. Contudo, mostram que a ingestão de sal na dieta pode influenciar no processo inflamatório intestinal (AGUIAR; MIRANDA; GUIMARÃES; SANTIAGO *et al.*, 2018). Estudo realizado por Tubbs e colaboradores mostraram que o alto teor de sal de cloreto de sódio pode desencadear DIIs (TUBBS; LIU; ROGERS; SARTOR *et al.*, 2017). Para isso, verificaram que dieta com sobrecarga de sódio piora a patologia inflamatória no modelo murino de colite com deficiência de interleucina-10 (IL-10) em relação a camundongos alimentados com uma dieta pobre em sal (TUBBS; LIU; ROGERS; SARTOR *et al.*, 2017).

Como resultado, avaliaram que o sódio se acumulou no cólon de camundongos alimentados com dieta com sobrecarga de sódio, aumentou a expressão de citocinas durante a infecção por *Salmonella typhimurium*, de receptor do tipo toll 4 (TLR4), da

via de sinalização intracelular p38 MAPK e SGK1 (TUBBS; LIU; ROGERS; SARTOR *et al.*, 2017).

Assim, concluiu-se que o sal na dieta alimentar seja um fator ambiental que leva ao aumento da inflamação intestinal (TUBBS; LIU; ROGERS; SARTOR *et al.*, 2017). Outro estudo realizado por Amamou e colaboradores (2021) também avaliaram a presença de inflamação intestinal decorrente do consumo de sódio na dieta (AMAMOU; ROULAND; YAKER; GOICHON *et al.*, 2021). Para isso, ratos *Sprague-Dawley* receberam dieta contendo 4% de sódio ou dieta padrão, sendo avaliado o peso corporal dos animais, peso, tamanho do cólon, presença de fibrose e presença de mediadores inflamatórios (AMAMOU; ROULAND; YAKER; GOICHON *et al.*, 2021). Os autores observaram que o consumo de dieta com alto teor de sódio proporciona processo inflamatório intestinal, fibrose, redução do peso corpóreo dos animais, alteração de peso, tamanho do cólon e aumento de mediadores inflamatórios (AMAMOU; ROULAND; YAKER; GOICHON *et al.*, 2021).

Na literatura cita-se a inflamação do íleo, contudo, no modelo utilizado neste estudo, não foi possível observar nenhum infiltrado inflamatório. Para que a reatividade deste segmento pudesse ser descartada, optou-se por realizar a morfometria da área ocupada pelo linfonodo e esta também não demonstrou diferenças apesar do aumento observado na microscopia. Assim, neste estudo o teor de sódio na dieta (2%), de forma crônica, não foi capaz de promover a redução do tamanho das vilosidades e nem diferenças na área dos linfonodos, sugerindo que este teor de sódio pode não afetar tanto a histologia do íleo nessa dada concentração.

CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos no trabalho, pode-se concluir que não houve nenhuma alteração tecidual significativa no íleo de ratos submetidos a dieta HS ou SD receberam veículo ou *SPs* por gavagens orogástricas durante quatro semanas, apesar de haver um pequeno encurtamento das vilosidades e aumento das áreas dos linfonodos. A partir destes achados, o modelo de hipertensão utilizado não alterou estruturas teciduais. Além disso, a utilização do extrato sozinho não proporcionou alterações histológicas, sendo uma estratégia terapêutica para o tratamento de diversas doenças.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHIM, S. I.; ALMAGBOUL, A. Z.; OMER, M. E.; ELEGAMI, A. Antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. *Fitoterapia*, 73, n. 7-8, p. 713-715, Dec 2002.
- AGUIAR, S. L. F.; MIRANDA, M. C. G.; GUIMARÃES, M. A. F.; SANTIAGO, H. C. *et al.* High-Salt Diet Induces IL-17-Dependent Gut Inflammation and Exacerbates Colitis in Mice. *Frontiers in immunology*, 8, p. 1969-1969, 2018.
- AMAMOU, A.; ROULAND, M.; YAKER, L.; GOICHON, A. *et al.* Dietary salt exacerbates intestinal fibrosis in chronic TNBS colitis via fibroblasts activation. *Scientific Reports*, 11, n. 1, 2021.
- ARAÚJO, C.; RIBEIRO, K. D.; PADRÃO, P.; MOREIRA, P. Industrialized foods in early infancy: a growing need of nutritional research. *Porto biomedical journal*, 4, n. 4, p. e47-e47, 2019.
- ASHRAF, A.; SARFRAZ, R. A.; RASHID, M. A.; MAHMOOD, A. *et al.* Chemical composition, antioxidant, antitumor, anticancer and cytotoxic effects of *Psidium guajava* leaf extracts. *Pharm Biol*, 54, n. 10, p. 1971-1981, Oct 2016.
- BOCK, J. M.; VUNGARALA, S.; COVASSIN, N.; SOMERS, V. K. J. A. *et al.* Sleep Duration and Hypertension: Epidemiological Evidence and Underlying Mechanisms. 35, n. 1, p. 3-11, 2022.
- BOYLAND, E. J.; HALFORD, J. C. J. A. Television advertising and branding. Effects on eating behaviour and food preferences in children. 62, p. 236-241, 2013.
- CARVALHO, L. G.; DA COSTA LEITE, S.; COSTA, D. d. A. F. J. R. d. C. e. C. Principais fitoterápicos e demais medicamentos utilizados no tratamento de ansiedade e depressão. 12, n. 1, p. e25178-e25178, 2021.
- CHAPLA, T. E.; CAMPOS, J. B. J. B. *et al.* Allelopathic evidence in exotic guava (*Psidium guajava* L.). 53, p. 1359-1362, 2010.

