

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Avaliação radiológica da motilidade gástrica de ratos wistar,
submetidos à ação da eletroacupuntura e de extratos de
Rosmarinus officinalis.**

Taiane Rita Carnevali

Pelotas, 2012

TAIANE RITA CARNEVALI

**Avaliação radiológica da motilidade gástrica de ratos wistar, submetidos à
ação da eletroacupuntura e de extratos de *Rosmarinus officinalis*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Sanidade Animal – Clínica Médica de Pequenos Animais).

Orientador: Marlete Brum Cleff

Pelotas, 2012

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

C289a Carnevali, Taiane Rita

Avaliação radiológica da motilidade gástrica de ratos wistar, submetidos à ação da eletroacupuntura e de extratos de *Rosmarinus officinalis* /Taiane Rita Carnevali; orientador Marlete Brum Cleff. Pelotas, 2012.79f. : il..- Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Área de conhecimento Sanidade Animal-Clínica Médica de Pequenos Animais. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

1.Raio-X 2.Gastrointestinal 3.Ratos 4.Acupuntura 5.Órgãos
6.Topografia 7.Alecrim I.Cleff, Marlete Brum (orientador) II.
Título.

CDD 619.93

Banca examinadora:

Prof.^a Dra. Ana Raquel Mano Meinerz - UFPel

Prof.^a Dra. Fernanda Bastos de Mello - UFRGS

Prof. Dr. Rogério Antonio Freitag - UFPel

Prof. Dr. Mário Carlos de Araújo Meirelles - UFPel (suplente)

Prof.^a Dra. Marlete Brum Cleff - UFPel

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus, por me dar uma família maravilhosa e incentivadora, sem vocês minha trajetória com certeza não teria êxito. Pai, Mãe, mano e Everson, vocês foram, são e sempre serão essenciais na minha caminhada.

A minha orientadora, Prof^a. Marlete Brum Cleff, pela confiança, pela oportunidade, pela amizade e por todo empenho e compreensão depositados, fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Geferson, Prof. Schuch e Prof. Gilberto, pela paciência e orientação, além da realização das análises estatísticas deste trabalho.

A turma do Raio-X, em especial ao Prof. Carapeto e ao Téc. Eduardo, pela paciência e auxílio prestados durante todo experimento.

A amiga e Prof^a Stella Falkenberg Rausch, pela ajuda e pelos ensinamentos prestados durante a graduação e que perduram até hoje.

Ao meu amigo e colega M.V. acupunturista Fábio Silva da Silva, pela ajuda e amizade durante parte do experimento.

As estagiárias, o meu reconhecimento pela inestimável ajuda e comprometimento no desenvolvimento do trabalho, Marina, Anna e Júlia, o meu muito obrigado.

A CAPES, pela bolsa de estudo.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o meu mestrado, tanto de maneira profissional como pessoal. Acredito que cada um sabe a importância que tem para mim.

"... O mundo está nas mãos daqueles que tem a coragem de
sonhar e correr o risco de viver seus sonhos..."

Paulo Coelho

Resumo

CARNEVALI, Taiane Rita. **Avaliação radiológica da motilidade gástrica de ratos wistar, submetidos a ação da eletroacupuntura e de extratos de *Rosmarinus officinalis***. 2012. 79f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O tratamento das afecções gastrointestinais com o uso de métodos naturais, como a eletroacupuntura e a fitoterapia, vem se destacado mundialmente na medicina humana e animal. Assim, o trabalho teve como objetivos determinar a ação da eletroacupuntura e dos extratos aquoso e etanólico de *Rosmarinus officinalis* na motilidade gástrica de ratos wistar avaliados através de exame radiográfico, além de relatar um caso de *Situs Inversus Totalis* em um rato albino wistar, diagnosticado durante o experimento. Para avaliação da eletroacupuntura na motilidade gástrica, foram utilizados 24 ratos wistar, divididos em quatro tratamentos, sendo T1: eletroacupuntura nos pontos BP6 e E36; T2: eletroacupuntura em pontos falsos; T3: água destilada estéril e T4: metoclopramida. Foram administradas cinco esferas metálicas por animal e realizada radiografias seriadas a fim de acompanhar o tempo de esvaziamento gástrico nos diferentes tratamentos. Ao analisar o momento de saída das primeiras esferas, os animais do grupo T1 apresentaram uma média de 3,5h; no T2 a média foi maior que 6h, no T3 foi de 5,3h e no T4 observou-se média de 4,6h. A ação da eletroacupuntura foi comparável à ação da metoclopramida, que sabidamente aumenta o peristaltismo. Enquanto que a resposta do grupo Shan (T2) aproximou-se do grupo controle negativo. Na determinação da motilidade gástrica com uso de extratos aquoso e etanólico de *R. officinalis*, foram utilizados 48 ratos albinos, divididos em oito grupos, sendo grupo TE1: Extrato Etanólico 125mg/kg; grupo TE2: Extrato Etanólico 250mg/kg; grupo TE3: Extrato Etanólico 500mg/kg; grupo TA1: Extrato Aquoso 125mg/kg; grupo TA2: Extrato Aquoso 250mg/kg; grupo TA3: Extrato Aquoso 500mg/kg; grupo T4: Metoclopramida e grupo T5: Água destilada estéril. Após os tratamentos foram administradas cinco esferas metálicas por animal e realizada radiografias seriadas, de hora em hora, a fim de acompanhar o tempo de esvaziamento gástrico. Ao analisar a quantidade de esferas que saíram do estômago dos animais experimentais em até 3h, observou-se que houve diferença nos tratamentos, quanto ao numero de esferas eliminadas. Foram eliminadas 76,6% no TE1 (n=23), no TE2 60% (n=18), no grupo TE3 63,3% (n=19), no TA1 (n=14) 46,6%, no grupo TA2 50% (n=15) e, por fim, no grupo TA3 86,6% (n=26) enquanto nos grupos controle, (T4) foi de 100% (n=30) e T5 93,3% (n=28). Durante o estudo, diagnosticou-se através de exame radiográfico, um caso de *Situs Inversus Totalis* em rato albino, demonstrando todos órgãos do lado contrário a sua

posição fisiológica. Com isso, conclui-se que a eletroacupuntura nos pontos BP6 e E36, apresentaram aumento significativo do peristaltismo gástrico, diminuindo assim o tempo de esvaziamento. Além disso, os extratos aquoso e etanólico de *R. officinalis* diminuem a motilidade gástrica em ratos wistar. Sugerindo que estes podem ser uteis nos distúrbios de motilidade, entretanto novos estudos devem ser conduzidos a fim de determinar melhor esta ação. O relato de *Situs Inversus Totalis* chama a atenção para a importância deste tipo de diagnóstico a fim de retirar o animal da reprodução, já que não existem estudos suficientes para determinar o reflexo da afecção na sanidade dos animais.

Palavras-chave: Raio-X. Gastrointestinal. Ratos. Alecrim. Acupuntura. Órgãos. Topografia.

Abstract

CARNEVALI, Taiane Rita. **Radiological evaluation of gastric motility of Wistar rats, subjected to the action of electroacupuncture and extract of *Rosmarinus officinalis***. 2012. 79f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The treatment of gastrointestinal disorders using natural methods such as electroacupuncture and phytotherapy, has been deployed worldwide in human and veterinary medicine. Thus, the work was to determine the action of electroacupuncture and the aqueous and ethanol extracts of *Rosmarinus officinalis* on gastric motility of rats assessed by radiographic examination, in addition to reporting a case of *Situs Inversus Totalis* in a Wistar albino rat, diagnosed during the experiment. For evaluation of electroacupuncture on gastric motility, we used 24 Wistar rats, divided into four treatments, T1: electroacupuncture point E36 and BP6; T2: electroacupuncture in false stitches; T3: sterile distilled water and T4: metoclopramide. Five metallic spheres were administered per animal and performed serial radiographs to monitor the gastric emptying time in the different treatments. By analyzing the time of exit the first spheres, the animals of group T1 had an average of 3,5h; in T2 the average was greater than 6h; T3 was 5,3h and the T4 observed average of 4,6h. the action of electroacupuncture was comparable to the action of metoclopramide, which is known to increase peristalsis, whereas the response of the Sham group (T2) was close to the negative control group. In the determination of gastric motility with the use of aqueous and ethanol extracts of *R. officinalis*, were used 48 albino rats, divided into eight groups, group TE1: ethanolic extract 125mg/kg; group TE2: ethanolic extract 250mg/kg; group TE3: ethanolic extract 500mg/kg; group TA1: aqueous extract 125mg/kg; group TA2: aqueous extract 250mg/kg; group TA3: aqueous extract 125mg/kg; group T4: metoclopramide, and group T5: sterile distilled water. After the treatments were administered five metallic spheres per animal and performed serial radiographs, each hour, to monitor the gastric emptying time. By analyzing the amount of spheres that left the stomach of experimental animals up to 3h, it was observed that there was no difference in treatment, as to the number of spheres removed. Were eliminated 76,6% in TE1, in TE2 60% (n=18), in group TE3 63,3% (n=19), in TA1 (n=14) 46,6%, in group TA2 50% (n=15) and, finally, the group TA3 86,6% (n=26) while in the control groups (T4) was 100% (n=30) and T5 93,3% (n=28). During the study, was diagnosed by radiographic examination, a rare case of *Situs Inversus Totalis* in albino rat, showing

all the organs of the opposite side to its physiological position. Thus, it is concluded that electroacupuncture at points BP6 and E36, showed a significant increase of gastric peristalsis, reducing emptying time. In addition, the aqueous and ethanolic extracts of *R. officinalis* decrease gastric motility in rats. Suggesting that these may be useful in disorders of motility, however further studies should be conducted in order to better determine this action. The report of *Situs Inversus Totalis* draws attention to the importance of this type of diagnosis in order to remove the animal from the reproduction, as there are not sufficient studies to determine the reflection of the health condition of animals.

Key-words: X-ray. Gastrointestinal. Rats. Rosemary. Acupuncture. Organs. Topography.

Lista de Figuras

ARTIGO 1

- Figura 1 Representação gráfica da avaliação radiológica do esvaziamento gástrico de ratos wistar, submetidos a diferentes tratamentos..... 42

ARTIGO 2

- Figura 1 Representação gráfica da avaliação radiológica do esvaziamento gástrico de ratos wistar, submetidos a diferentes concentrações de extrato etanólico de *R. officinalis*..... 50
- Figura 2 Representação gráfica da avaliação radiológica do esvaziamento gástrico de ratos wistar, submetidos a diferentes concentrações de extrato aquoso de *R. officinalis*..... 51

ARTIGO 3

- Figura 1 Imagem radiográfica, em projeção ventrodorsal, de rato wistar acometido de *Situs Inversus Totalis*, demonstrando a localização das esferas armazenadas em estômago, no lado esquerdo da cavidade abdominal..... 62
- Figura 2 Foto do rato wistar, em decúbito dorsal, durante necropsia, acometido de *Situs Inversus Totalis*, demonstrando a localização inversa dos órgãos da cavidade torácica e abdominal..... 63

Lista de Abreviaturas

a.C: Antes de Cristo;
ANOVA: Análise de Variância;
BP6: Baço-pâncreas 6 – ponto do meridiano do baço-pâncreas;
CEEa: Comitê de Ética em Experimentação Animal;
CG: Cromatografia gasosa;
cm: centímetros;
COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal;
E36: Estômago 36 – ponto do meridiano do estômago;
g: grama;
Hz: Hertz;
IM: intramuscular;
IR: infravermelho;
IV: intravenoso;
IVAS: Sociedade Internacional de Acupuntura Veterinária;
Kg: quilograma;
KHz: quilohertz;
LSD: Least Square Difference;
m: metro;
mg: miligrama;
mL: mililitros;
MS: Espectometria de massas;
NAVA: Associação Nacional de Acupuntura Veterinária;
NMR: Ressonância magnética nuclear;
OMS: Organização Mundial de Saúde;
pH: Potencial Hidrogeniônico;
SNC: Sistema nervoso central;

TGI: Trato Gastrointestinal;

UFPel: Universidade Federal de Pelotas;

UV-VIS: ultravioleta visível;

v/v: volume/volume;

Sumário

Agradecimentos.....	3
Resumo.....	5
Abstract.....	7
Lista de Figuras.....	9
Lista de Abreviaturas.....	10
Sumário.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Anatomia e avaliação do trato gastrointestinal.....	15
2.2 Terapêutica das alterações funcionais do trato gastrointestinal.....	17
2.3 Acupuntura e eletroacupuntura.....	20
2.4 Plantas medicinais e extratos vegetais.....	23
2.5 Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>).....	27
3 ARTIGOS	
3.1 Efeito da eletroacupuntura na motilidade gástrica de ratos wistar avaliados por exame radiológico.....	31
3.2 Determinação radiológica da motilidade gástrica de ratos wistar sob efeito de extratos de <i>Rosmarinus officinalis</i>	43
3.3 <i>Situs Inversus Totalis</i> em rato wistar – relato de caso.....	58
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
5 PERSPECTIVAS.....	67
Referências.....	68
Apêndice.....	78

1 INTRODUÇÃO

Diferentes fatores e patologias interferem na motilidade do Trato Gastrointestinal (TGI) das espécies domésticas, causando aumento ou diminuição da mesma, como nos casos de diarreias, lesões inflamatórias, distúrbios metabólicos, obstruções gástricas e entéricas, estresse, dor, medo e até mesmo a ação de fármacos (BIRCHARD; SHERDING, 1998; TILLEY; SMITH, 2008).

Para diagnóstico de alterações do trato gastrointestinal, o exame radiográfico é o método mais indicado, principalmente por ser considerado econômico e não invasivo (OWENS; BIERLY, 1999). A avaliação radiográfica do TGI com o uso de contrastes iônicos, não iônicos ou baritados é o único exame que avalia a funcionalidade do sistema gastrointestinal, sendo o método de eleição para o mesmo, além de proporcionar a avaliação morfológica deste (KEALY; MCALLISTER, 2000). Entretanto, para a avaliação da motilidade gastrointestinal, outros métodos tem sido utilizados, como o uso de esferas plásticas (SUGAI et al., 2004; TABOSA et al., 2004), carvão ativado (FIGUEIREDO et al., 2005), e cânula duodenal (OUYANG et al., 2002), entre outros.

A terapêutica para os desequilíbrios da motilidade do TGI baseia-se na utilização de fármacos como laxantes, antidiarréicos e procinéticos, que apresentam inúmeros efeitos adversos (TILLEY; SMITH, 2008). Nesse contexto, se tem buscado alternativas mais naturais e menos invasivas para resolução destas alterações, incluindo uso de acupuntura e extratos vegetais.

A eficácia da acupuntura nos distúrbios gastrointestinais tem sido estabelecida, e inclui vários efeitos fisiológicos, como a regulação do fluxo sanguíneo, motilidade intestinal e de secreções (SCHOEN, 2006). Entretanto estes efeitos dependem de vários fatores entre eles da técnica utilizada. Existem muitas variações da técnica de acupuntura original, destacando-se a eletroacupuntura que

estimula os pontos de energia com corrente elétrica e parece ter resultados mais consistentes no contexto geral (OUYANG et al., 2002). Apesar do avanço no esclarecimento dos fundamentos científicos da acupuntura, novos estudos são necessários para que um número maior de animais possam fazer uso desta terapia (SALAZA; REYES, 2004; LEE; CHAN, 2006).

Em relação aos estudos com extratos vegetais estes têm sido desenvolvidos mais intensamente nas últimas décadas, em função de aspectos como o custo dos medicamentos; aumento de resistência dos patógenos e uma nova postura por parte da população, que busca medicamentos com menos efeitos colaterais e métodos naturais de tratamento (MARCHIORI, 2004).

Dentre as inúmeras plantas com conhecidos efeitos farmacológicos, destaca-se o *Rosmarinus officinalis* (alecrim), que tem seu uso difundido entre as populações com uma amplitude de indicações (AL-SEREITI et al., 1999; WYNN; FOUGÈRE, 2007). A ação do *R. officinalis* no trato gastrointestinal inclui efeito relaxante da musculatura lisa, colerético, hepatoprotetor e anti-espasmódico (AL-SEREITI et al., 1999).

Assim, diante de novas perspectivas para o tratamento das alterações da motilidade do TGI, objetivou-se com este estudo determinar a ação da eletroacupuntura e extratos aquoso e etanólico de *R. officinalis* na motilidade gástrica de ratos wistar avaliados através do exame radiográfico, assim como relatar um caso de *Situs Inversus Totalis* diagnosticado em um dos animais experimentais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Anatomia e avaliação do trato gastrointestinal

Na maioria dos animais, o estômago localiza-se na parte cranial do abdome, numa posição imediatamente caudal ao fígado, sendo o local onde ocorre o armazenamento dos alimentos e posterior digestão química (ETTINGER; FELDMAN, 2004). Encontra-se a esquerda da linha média, e sua grande curvatura está voltada caudal e ventralmente, enquanto sua pequena curvatura está voltada cranial e dorsalmente (ETTINGER; FELDMAN, 2004). O órgão é composto por três camadas sendo a mucosa, muscular e serosa, e dividido em duas porções, proximal e distal.

Nos ratos (*rattus norvegicus*), o estômago apresenta-se como um tubo dilatado, modificado, que tem semelhança morfológica externa com o estômago humano, mas, internamente observa-se na superfície da mucosa de ambas as faces do estômago a prega limitante, a qual separa o estômago em duas regiões distintas, região glandular e aglandular (SANTOS et al., 2010; SANTORUM et al., 2010). A região glandular apresenta um túnica serosa delgada e uma túnica muscular bem desenvolvida, formada por uma camada circular evidente e uma camada longitudinal delgada (SANTOS et al., 2010) que induz a mistura mecânica e a quebra dos alimentos (CLEBIS et al., 2004 e ALVES et al., 2009). Já a região aglandular possui um epitélio de revestimento do tipo escamoso estratificado queratinizado (ALVES et al., 2009; SANTOS et al., 2010; SANTORUM et al., 2011), semelhante ao epitélio esofágico (SANTOS et al., 2010), sendo que a importância funcional não está totalmente elucidada, sendo atribuídas as funções de digestão inicial dos alimentos, de armazenamento e absorção de íons por meio de atividade mecânica (ALVES et al., 2009).

O sistema nervoso entérico é formado por uma rede de neurônios, situados nas paredes das vísceras, estendendo-se desde o esôfago até a porção final do intestino grosso. Este sistema divide - se em dois plexos, externo situado entre as camadas circular interna e longitudinal externa, denominado plexo mioentérico ou plexo de Auerbach, que controla os movimentos gastrointestinais, e o plexo interno denominado plexo de Meissner, localizado na submucosa, responsável pelo controle do fluxo sanguíneo e secreção epitelial local (ALVES et al., 2009; SANTOS et al., 2010).