DIAZ-DE-CERIO, E.; RODRIGUEZ-NOGALES, A.; ALGIERI, F.; ROMERO, M. *et al.* The hypoglycemic effects of guava leaf (*Psidium guajava* L.) extract are associated with improving endothelial dysfunction in mice with diet-induced obesity. *Food Res Int*, 96, p. 64-71, Jun 2017.

DIAZ-DE-CERIO, E.; VERARDO, V.; GOMEZ-CARAVACA, A. M.; FERNANDEZ-GUTIERREZ, A. *et al.* Health Effects of *Psidium guajava* L. Leaves: An Overview of the Last Decade. *Int J Mol Sci*, 18, n. 4, Apr 24 2017.

DIETERICH, W.; SCHINK, M.; ZOPF, Y. J. M. S. Microbiota in the gastrointestinal tract. 6, n. 4, p. 116, 2018.

DÖTSCH, M.; BUSCH, J.; BATENBURG, M.; LIEM, G. *et al.* Strategies to reduce sodium consumption: a food industry perspective. 49, n. 10, p. 841-851, 2009.

FAVA, S. M. C. L.; DA SILVA, P. C. d. S.; GONÇALVES, I. W. P.; GOMES, D. M. *et al.* Classes de anti-hipertensivos e sua combinação entre pessoas com hipertensão arterial sistêmica no sistema público. 16, n. 1, p. 20-50, 2017.

FOURNIER-BETZ, V.; QUENTEL, C.; LAMOUR, F.; LEVEN, A. J. F. *et al.* Immunocytochemical detection of Ig-positive cells in blood, lymphoid organs and the gut associated lymphoid tissue of the turbot (*Scophthalmus maximus*). 10, n. 2, p. 187-202, 2000.

FRATIWI, Y. J. J. M. The potential of guava leaf (*Psidium guajava* L.) for diarrhea. 4, n. 1, 2015.

FROSALI, S.; PAGLIARI, D.; GAMBASSI, G.; LANDOLFI, R. *et al.* How the intricate interaction among toll-like receptors, microbiota, and intestinal immunity can influence gastrointestinal pathology. 2015, 2015.

GUTIERREZ, R. M.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol*, 117, n. 1, p. 1-27, Apr 17 2008.

GUTIÉRREZ, R. M. P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. Psidium guajava: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 117, n. 1, p. 1-27, 2008.

HEINTZ-BUSCHART, A.; WILMES, P. J. T. i. m. Human gut microbiome: function matters. *26*, n. 7, p. 563-574, 2018.

ITO, S.; GORDON, F. J.; SVED, A. F. Dietary salt intake alters cardiovascular responses evoked from the rostral ventrolateral medulla. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 276, n. 6, p. R1600-R1607, 1999.

JAIARJ, P.; KHOOHASWAN, P.; WONGKRAJANG, Y.; PEUNGVICHA, P. *et al.* Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. *J Ethnopharmacol*, 67, n. 2, p. 203-212, Nov 1 1999.

KARPPANEN, H.; MERVAALA, E. Sodium intake and hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*, 49, n. 2, p. 59-75, Sep-Oct 2006.

KIRKENDALL, W. M.; CONNOR, W. E.; ABBOUD, F.; RASTOGI, S. *et al.* The effect of dietary sodium chloride on blood pressure, body fluids, electrolytes, renal function, and serum lipids of normotensive man. *87*, n. 3, p. 418-434, 1976.

KOHLMANN JR, O.; GUS, M.; RIBEIRO, A. B.; VIANNA, D. *et al.* Tratamento medicamentoso. *32*, p. 29-43, 2010.