As afecções do trato gastrointestinal ocorrem devido a alterações morfológicas, neurológicas, infecciosas ou metabólicas (ETTINGER; FELDMAN, 2004), destacando-se os distúrbios que interferem na motilidade, que são aqueles em que há o esvaziamento gástrico acelerado, trânsito retrógrado ou esvaziamento gástrico retardado (STEINER, 2008).

Existem algumas técnicas para avaliação da motilidade gástrica, como exame radiográfico, exame ultrassonográfico e a cintilografia. Entretanto, as técnicas radiográficas contrastadas são as comumente usadas para o diagnóstico dos distúrbios da motilidade gástrica, pois o abdome é uma cavidade que possui reduzido contraste entre seus órgãos, e na maioria das vezes não pode ser diferenciada radiograficamente, necessitando assim, o uso de meios de contraste para permitir a avaliação da superfície luminal dos órgãos (OWENS; BIERDY, 1999; HALL; SIMPSON; WILLIAMS, 2005).

Os meios de contraste utilizados podem ser iônicos, não iônicos ou baritados, e são divididos em negativos ou positivos, os quais são mais radioluscentes ou mais radiopacos respectivamente, quando comparados aos tecidos moles na avaliação radiográfica (OWENS; BIERDY, 1999). Os meios de contraste negativos são os gasosos, e embora eles possam ter um número atômico semelhante ou superior quando comparados aos tecidos moles, eles aparecem radioluscentes, devido a sua baixa densidade, e são comumente usados para avaliar a posição de órgãos como o estômago, porém, não fornecem informações funcionais. Os meios de contraste positivo possuem um número atômico maior que os tecidos moles e, portanto, absorvem mais fótons, resultando em um aumento da opacidade radiográfica. A exemplo dos meios de contraste positivo tem-se o sulfato de bário, o qual é inerte,

palatável, não possui potencial osmótico e apresenta um bom revestimento de mucosa, o que faz com que seja o meio de contraste de eleição para estudos morfológicos e de funcionalidade do trato gastrointestinal (OWENS; BIERDY, 1999; HALL; SIMPSON; WILLIAMS, 2005).

Alguns autores têm avaliado a motilidade gastrointestinal, utilizando estruturas como esferas plásticas, carvão ativado, cânula duodenal, entre outros, administrados por via oral, e verificando a localização anatômica destes após utilização de diferentes tratamentos (SUGAI et al., 2004; TABOSA et al., 2004).

2.2 Terapêutica das alterações funcionais do TGI

O plano de tratamento para as alterações gastrointestinais compreende a terapêutica mais específica possível diante da alteração funcional apresentada pelo paciente. Em geral, o tratamento dos distúrbios da motilidade baseia-se no uso de terapia com pró-cinéticos e dietas com baixo teor de gordura e altamente digestíveis. Agonistas dopaminérgicos, como por exemplo, a metoclopramida; antagonistas de histamina como ranitidina e nizatidina, cisaprida e eritromicina tem sido utilizados nas diferentes afecções (BIRCHARD; SHERDING, 1998; STEINER, 2008; TILLEY; SMITH, 2008).

Os antieméticos e procinéticos têm sua melhor indicação nos casos de alterações de motilidade, refluxo gastro-esofágico, dificuldade de digestão, entre outros, sendo que os fármacos mais utilizados são a metoclopramida, domperidona, bromoprida, eritromicina e os antagonistas 5HT3 como ondansetron e alosentron (MOAYYEDI et al., 2003; TACK; BISSCHOPS; SARNELLI, 2004).

Em veterinária destaca-se o uso da metoclopramida, que é um antagonista dopaminérgico de nível central e periférico, parecendo também possuir efeitos colinérgicos. Efeitos adversos, contudo, como ansiedade, fraqueza, sonolência, inquietação, sintomas extrapiramidais, galactorreia e ginecomastia, muitas vezes limitam o seu uso (MOAYYEDI et al., 2003; TACK; BISSCHOPS; SARNELLI, 2004; ANDRADE, 2008).

Outro fármaco muito utilizado tem sido a bromoprida, que possui eficácia semelhante à metoclopramida, entretanto também apresenta efeitos colaterais, como sonolência, cefaleia, calafrios, astenia e inquietação. Dos macrolídeos, o principal representante é a eritromicina, cujo efeito procinético se deve à estimulação dos receptores de motilina e também a efeitos colinérgicos, o efeito em longo prazo tem sido discutido, havendo evidências que a ação terapêutica tende a decair com a continuidade do uso, sendo que a dose deve ser individualizada para cada paciente (MOAYYEDI et al., 2003; TACK; BISSCHOPS; SARNELLI, 2004; ANDRADE, 2008).

Nas enfermidades em que há aumento de acidez gástrica, como na dispepsia funcional, tipo úlcera, indica-se o uso de antiácidos, bloqueadores dos receptores H₂ da histamina e os inibidores da bomba de prótons (MOAYYEDI et al., 2003; TACK; BISSCHOPS; SARNELLI, 2004;). Os principais representantes dos bloqueadores dos receptores H₂ são a cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina, sendo eficientes redutores da acidez gástrica, destacando-se o uso de cimetidina na clínica veterinária (ANDRADE, 2008).

Os inibidores da bomba de prótons, como omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol e esomeprazol, estão disponíveis para uso humano, entretanto em medicina veterinária destaca-se o uso do omeprazol, que atua inibindo a bomba de hidrogênio, bloqueando assim a secreção ácida do estômago (ANDRADE, 2008). Como efeitos adversos podem ocorrer anorexia, vômito, flatulências, diarreia, alterações hematológicas, infecções urinárias, proteinúria e distúrbios do Sistema Nervoso Central (SNC) (VIANA, 2007).

Nos casos de constipação, o tratamento envolve a terapia específica necessária para a correção da sua causa. Na maioria dos pacientes, entretanto, são utilizados as fibras alimentares, laxantes, agentes osmóticos, lubrificantes, além dos estimulantes químicos da motilidade (SWEENEY, 1997; SCHAEFER; CHESKIN, 1998; ANDRADE, 2008).

Os laxantes são substâncias que aumentam a motilidade intestinal através do estímulo dos plexos mioentéricos do cólon (SCHAEFER; CHESKIN, 1998). São geralmente usados em tratamento de curta duração ou na abordagem inicial de um paciente com constipação crônica de mais difícil controle. Tem sido relatado que o

uso crônico de laxantes pode levar a lesão dos plexos mioentéricos, resultando em dismotilidade do cólon (SCHAEFER; CHESKIN, 1998).

Outro grupo de fármacos utilizados são os agentes osmóticos, que retiram a água através da mucosa do cólon e da luz intestinal por osmose fluidificando as fezes. Os sais de magnésio têm sido extensivamente usados e são relativamente seguros, mas o aumento do nível de magnésio no sangue pode ocorrer em pacientes com função renal diminuída (ANDRADE, 2008). Os açúcares inabsorvíveis como a lactulose ou sorbitol ou manitol, também com propriedades osmóticas podem ser benéficos, entretanto apresentam como inconveniente o risco de desenvolvimento de distensão e flatulência devido à fermentação destes açúcares pelas bactérias do cólon, além de interferirem com a digestão e absorção de nutrientes (ANDRADE, 2008).

Os estimulantes químicos são derivados do polifenol e incluem a fenolftaleína e o bisacodyl. Estes frequentemente causam cólicas abdominais e não devem ser administrados por períodos prolongados, além de doses progressivamente maiores passam a ser necessárias para iniciar a evacuação. O bisacodyl atua no intestino delgado e é absorvido pelo organismo, enquanto a fenolftaleína é pouco absorvida e sua ação é primariamente no cólon. Ambas induzem a passagem de líquidos e eletrólitos da parede do cólon para o lúmen. Efeitos colaterais incluem reações alérgicas cutâneas e reações neurológicas. Especial atenção deve ser dada à fenolftaleína contida em laxantes, pois esta substância tem sido associada a fotossensibilidade, dermatites e síndrome de Stevens-Johnson em humanos, sendo proibido a comercialização em alguns países devido a esses efeitos (SCHAEFER; CHESKIN, 1998).

Em virtude dos efeitos adversos apresentados pelos fármacos de uso tradicional nas alterações do TGI e da resistência e/ou refratariedade estabelecida frente a alguns grupos, novas opções de tratamento para distúrbios do Trato Gastrointestinal tem sido pesquisadas, destacando-se o uso da acupuntura e de extratos vegetais.

2.3 Acupuntura e eletroacupuntura

A acupuntura é praticada há milênios, sendo reconhecida e aceita como tratamento para diversas enfermidades. Acredita-se que a prática da acupuntura seja de pelo menos 4000 anos dentro da medicina tradicional chinesa, a qual utiliza agulhas finas, de aço inoxidável, inseridas em pontos específicos através da pele, chamados pontos de acupuntura ou acupontos (YIN; CHEN, 2010).

A técnica tem sido utilizada na medicina veterinária ocidental há muito tempo, entretanto somente na década de 70 passou a ser mais bem difundida, sendo que em 1973 foi fundada a Associação Nacional de Acupuntura Veterinária (NAVA) e posteriormente, em 1974, a Sociedade Internacional de Acupuntura Veterinária (IVAS), e somente 10 anos depois, em 1986, foi organizado o Primeiro Simpósio Internacional de Acupuntura Veterinária em Beijing (LÓPEZ; BUENDIA, 1990; LOONEY, 2000). A acupuntura na clínica veterinária moderna tem sido utilizada de forma integrada com os métodos tradicionais de tratamento, devido à existência cada vez maior de especialistas na área, somado a proprietários bem informados e que buscam novas possibilidades de tratamento para seus animais de estimação.

A acupuntura visa, por meio de diferentes técnicas, estimular os pontos reflexos com propriedades de restabelecer o equilíbrio, alcançando assim resultados terapêuticos. Segundo a teoria da acupuntura, todas as estruturas do organismo encontram-se originalmente em equilíbrio, pela atuação de energias Yin (negativas) e Yang (positivas). Assim sendo, se as energias Yin e Yang estiverem em harmonia, o organismo estará em estado de saúde, por outro lado, um desequilíbrio desencadeará a doença (SCHOEN, 2006).

A acupuntura convencional, também chamada de acupuntura manual, envolve a manipulação das agulhas, inseridas a mão em pontos pré-determinados (YIN; CHEN, 2010), enquanto a eletroacupuntura estimula os acupontos através de corrente elétrica, sob diferentes intensidades e frequências, e parece ter resultados reproduzíveis de forma mais consistente (LI et al., 1992). O estímulo de certos pontos induz a liberação de substâncias, como o cortisol e endorfinas, promovendo analgesia, além de regular e normalizar as funções orgânicas. Pode ainda, alterar a circulação sanguínea na região, promover o relaxamento muscular, diminuir o espasmo, a inflamação e a dor (SCHOEN, 2006).

A eletroacupuntura foi usada pela primeira vez na China, na década de 1930 e foi investigada com mais critério na década de 1950, juntamente com o desenvolvimento da anestesia por acupuntura. A técnica tornou-se popular na década de 1970, na medicina humana, e atualmente é amplamente usada para tratar dor e transtornos físicos e indução de analgesia em procedimentos cirúrgicos (SCHOEN, 2006). A quantidade e a qualidade da estimulação podem ser reguladas e medidas de maneira mais uniforme e objetiva, ajustando-se a amplitude e frequência da corrente, ao contrário da estimulação manual com agulhas (SCHOEN, 2006).

Inúmeras são as alterações fisiológicas produzidas pela eletroacupuntura, e incluem alteração nos níveis de leucócitos, respostas imunológicas e atividade fagocitária, além de alterações na contração uterina e motilidade gastrointestinal, entre outras (YAMAMURA, 2002).

Segundo Yamamura, (2002) os resultados obtidos pela eletroacupuntura são influenciados pelo estímulo que é feito no acuponto, e, dependem da intensidade, duração e frequência do estímulo. As frequências abaixo de 15Hz (2 a 3 Hz), e amplitude baixa, são utilizadas para tonificar o ponto de acupuntura, enquanto as frequências acima de 15Hz (25 a 150 Hz) e alta amplitude, são utilizadas para sedação (SCHOEN, 2006). As baixas frequências em torno de 2Hz, aceleram a liberação central de encefalina, além de β -endorfina no cérebro, promovendo efeito na atividade visceral, enquanto altas frequências (100 Hz), induzem a liberação de dinorfina na medula espinhal (YAMAMURA, 2002).

A estimulação dos pontos de acupuntura apresenta vários efeitos no trato gastrointestinal, incluindo a regulação do fluxo sanguíneo, motilidade intestinal e secreções (LI et al., 1992; BALESTRINI et al., 2005; SCHOEN, 2006; TAKAHASHI, 2009). Conforme TABOSA e colaboradores, (2004), os pontos Sanyinjiao (BP6) e Zusanli (E36) de acupuntura, apresentam ação efetiva na motilidade do trato gastrointestinal, entretanto, a localização deste é de suma importância para o efeito do tratamento. O ponto BP6 está localizado a 3 cm proximalmente à ponta do maléolo medial, caudalmente à borda tibial e cranialmente à cabeça lateral do músculo flexor digital profundo, enquanto o E36 está localizado a 1cm lateralmente

ao aspecto distal e craniolateral da crista tibial, sobre o músculo tibial cranial (SCHOEN, 2006).

Estudo com ratos demonstrou que as contrações gástricas na região pilórica foram inibidas pela aplicação de acupuntura ao longo do abdome e região inferior do tórax, e as contrações aumentaram com a manipulação da agulha em pontos ao longo dos membros (SATO et al., 1993). Ao avaliar as contrações gástricas de roedores através de um medidor de tensão, Tatewaki et al. (2003), relataram que a acupuntura manual no ponto E36, induziu duplo efeito, estimulando contrações gástricas em ratos com hipomotilidade e inibindo contrações gástricas em ratos com hiperomotilidade, sendo o efeito estimulador provavelmente mediado por via vagal e opióides endógenos. Já Takahashi, (2009) ao estimular o ponto E36 observou aumento da secreção ácida nos animais experimentais. Em um outro estudo, com ratos sob estresse induzido por restrição alimentar. Yin; Chen, 2010, demonstraram melhora no esvaziamento gástrico de sólidos quando o ponto E36 foi estimulado por eletroacupuntura,

Por fim, Tatewaki, et al. (2003) estimulou o ponto E36 e obteve um aumento do trânsito colônico e um estímulo da motilidade do cólon distal em ratos conscientes, mediado através da ativação do núcleo de Barrington e dos nervos periféricos da pelve. Além disso, Tabosa, et al. (2004), demonstrou que a eletroacupuntura nos membros de ratos, nos pontos E36 e BP6, aumentou significativamente o trânsito do intestino grosso, o qual foi mensurado através da contagem de esferas plásticas. Estes estudos tem demonstrado a importância na escolha dos pontos em função da ação desejada.

Entretanto, apesar das pesquisas elucidarem alguns dos mecanismos de ação da acupuntura, a maioria dos seus efeitos e vias de ação não estão totalmente esclarecidos (MAYER, 2000), sendo necessários maiores estudos experimentais e clínicos (YAMAMURA, 2002). Os métodos de estudos clínicos utilizando grupos de animais tratados e controle torna-se importante para avaliar a eficácia desta técnica, sendo necessário também, o desenvolvimento de metodologias para avaliação dos efeitos da técnica de acupuntura sobre o TGI, pois os trabalhos desenvolvidos até o momento exigem a vivisseção dos animais, a fim de localização dos materiais utilizados para marcar o deslocamento no TGI (TATEWAKI et al. 2003; TABOSA et al., 2004). Assim, a busca por técnicas que avaliem o trânsito gastrointestinal sem a

necessidade da eutanásia são imperativas. Pois poderá ser transferida para uso em animais de companhia, que estejam recebendo a acupuntura como forma terapêutica.

2.4 Plantas medicinais e extratos vegetais

O uso e o cultivo de plantas medicinais datam de 3000 a.C., estima-se que em torno de 2700 a.C. ocorreu o primeiro estudo sistemático acerca das plantas medicinais (DAVID; DAVID, 2002), seguido pelo Tratado de Matéria Médica, que mencionou em torno de 500 drogas de origem vegetal, incluindo uso terapêutico de algumas plantas (MARTINS et al., 2000).

O conhecimento das propriedades medicinais das plantas, obtido ao longo dos tempos de forma empírica, tem se perpetuado por transmissão, de geração a geração, o que, eventualmente, pode resultar em perda de informações importantes (ARAÚJO; HENRIQUES, 1984), destacando, assim, a importância da pesquisa sistemática destes recursos vegetais. Por outro lado, a falta de informação e o mau uso das plantas medicinais podem levar a intoxicação ou ainda o insucesso do tratamento (CARVALHO, 2001; MARINHO et al., 2007). Além disso, há uma tendência mundial para intensificação dos estudos com extratos vegetais, que foi influenciada pelo reconhecimento da Organização Mundial de Saúde (OMS), na Conferência de Alma Ata em 1978, da importância das plantas na saúde pública, recomendando a propagação do uso das plantas medicinais regionais como uma maneira de diminuir custos dos programas de saúde (YAMADA, 1998).

É conhecido também, que com os avanços científicos, o uso das plantas medicinais perdeu espaço para os medicamentos sintéticos, entretanto, o alto custo destes fármacos, a dificuldade de acesso da maioria da população a estes e os efeitos colaterais apresentados, vêm impulsionando a busca de novas moléculas de origem vegetal, sendo necessária a intensificação de estudos acerca da biodiversidade, a preservação destas espécies, em especial daquelas com atividade biológica (SCHVARTSMAN, 1990; CALIXTO, 2005; MARINHO et al., 2007).

Em contraste, ao desenvolvimento de fármacos sintéticos que requerem altos investimentos e vários anos de pesquisa até chegarem ao mercado, a produção de

fitoterápicos demanda consideravelmente menos dinheiro e um tempo menor nas pesquisas, e pode ser perfeitamente possível em países, como o Brasil (CALIXTO, 2000). Estima-se que cerca de 25% dos fármacos empregados nos países da Europa, Alemanha e Estados Unidos advêm, direta ou indiretamente, de plantas medicinais (CARVALHO, 2011).

Em medicina veterinária o cenário não é diferente da medicina humana. Comunidades isoladas, pequenos agricultores e proprietários de pequenos animais, dependem muito do uso de plantas medicinais no tratamento de enfermidades dos animais. De qualquer maneira, mesmo se estes estivessem disponíveis, muitos criadores e proprietários não tem condições de pagar pelos serviços ou comprar os medicamentos (MARINHO et al., 2007).