KRAMER, H. J. A. j. o. k. d. Kidney disease and the westernization and industrialization of food. *70*, n. 1, p. 111-121, 2017.

LI, J.; SUN, F.; GUO, Y.; FAN, H. High-Salt Diet Gets Involved in Gastrointestinal Diseases through the Reshaping of Gastroenterological Milieu. *Digestion*, 99, n. 4, p. 267-274, 2019.

LYTE, M.; VULCHANOVA, L.; BROWN, D. R. Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa–bacteria interactions. *Cell and Tissue Research*, 343, n. 1, p. 23-32, 2011.

MARTINS, T. Cartilha para a alta hospitalar de pacientes com doença arterial obstrutiva periférica: uma tecnologia educativa. 2017.

MATHUR, R.; DUTTA, S.; VELPANDIAN, T.; MATHUR, S. R. Psidium guajava Linn. leaf extract affects hepatic glucose transporter-2 to attenuate early onset of insulin resistance consequent to high fructose intake: An experimental study. *Pharmacognosy Res*, 7, n. 2, p. 166-175, Apr-Jun 2015.

MATU, E. N.; VAN STADEN, J. J. J. o. E. Antibacterial and anti-inflammatory activities of some plants used for medicinal purposes in Kenya. 87, n. 1, p. 35-41, 2003.

MERCADANTE, A. Z.; STECK, A.; PFANDER, H. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): isolation and structure elucidation. *J Agric Food Chem*, 47, n. 1, p. 145-151, Jan 1999.

METWALLY, A. M.; OMAR, A. A.; HARRAZ, F. M.; EL SOHAFY, S. M. Phytochemical investigation and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. leaves. *Pharmacogn Mag*, 6, n. 23, p. 212-218, Jul 2010.

MONTELEONE, I.; MARAFINI, I.; DINALLO, V.; DI FUSCO, D. *et al.* Sodium chloride-enriched Diet Enhanced Inflammatory Cytokine Production and Exacerbated Experimental Colitis in Mice. *Journal of Crohn's and Colitis*, 11, n. 2, p. 237-245, 2017.

MORRISON, A. C.; NESS, R. B. J. A. r. o. p. h. Sodium intake and cardiovascular disease. 32, p. 71-90, 2011.

NASEER, S.; HUSSAIN, S.; NAEEM, N.; PERVAIZ, M. *et al.* The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience*, 4, n. 1, 2018.

O'DONNELL, M.; MENTE, A.; ALDERMAN, M. H.; BRADY, A. J. B. *et al.* Salt and cardiovascular disease: insufficient evidence to recommend low sodium intake. *European Heart Journal*, 41, n. 35, p. 3363-3373, 2020.

OJEWOLE, J. A. Hypoglycemic and hypotensive effects of *Psidium guajava* Linn. (*Myrtaceae*) leaf aqueous extract. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 27, n. 10, p. 689-

695, Dec 2005.

OJEWOLE, J. A. Antiinflammatory and analgesic effects of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 28, n. 7, p. 441-446, Sep 2006.

OKTAVIA, S. J. A. J. o. P. R.; DEVELOPMENT. Potential anti-inflammatory effects of *Psidium guajava* L.: A review. 9, n. 2, p. 47-52, 2021.

PUTNAM, S. E.; SCUTT, A. M.; BICKNELL, K.; PRIESTLEY, C. M. *et al.* Natural products as alternative treatments for metabolic bone disorders and for maintenance of bone health. 21, n. 2, p. 99-112, 2007.

QIN, Y.; LI, T.; LOU, P.; CHANG, G. *et al.* Salt intake, knowledge of salt intake, and blood pressure control in Chinese hypertensive patients. *J Am Soc Hypertens*, 8, n. 12, p. 909-914, Dec 2014.

RODRIGUES, S. L.; SOUZA JUNIOR, P. R.; PIMENTEL, E. B.; BALDO, M. P. *et al.* Relationship between salt consumption measured by 24-h urine collection and blood pressure in the adult population of Vitoria (Brazil). *Braz J Med Biol Res*, 48, n. 8, p. 728-735, Aug 2015.

S. FORDTRAN, J.; C. RECTOR, F.; W. CARTER, N. The mechanism of sodium absorption in the small intestine. 1968. 884-900 p.

SALGADO, C. M.; CARVALHAES, J. T. d. A. J. J. d. P. Hipertensão arterial na infância. 79, p. S115-S124, 2003.