Outro fato de extrema importância são os resíduos deixados pelos medicamentos alopáticos nos produtos de origem animal, o que tem sido cada vez mais recriminado pelo mercado consumidor (ANDRADE, 2008). Com isso, diferentes extratos de plantas utilizadas na medicina popular têm sido testados com comprovada eficácia terapêutica (MARINHO et al., 2007).

A obtenção dos extratos vegetais pode ser feita através de diferentes metodologias de extração. O extrato bruto de plantas frescas ou secas, ou partes de plantas como flores, folhas e raízes, é obtido por diferentes processos de extração, sendo o ponto de partida para a descoberta e o isolamento de substâncias bioativas.

As técnicas convencionais de extração mais utilizadas são a decocção, percolação, maceração e extração por Soxhlet. Entretanto, tais técnicas necessitam de períodos longos de extração e, em alguns casos, o uso de aquecimento, como na extração por Soxhlet, pode ocasionar degradação de substâncias naturais termicamente instáveis presentes no material vegetal (JIANYONG et al., 2001; VINATORU, 2001; SCHINOR et al., 2004; MELECCHI et al., 2006).

A técnica de extração por maceração são realizadas, sob temperaturas variáveis durante um período prolongado, de horas a dias, utilizando agitação ocasional, e sem renovação do líquido extrator, objetivando, essencialmente, o aumento de eficiência de extração (LUCAS, 2011). Apresenta como desvantagens a demora no processo, a impossibilidade de extrair totalmente os princípios ativos e a

possibilidade de contaminações, quando se emprega solventes com grande quantidade de água (MELECCHI, 2005).

Na técnica de extração por Soxhlet utilizam-se solventes voláteis a fim de extrair sólidos através do aparelho ou extrator de Soxhlet. A cada ciclo o material vegetal entra em contato com o solvente renovado, possibilitando uma extração altamente eficiente, com uma quantidade reduzida de solvente, em comparação com as quantidades necessárias em outros processos extrativos (LUCAS, 2011), porém apesar de ser muito utilizado, apresenta restrição devido ao elevado tempo de extração, que pode variar de 1 a 72 horas (MELECCHI, 2005).

Métodos não convencionais, como ultrassom, fluído supercrítico, lixiviação, entre outros, têm sido descritos em muitos trabalhos de extração e isolamento de componentes bioativos de materiais vegetais, incluindo o alecrim (GENENA et al., 2008).

A extração com ultrassom é semelhante a maceração, porém, é um método que utiliza as ondas sonoras que são transmitidas em frequência superior a da capacidade auditiva, acima de 20 KHz, essas ondas, criam uma variação na pressão do líquido empregado no processo, gerando cavitação (MELECCHI, 2005). Apresenta como benefícios a redução do tempo de extração, a melhora na eficiência com aumento do rendimento, utilização de temperaturas baixas evitando danos térmicos ao extrato, perda de componentes voláteis e economia no volume de solvente. (SALISOVÁ et al., 1997; VALACHOVIC et al., 2001; MELECCHI et al., 2006).

Na lixiviação ou percolação em fluxo contínuo à temperatura ambiente, utiliza-se um processo onde existe a renovação constante da solução extratora (solução hidroalcoólica a 80% v/v) durante um período de 24 horas (ALVES et al., 2008).

A qualidade da matéria-prima vegetal é a determinante inicial da qualidade do extrato ou do fitoterápico. Inúmeros trabalhos têm estudado os parâmetros de qualidade das plantas medicinais e seus derivados (CALIXTO et al., 2006; CARVALHO et al., 2006).

Para a avaliação química ou da qualidade e rendimento dos extratos vegetais, diversos métodos podem ser aplicados. A identificação dos extratos pode ser

realizada com ou sem reação química através de aplicação de reagentes específicos para o grupo da substância pesquisada (CARVALHO et al., 2006). Os principais métodos utilizados são a cromatografia gasosa e líquida, além dos métodos espectroscópicos, como: ultravioleta visível (UV-VIS), infravermelho (IR), ressonância magnética nuclear (NMR) e espectrometria de massas (MS) (MELECCHI, 2005).

Um dos primeiros métodos a ser utilizado foi a cromatografia de papel, que caracteriza-se por ser simples e econômico, e o princípio da técnica se baseia na imagem que um extrato vegetal deixa ao ascender por uma tira de papel de filtro de dimensões e características especificadas (MELECCHI, 2005).

A cromatografia em camada delgada é comumente, empregado uma vez que fornece dados para a identificação de matérias-primas vegetais e de tinturas, extratos, óleos voláteis, entre outros. Além disso, permite inferência a respeito da pureza do material, é um processo rápido, de fácil execução, e tem custo acessível (WAGNER; BLADT, 1996; ROCHA, 2000).

A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica com poder de resolução excelente, empregada para compostos voláteis, possibilitando a análise de várias substâncias em uma mesma amostra. Dependendo do tipo de substância a ser analisada e do detector empregado, consegue-se detectar cerca de 10^{-12} g do composto mL⁻¹ de solução. Essa sensibilidade permite que pequenas quantidades de amostra possam ser analisadas (PERES, 2002).

A composição química das plantas é influenciada por fatores climáticos, altitude, condições e características de solo, da parte da planta analisada, do tipo de extrato, além das condições de cultivo e estocagem entre outros fatores, que serão determinantes na formação de compostos nas diferentes porções das plantas (SIMÕES et al., 2003). Entretanto alguns componentes se mantêm na forma qualitativa variando apenas em quantidade, sendo estes princípios ativos que identificam a planta.

No caso do alecrim (*R. officinalis*), muitos compostos têm sido isolados, como flavanóides diterpenos, esteroides, e triterpenos. O óleo essencial é rico em terpenos, destacando-se borneol, pineno, cineol, canfeno, eucaliptol, acetato de isobornila, valerianato de isonila e cânfora. Outros compostos descritos são

saponinas, ácidos cítrico, glicólico, glicínico, rosmarínico e nicotinamida (TESKE; TRENTINI, 2001).

2.5 Alecrim (*Rosmarinus officinalis*)

Rosmarinus officinalis L. (alecrim) pertence a divisão angiospermae; classe dicotyledoneae; sub-classe asteridae; ordem solanales; sub-ordem verbeninae; família lamiaceae; gênero *Rosmarinus*. A planta tem como sinonímia popular alecrim-comum, alecrim-de-jardim, alecrim-de-horta, rosmarinho, erva-coada, erva-da-graça, flor-de-olimpico, rosa-marinha, rosmarino. (HERTWING et al., 1991; CORREA et al., 1998; MARCHIORI, 2004; LORENZI; MATOS, 2006).

A planta é originária da região do mediterrâneo, sendo cultivada em todos os países de clima temperado, cresce espontaneamente em terrenos rochosos e arenosos do litoral de países do Mediterrâneo, como Espanha, Itália, Grécia, Norte da África, Turquia, Líbano e Egito, e eventualmente, em outras regiões com até 1.500 metros de altitude como no centro e sul de Portugal, Ilhas Canárias, Ilha dos Açores e da Madeira (HERTWING et al., 1991).

O alecrim tem boa produção foliar em regiões de dias longos com boa luminosidade, porém não se adapta bem a invernos rigorosos e duradouros, e ventos fortes. A planta tende a aumentar sua altura quando as temperaturas noturnas não são muito baixas, enquanto altas umidades atmosféricas e climas muito frios reduzem sua qualidade aromática (HERTWING et al., 1991). Apresenta-se de forma semi-arbustiva, perene, lenhoso, ramificado, e sua altura oscila entre 50cm a 2m. As folhas são lineares, estreitas, com bordos recurvados ou enrolados para dentro ao longo da nervura central. A parte superior da folha é verde rugosa e a parte inferior contém finos pêlos, de cor esbranquiçada e brilhante. As flores estão dispostas em pequenos cachos e possuem cor azul-violeta, branca ou rosa (HERTWING et al., 1991; CORRÊA et al., 1998).

Os efeitos terapêuticos do *Rosmarinus officinalis* (alecrim) vêm sendo comprovados em vários estudos, isto devido ao seu alto potencial antimicrobiano e sua baixa toxicidade, assim sugerida em modelos experimentais (MARCHIORI, 2004). A ação antimicrobiana do alecrim, tanto na forma de extratos como de óleo

essencial, tem sido avaliada principalmente em bactérias e em leveduras (CELIK TAS et al., 2007; HUSSAIN et al., 2009).

O extrato aquoso foliar de *R. officinalis* L. apresentou eficácia antibacteriana na desinfecção de material contaminado com *Enterococcus faecalis* (JÚNIOR et al., 2009), assim como o extrato etanólico foi efetivo frente ao *Clostridium perfringens* (LUCARINI et al., 2008). Além disso, (SOUSA; CONCEIÇÃO, 2007) em seus estudos, comprovou que o decocto e soluções aquosas e alcoólicas de *Rosmarinus officinalis* têm potencial para composição de anti-sépticos ou desinfetantes frente aos agentes Gram positivos.

Os compostos isolados do alecrim também tem sido alvo de estudos, segundo a literatura, o ácido rosmarínico possui inúmeras propriedades biológicas como: antiviral, antibacteriano, antiinflamatório e antioxidante, sendo que na planta, o ácido rosmarínico promove a ação de defesa (PETERSEN; SIMMONDS, 2003).

Segundo Huang et al., (1994), o ácido ursólico e o carnosol presentes no extrato metanólico de folhas de alecrim foram os responsáveis por redução de até 99% dos tumores de pele de camundongos. Em outro trabalho, os pesquisadores compararam a atividade antioxidante e anti-carcinogênica do carnosol e outros componentes extraídos do alecrim e sugeriram que os mesmos possuem mecanismos antiinflamatórios e ação quimioprotetora devido a supressão da produção de óxido nítrico (ALVES et al., 2008).

No trabalho de Abe e colaboradores (2002), demonstrou-se que os triterpenos como os ácidos betulínico, oleanólico e ursólico, isolados do extrato metanólico de alecrim, apresentaram efeito “*in vitro*” sobre o *Trypanosoma cruzi*. Sendo que o ácido ursólico (40µg/mL) demonstrou maior efeito inibidor da motilidade do parasita em seu estágio de epimastigota, enquanto que o ácido oleanólico apresentou baixa atividade mesmo com concentração maior de extrato (250µg/mL), e o ácido betulínico não causou inibição no protozoário em nenhuma concentração. Fonseca et al. (2009) demonstraram que o óleo essencial de alecrim apresentou atividade fungicida e fungistática *in vitro*, em isolados de dermatófitos de animais.

Em compensação, Martin et al. (2004), confirmaram que o extrato aquoso de *Rosmarinus officinalis* L. na dose de 200mg/kg tem efeito diurético e na dose de

400mg/kg, tem efeito antipirético em ratos. Além disso, trabalhos tem demonstrado ação do ácido rosmarínico como anti-inflamatório em edema induzido em ratos, devido provavelmente a inibição da ativação do fator C3 do complemento (HOPIA, 1996).

Os estudos sobre os efeitos biológicos do *Rosmarinus officinalis* no trato gastrointestinal, porém, Taddei, et al. (1988) demonstraram que o óleo de alecrim 1,8 cineol e o acetato de borneol apresentaram ação espasmolítica em músculos lisos do coração, do intestino e da traquéia de cobaias. No íleo de cobaias, essa ação foi atribuída ao antagonismo da acetilcolina através do borneol, já em átrios de cobaias a ação foi atribuída ao componente pineno, o qual tem função contrátil. Já Aqel (1991), demonstrou que o óleo de alecrim inibiu as contrações do músculo liso traqueal de coelhos e cobaias, induzido pela acetilcolina e histamina respectivamente. Em contrapartida, Al-Sereiti, et al. (1999), descreveram que o extrato aquoso de folhas de alecrim inibiu as contrações espontâneas do jejuno de coelhos, além da inibição das contrações induzidas por histamina, acetilcolina e cloreto de bário. Os resultados alcançados com uso de óleos essenciais, nas doses de 1 mL/kg, administradas via oral para leitões demonstraram que os óleos essenciais de orégano e alecrim não preveniram as diarreias neonatais dos leitões (LUCHESE; CECIM, 2011).

Segundo a medicina popular o *R. officinalis*, tem ação colerética, o que foi parcialmente confirmado em experimentação animal, utilizando a tintura da planta na dose 1-2 g/kg, via IV (HOPIA, 1996). Estudo com extrato aquoso de alecrim em cultivo de hepatócitos demonstrou atividade protetora deste extrato sobre a peroxidação induzida (HOPIA, 1996). Em outro experimento, o uso de extrato etanólico e aquoso liofilizado, obtido a partir de brotos jovens de *R. officinalis*, demonstrou atividade colerética além de hepatoprotetora na toxicidade hepática induzida por tetracloreto de carbono em ratos (HOEFLER et al., 1987).

A idéia de que plantas medicinais são inócuas e não apresentam riscos a saúde, tanto humana quanto animal, é equivocada. As doses tóxicas e terapêuticas devem ser investigadas, pois ainda estão longe de serem definidas para a maioria das espécies disponíveis para o uso medicinal (LORENZI; MATOS, 2006). Como a exemplo do *R. officinalis*, pois segundo Lorenzi & Matos (2006), quando usado em altas dosagens, pode ser tóxico, causando efeitos como aborto, sonolência,

espasmos, gastroenterites e irritação, sendo necessário estudos mais detalhados para determinar os limites de dosagem para uso terapêutico.

Em virtude das inúmeras propriedades citadas para os extratos desta planta, o *R. officinalis* parece ser promissor para o desenvolvimento de novos fármacos, tendo demonstrado inúmeras atividade comprovadas e outras que ainda merecem maiores investigações, como no caso de sua ação no trato gastrointestinal.

3.1 ARTIGO 1

Efeito de eletroacupuntura na motilidade gástrica de ratos wistar avaliados por
exame radiológico

Artigo formatado conforme as normas da revista **Ciência Rural**

Efeito da eletroacupuntura na motilidade gástrica de ratos Wistar avaliados por exame radiológico

Effect of electroacupuncture on gastric motility of Wistar rats evaluated radiologically

Taiane Rita Carnevali^{I*}; Fábio Silva da Silva^I; Marina de Mattos Ferrasso^{II}; Luiz Paiva Carapeto^{III}; Marlete Brum Cleff^{III}

RESUMO

Considerando as inúmeras indicações da acupuntura em veterinária, o estudo objetivou avaliar através de exame radiográfico, a ação da eletroacupuntura na motilidade gástrica de animais experimentais. Foram utilizados 24 ratos Wistar, três meses de idade, que receberam cinco esferas metálicas via SO com 2mL de contraste baritado, seguido dos tratamentos: eletroacupuntura nos pontos BP6 e E36 (T1); eletroacupuntura em pontos falsos (T2); água destilada estéril (T3); metoclopramida (T4). Após os tratamentos, foram feitas radiografias seriadas, de hora em hora, para acompanhar o tempo de esvaziamento gástrico das esferas nos ratos. Ao analisar o momento de saída das primeiras esferas, os animais do grupo T1 apresentaram uma média de 3,5h; no T2 a média foi maior que 6h, no T3 foi de 5,3 e no T4 observou-se média de 4,6h. A ação da eletroacupuntura foi comparável à ação da metoclopramida, que sabidamente aumenta o peristaltismo, enquanto que a resposta do grupo Shan (T2) aproximou-se do grupo controle negativo. Diante dos resultados conclui-se que a eletroacupuntura nos pontos pré-determinados aumenta significativamente o peristaltismo

I Pós-graduando do curso de mestrado em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354 • CEP 96001-970. Pelotas, RS, Brasil. E-mail: taianecarnevali@yahoo.com.br. Autor para correspondência

II Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

III Prof. Adjunto Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

gástrico, diminuindo assim o tempo de esvaziamento gástrico em ratos, podendo ser uma opção para o tratamento de distúrbios da motilidade.

Palavras-chave: raios X; gastrointestinal; ratos, acupuntura.

ABSTRACT

Considering the numerous indications of acupuncture in veterinary medicine, the study aimed to evaluate by radiographic examination the action of electroacupuncture on gastric motility in experimental animals. We used 24 Wistar rats, three months of age, that received five metallic spheres, SO, with 2mL of barium contrast, followed by treatments: electroacupuncture points E36 and BP6 (T1); electroacupuncture in stitches (T2); sterile distilled water (T3); metoclopramide (T4). After treatment, serial radiographs, hourly, were made to follow the gastric emptying time of the spheres in rats. By analyzing the time of exit of the first sphere, animals in the group T1 had an average of 3,5h; at T2 the average was higher 6 hours; in T3 was 5,3h, and T4 showed an average of 4,6h. The action of electroacupuncture was comparable to the action of metoclopramide, which is known to increase peristalsis, whereas the response of the Sham group (T2) was close to the negative control group. Considering the results it was concluded that electroacupuncture at points predetermined significantly increases gastric peristalsis, reducing gastric emptying time in rats, may be an option for the treatment of motility disorders.

Key words: x-rays, gastrointestinal, rats, acupuncture.

INTRODUÇÃO

Os distúrbios gástricos na clínica de pequenos animais são comuns, sendo que existem diferentes fatores que interferem na funcionalidade do trato gastrointestinal (TGI), como agentes infecciosos, alterações morfológicas, neurológicas e metabólicas (ETTINGER & FELDMAN, 2004). O plano de tratamento para alterações do TGI compreende a terapia mais específica possível para as alterações, incluindo o uso de fármacos como pro-cinéticos, antieméticos, protetores de mucosa, antagonistas H1, entre outros (ANDRADE, 2008), porém estes apresentam efeitos adversos, como inquietação, ansiedade, diarreias, flatulências, infecções urinárias, astenia, entre outros (VIANA, 2007; TILLEY & SMITH, 2008).

A acupuntura tem sido usada para tratar distúrbios gastrointestinais em medicina humana há milhares de anos na China (TAKAHASHI, 2009). Entretanto, modificações na técnica original foram feitas, como a exemplo da eletroacupuntura, que consiste em passar corrente elétrica através dos acupontos, apresentando vantagens em relação ao uso isolado das agulhas, por propiciar níveis mais elevados e mais contínuos de estímulo (SCHOEN, 2006). Pesquisas indicam que o uso da acupuntura pode afetar o sistema nervoso entérico (BALESTRINI et al., 2005), alterar motilidade, secreção gástrica (BALESTRINI et al., 2005; TAKAHASHI, 2009), atividade elétrica (LI et al., 1992), pH gástrico (SCHOEN, 2006) e a citoproteção gastrointestinal (LI et al., 1992), porém os mecanismos de ação ainda não foram totalmente elucidados e em medicina veterinária, os estudos ainda são insipientes (TAKAHASHI, 2009).

Considerando o interesse no uso da acupuntura em veterinária, e a crescente busca por terapias alternativas e menos invasivas, o estudo teve como objetivo avaliar a ação da eletroacupuntura na motilidade gástrica, em modelo experimental, através de exame radiográfico.