SEO, N.; ITO, T.; WANG, N.; YAO, X. *et al.* Anti-allergic *Psidium guajava* extracts exert an antitumor effect by inhibition of T regulatory cells and resultant augmentation of Th1 cells. 25, n. 6A, p. 3763-3770, 2005.

STRAZZULLO, P.; LECLERCQ, C. Sodium. *Advances in Nutrition*, 5, n. 2, p. 188-190, 2014.

TAKASE, H.; MACHII, M.; NONAKA, D.; OHNO, K. *et al.* Excessive salt intake is a

significant predictor for future development of metabolic syndrome in the general population. *European Heart Journal*, 41, n. Supplement_2, 2020.

THENMOZHI, S.; RAJAN, S. J. J. P. P. GC-MS analysis of bioactive compounds in *Psidium guajava* leaves. 3, n. 5, p. 162-166, 2015.

THOME, A. L.; SUDIANA, I. K.; BAKAR, A. PSIDIUM GUAJAVA LEAVES COMPOUND AS ANTI-INFLAMMATION: SYSTEMATIC REVIEW. *Jurnal Natural*, 19, n. 3, p. 69-71, 2019.

TUBBS, A. L.; LIU, B.; ROGERS, T. D.; SARTOR, R. B. *et al.* Dietary Salt Exacerbates Experimental Colitis. *The Journal of Immunology*, 199, n. 3, p. 1051-1059, 2017.

VAN WYK, B.-E.; WINK, M. *Phytomedicines, herbal drugs, and poisons*. University of Chicago Press, 2015. 022620507X.

VERDU, E. F.; SCHUPPAN, D. J. N. s.; BIOLOGY, m. The enemy within the gut: bacterial pathogens in celiac autoimmunity. 27, n. 1, p. 5-7, 2020.

WANG, H.; LI, S.; FANG, S.; YANG, X. *et al.* Betaine Improves Intestinal Functions by Enhancing Digestive Enzymes, Ameliorating Intestinal Morphology, and Enriching Intestinal Microbiota in High-salt stressed Rats. *Nutrients*, 10, n. 7, p. 907, 2018.

WHO. Geneva: (Technical Report Series, 628). 2012.

WILCK, N.; MATUS, M. G.; KEARNEY, S. M.; OLESEN, S. W. *et al.* Salt-responsive gut commensal modulates TH17 axis and disease. *Nature*, 551, n. 7682, p. 585-589, Nov 30 2017.

YUGAR-TOLEDO, J. C.; MORENO JÚNIOR, H.; GUS, M.; ROSITO, G. B. A. *et al.* Posicionamento Brasileiro sobre Hipertensão Arterial Resistente 2020 %J Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 114, p. 576-596, 2020.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS PELOS QUAIS O EXTRATO DE FOLHA DE GOIABEIRA (*Psidium guajava* L.) PRODUZ SEUS EFEITOS ANTI-HIPERTENSIVOS EM RATOS SOB DIETA COM SOBRECARGA DE SAL A PARTIR DO DESMAME", protocolada sob o CEUA nº 8880090719 (ID 000245), sob a responsabilidade de **Leonardo Máximo Cardoso e equipe; Daiane Cristina de Assis Braga; Andréia Carvalho Alzamora; Jaqueline Aparecida de Souza; Flávio Eduardo Dias Araújo Freitas; Vagner Roberto Antunes** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Ouro Preto (CEUA/UFOP) na reunião de 20/09/2019.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE MECHANISMS BY WHICH THE GUAVA (*Psidium guajava*) LEAF EXTRACT PRODUCES ITS ANTI-HYPERTENSIVE EFFECTS IN RATS FED HIGH SODIUM DIET FROM WEANING. ", utilizing 1426 Heterogenics rats (1426 males), protocol number CEUA 8880090719 (ID 000245), under the responsibility of **Leonardo Máximo Cardoso and team; Daiane Cristina de Assis Braga; Andréia Carvalho Alzamora; Jaqueline Aparecida de Souza; Flávio Eduardo Dias Araújo Freitas; Vagner Roberto Antunes** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Ouro Preto Federal University (CEUA/UFOP) in the meeting of 09/20/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [09/2019](#) a [09/2024](#)

Área: [Ciências Biológicas](#)

Origem: [Centro de Ciência Animal](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [85 a 95 dias](#)

N: [1426](#)

Linhagem: [Wistar](#)

Peso: [300 a 400 g](#)

Local do experimento: Laboratório de Fisiologia Endócrina e Cardiovascular ICEB II, sala 46

Ouro Preto, 27 de outubro de 2020



Prof. Dra. Paula Melo de Abreu Vieira
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Ouro Preto



Prof. Dr. Leonardo Máximo Cardoso
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Ouro Preto