MATERIAL E MÉTODOS

1 Inicialmente realizou-se um piloto com 06 ratos wistar, onde foi determinado o tempo
2 de esvaziamento gástrico médio de 3h e 30min utilizando esferas metálicas via sonda
3 orogástrica (SO), juntamente com 2mL de sulfato de bário a 10%, e definiu-se a projeção
4 ventrodorsal como aquela que melhor delimitou o estômago sem sobrepor as demais
5 estruturas.

6 Para avaliação da motilidade, foram utilizados 24 ratos albinos, divididos em 4 grupos,
7 linhagem Wistar, fêmeas, três meses de idade, com peso médio de 350 g, mantidos no
8 Biotério Central da UFPel em caixas plásticas, ciclo claro-escuro de 12/12horas, temperatura
9 controlada ($\pm 23^{\circ}\text{C}$), água *ad libitum* e alimentados com ração comercial de acordo com o
10 peso.

11 Durante duas semanas, antes da avaliação, os animais foram adaptados ao manuseio
12 para a administração dos tratamentos e realização do exame radiográfico. Após este período,
13 foram identificados, pesados, passaram por jejum de 16 horas e receberam cinco esferas
14 metálicas de 1mm de diâmetro via sonda orogástrica, juntamente com 2mL de contraste
15 baritado a 10%. Todos os ratos foram anestesiados com uma associação de quetamina
16 (30mg/kg/IM) e xilazina (3mg/kg/IM), 30min antes da sondagem e receberam os seguintes
17 tratamentos:

18 T1 (Ponto Acupuntura) – n=6: eletroacupuntura numa frequência de 2hz por 20
19 minutos nos pontos BP6 e E36; T2 (Ponto Shan) – n=6: eletroacupuntura numa frequência de
20 2hz por 20 minutos em pontos falsos; T3 (Controle Negativo) – n=6: 0,1mL de água destilada
21 estéril, IM, 30min antes da sondagem T4 (Controle Positivo) – n=6: 2mg/kg IM de
22 metoclopramida, 30 min antes da sondagem oro-gástrica. Os grupos T1 e T2 receberam uma
23 injeção de 0,1mL de água destilada estéril, IM, 30min antes da sondagem.

24 Os tratamentos foram feitos em única aplicação, e na sequência realizou-se
25 radiografias seriadas, de hora em hora, a fim de acompanhar o tempo de esvaziamento
26 gástrico dos animais experimentais. A primeira radiografia foi no momento zero (0h), e a
27 última 24horas após o início do experimento (momento sete), totalizando oito avaliações por

animal. Depois de realizadas as radiografias na projeção ventrodorsal, as mesmas foram avaliadas quanto ao andamento das esferas pelo trato gastrointestinal dos animais, sendo que o enfoque maior foi dado no momento da saída do estômago.

O experimento foi desenvolvido de acordo com as normas estabelecidas pelo COBEA, para experimentação com animais e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel. A análise estatística foi realizada análise de variância (ANOVA). O teste LSD (Least Square Difference) foi utilizado para determinar diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as médias dos tratamentos.

RESULTADOS

Ao analisar o momento de saída das primeiras esferas do estômago dos ratos Wistar submetidos aos diferentes tratamentos, observou-se que os animais do grupo T1 apresentaram uma média de 3,5h; os do grupo T2 a média foi maior que 6h; enquanto o grupo T3 observou-se 5,3h de média e no grupo T4 com média de 4,6h.

Com relação ao momento de saída das esferas nos diferentes tratamentos, observou-se que o uso da eletroacupuntura (T1) aumentou o peristaltismo em 3h de observação, com diferença estatística quando comparado aos tratamentos ponto shan (T2) e controle negativo (T3), $p < 0,05$ (Figura 1).

Considerando o percentual do número de esferas utilizadas por tratamento ($n=30$), obtivemos a seguinte porcentagem de eliminação em até 6h, T1 40% das esferas, no grupo T2 13,33% das esferas, no grupo T3 13,33% e no T4 26,66%.

Nas 24h de experimento, foram observados que nos tratamentos 1,2 e 4, 93,3%, 86,6% e 90% das esferas foram eliminadas respectivamente, enquanto no grupo T3 o percentual de esferas eliminadas do TGI foi de 43,3%, demonstrando um tempo maior de esvaziamento

1 gástrico nos animais deste grupo, porém não apresentando diferença estatística para os
2 tratamentos 1, 2 e 4.

3 Em uma análise geral dos resultados, observou-se que a estimulação dos pontos BP6 e
4 E36, por eletroacupuntura, resultou na saída mais rápida das esferas do estômago, assim como
5 uma maior quantidade foi eliminada, sendo os grupos diferentes estatisticamente T1^A, T2^{BC},
6 T3^C e T4^{AB}.

8 DISCUSSÃO

9 A utilização de esferas metálicas associadas ao sulfato de bário para avaliação
10 radiológica da motilidade do TGI sob ação da eletroacupuntura, ainda não havia sido
11 demonstrado, sendo o trabalho pioneiro neste sentido. Alguns autores têm avaliado a
12 motilidade do TGI em modelos experimentais submetidos a eletroacupuntura (OUYANG et
13 al., 2002; TABOSA et al., 2004; SUGAI et al., 2004), utilizando técnicas de avaliação como o
14 uso do carvão ativado, esferas plásticas (TABOSA et al., 2004; SUGAI et al., 2004) e cânula
15 introduzida no duodeno (OUYANG et al., 2002). A vantagem estabelecida com o uso das
16 esferas metálicas, seria a possibilidade de avaliar o trânsito TGI de forma eficaz, sem a
17 necessidade de eutanásia, o que favorece o uso em animais de companhia por exemplo. Sabe-
18 se da existência cada vez maior de especialistas na área, além de proprietários que buscam
19 novas possibilidades de tratamento para seus animais, neste sentido a acupuntura na clínica
20 veterinária moderna, pode ser utilizada de forma integrada com os métodos tradicionais de
21 tratamento (LI et al., 1992; SCHOEN, 2006).

22 A frequência da eletroacupuntura utilizada no estudo foi de 2Hz/20min., sendo
23 aplicados nos pontos BP6 e E36 (TABOSA et al., 2004). Segundo a literatura, a ação da
24 eletroacupuntura é influenciada pela frequência e amplitude da estimulação, onde frequências

1 abaixo de 15Hz e amplitude baixa, levam a tonificação dos pontos (SCHOEN, 2006),
2 concordando com nossas observações em relação aos animais do grupo T1. YIN & CHEN,
3 (2010) utilizaram eletroacupuntura no ponto E36 e demonstraram aumento do esvaziamento
4 gástrico, enquanto Takahashi, (2009), ao estimular o ponto E36, observou aumento da
5 secreção ácida dos animais experimentais. Em medicina humana, os pontos Zusanli (E36) e
6 Sanyinjiao (BP6), são comumente usados no tratamento de doenças do trato gastrointestinal,
7 como constipação, diarreia, vômito, entre outros (BALESTRINI et al., 2005). Já em animais
8 esses pontos tem sido citados como úteis na disfunção motora, dor visceral e controle de
9 secreções gástricas (BALESTRINI et al., 2005), além deste, outros pontos tem sido descritos,
10 como PC6 (TAKAHASHI, 2009) e BL27 (CHOI, 2001) com êxito considerável.

11 Os acupontos utilizados no tratamento T1 localizam-se nos membros pélvicos, e seu
12 estímulo resultou em um aumento da motilidade gástrica. Concordando com outros estudos
13 (TATEWAKI, 2003; TAKAHASHI, 2009), onde estimulação sensorial cutânea, nos membros
14 pélvicos, aumentou a motilidade gástrica, devido a provável ação vagal.

15 Os resultados observados com a estimulação do ponto shan (T2), foram comparáveis
16 com o controle negativo (T3), o qual não recebeu tratamento, concordando com os achados de
17 JOBST et al., (1986), o qual demonstrou que os meridianos são estimulados somente quando
18 a ação for direcionada ao ponto exato, pontos fora dos dermatômos evitam o estímulo da
19 inervação proximal. O que também foi confirmado em trabalho conduzido em cães, onde ao
20 utilizar eletroestimulação de baixa frequência de pontos verdadeiros observou-se aumento de
21 contração gástrica, o que não foi observado quando a eletroestimulação foi realizada em
22 pontos falsos à distância (JOAQUIM, 2003).

23 Com relação ao esvaziamento gástrico de ratos submetidos a eletroacupuntura (T1)
24 estes apresentaram uma média de 3,5h. Enquanto TABOSA et al. (2004) demonstrou que
25 86% das esferas plásticas administradas, foram expelidas 90 minutos após os tratamentos.

Diferenças em relação ao tipo de esferas e utilização de anestesia, não permitiram comparação entre os trabalhos, pois no estudo foi utilizado esferas metálicas e uma associação de xilazina e quetamina. Segundo a literatura a quetamina não influencia no trato gastrointestinal (SILVA et al., 2010), porém, a xilazina interfere na motilidade do TGI, prolongando o tempo de trânsito gastrointestinal (BUSTAMANTE & WERNER, 2009) entretanto, a eletroacupuntura conseguiu reverter esta condição quando comparado aos outros tratamentos, influenciando positivamente na motilidade. Esta ação também foi observada com o uso de outros agentes anestésicos (OUYANG et al., 2002), onde utilizou-se tiopental sódico como indutor e isoflurano na manutenção da anestesia, não obtendo interferência com a avaliação do efeito da eletroacupuntura.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, conclui-se que os animais que receberam eletroacupuntura nos pontos BP6 e E36, apresentaram aumento significativo do peristaltismo gástrico, diminuindo assim o tempo de esvaziamento.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

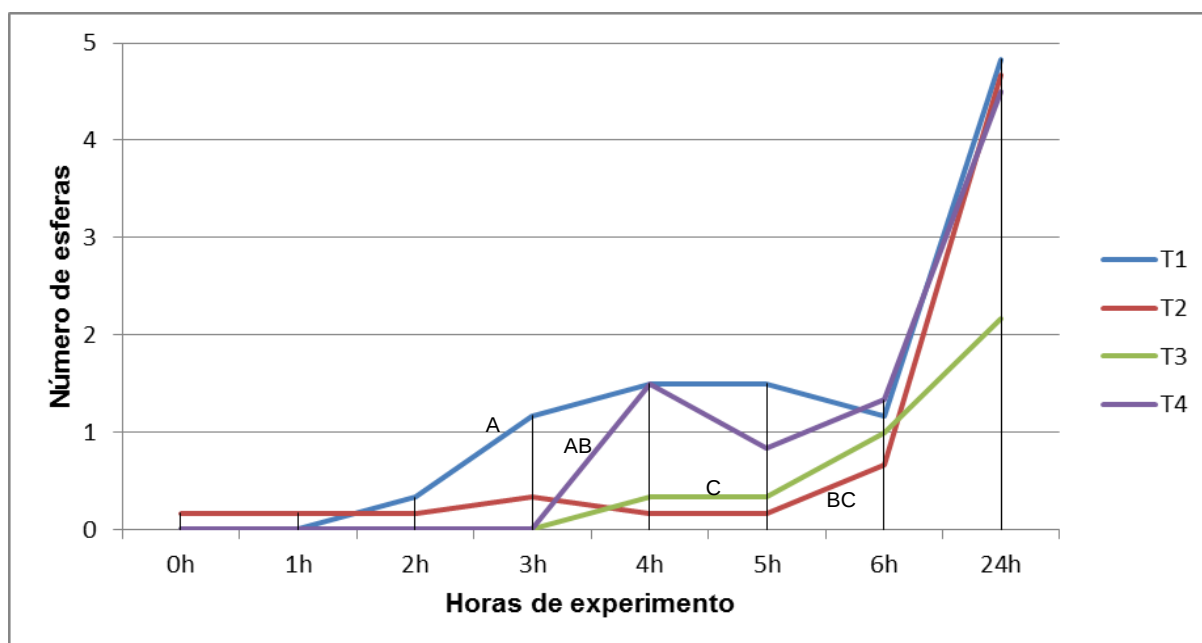
Registro na Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEa) – Universidade Federal de Pelotas (UFPel): 6538

REFERÊNCIAS

ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**, 3ed. Roca, 2008.936p.

- 1 BALESTRINI, J.L. et al. Acupuncture accelerates delayed gastrointestinal transit after
2 abdominal surgery in conscious rats. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**. v.40,
3 p.734-735, 2005.
- 4 BUSTAMANTE, H.; WERNER, M. Efecto sedativo de la asociación xilazina-morfina en
5 caninos. **Arch Med Vet**. v.41, p.229-236, 2009.
- 6 CHOI, M. Ultrasonographic observation of intestinal motility of dogs after acupunctural
7 stimulation on acupoints ST36 and BL27. **J. Vet. Sci**. v.2, p.221-226, 2001.
- 8 ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária - Doenças**
9 **do Cão e do Gato**. 5.ed, v.2. Editora Guanabara Koogan Edi, 2004. 2256p.
- 10 JOAQUIM, J. G. F. **Efeito da acupuntura e eletroacupuntura na contração gástrica em**
11 **cães (*Canis familiaris*)**. 2003. 105f. Dissertação (Mestre em Cirurgia Veterinária)-Faculdade
12 de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho,
13 Botucatu.
- 14 JOBST, K. Controlled trial of acupuncture for disabling breathlessness. **Lancet**, v.328,
15 p.1416-1419, 1986.
- 16 LI, Y. et al. The effect of acupuncture on gastrointestinal function and disorders. **Am J**
17 **Gastroenterol**, v.87, p.1372-1381, 1992.
- 18 OUYANG, H. et al. Eletroacupuntura accelerates gastric emptying in association with
19 changes in vagal activity. **Rev. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**. v. 282, p. 390-
20 396, 2002.
- 21 SCHOEN, A.M. **Acupuntura veterinária – Da arte antiga à medicina moderna**. 2.ed. São
22 Paulo: Roca, 2006. 624p.
- 23 SILVA, F.C.C. Ketamina, da anestesia ao uso abusivo: artigo de revisão. **Rev Neurocienc**.
24 v.18, n.2, p.227-237, 2010.

- 1 SUGAI, G.C.M. et al. Serotonin involvement in the eletroacupuncture and moxibustion
2 induced gastric emptying in rats. **Rev. Physiology & Behavior.** v. 82, p. 855-861, 2004.
- 3 TABOSA, A. et al. A comparative study of the effects of eletroacupuncture and moxibustion
4 in the gastrointestinal motility of the rat. **Rev. Digestive Diseases and Sciences.** v. 49, n. 4, p.
5 602-610, 2004.
- 6 TAKAHASHI, T. Acupuncture for Functional Gastrointestinal Disorders. **J Gastroenterol.**
7 v.41, n.5, p.408-417, 2006.
- 8 TATEWAKI, M. et al. Dual effects of acupuncture on gastric motility in conscious rats. **Am J**
9 **Physiol Regul Integr Comp Physiol.** v. 285, p. 862-872, 2003.
- 10 TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. **Consulta veterinária em 5 minutos – Espécies canina e**
11 **felina.** 3.ed. Barueri – SP: Manole, 2008. 1547p.
- 12 VIANA, F.A.B. **Guia Terapêutico Veterinário.** Lagoa Santa-MG: Cem, 2007. 2.ed.
- 13 YIN, J.; CHEN, J.D.Z. Gastrointestinal motility disorders and acupuncture. **Autonomic**
14 **Neuroscience: Basic and Clinical.** v.157, p.31-37, 2010.



- 1 Figura 1: Representação gráfica da avaliação radiológica do esvaziamento gástrico de ratos
- 2 wistar, submetidos ao tratamento com eletroacupuntura (T1), ponto Shan (T2), controle
- 3 negativo (T3) e metoclopramida (T4), de acordo com o número de esferas eliminadas.
- 4 Letras diferentes significam diferença estatística de $p < 0,05$.
- 5 Letras iguais não apresentam diferença estatística.

3.2 ARTIGO 2

Determinação radiológica da motilidade gástrica de ratos wistar sob efeito de extratos de *Rosmarinus officinalis*

Artigo formatado conforme as normas da **Revista Cubana de Plantas Medicinales**

DETERMINAÇÃO RADIOLÓGICA DA MOTILIDADE GÁSTRICA DE RATOS WISTAR
SOB EFEITO DE EXTRATOS DE *ROSMARINUS OFFICINALIS*

RADIOLOGICAL DETERMINATION OF GASTRIC MOTILITY WISTAR RATS UNDER
THE EFFECT OF EXTRACTS *ROSMARINUS OFFICINALIS*

**Lic. Taiane Rita Carnevali,^I Lic. Claudia Giordani,^I Lic. Gabriela Hörnke Alves,^{II} Dr.
Rogério Antonio Freitag,^{II} Dra. Marlete Brum Cleff^I**

I Departamento de Clínicas Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

II Departamento de Química e Geociências, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

RESUMO

Introdução: os distúrbios gastrointestinais são comuns na clínica veterinária, porém o tratamento com fármacos tem seu uso limitado, devido aos efeitos adversos. O tratamento destes distúrbios com plantas medicinais pode ser viável e econômico, além de não afetar outros sistemas.

Objetivos: avaliar radiologicamente a motilidade gástrica em modelo experimental submetido à extratos aquoso e etanólico de *Rosmarinus officinalis*

Materiais e Métodos: utilizou-se 48 ratos wistar, fêmeas, três meses de idade, que sofreram um período de adaptação e após receberam 05 esferas com 2mL de contraste baritado, via SO seguido dos seguintes tratamentos: TE1 (Extrato Etanólico 125mg/kg); TE2 (Extrato Etanólico 250mg/kg); TE3 (Extrato Etanólico 500mg/kg); TA1 (Extrato Aquoso 125mg/kg); TA2 (Extrato Aquoso 250mg/kg); TA3 (Extrato Aquoso 500mg/kg); T4 (Metoclopramida), e, T5 (Água destilada estéril)

Resultados: a quantidade de esferas que saíram do estômago dos animais experimentais em até 3h, observou-se que houve diferença nos tratamentos, quanto ao numero de esferas eliminadas. Obtendo-se os seguintes percentuais: 76,6% das esferas no TE1 (n=23), no TE2 60% (n=18), no grupo TE3 63,3% (n=19), 46,6% no TA1 (n=14), no grupo TA2 50% (n=15) e, por fim, no grupo TA3 86,6% (n=26) das esferas, enquanto nos grupos controle, T4 foi de 100% (n=30) e T5 93,3% (n=28).

Conclusão: os resultados demonstraram que os extratos aquoso e etanólico de *Rosmarinus officinalis* aumentam o tempo de esvaziamento gástrico em ratos.

Palavras-chave: raio - X, gastrointestinal, *Rosmarinus officinalis*.

ABSTRACT

Introduction: gastrointestinal disorders are common in the veterinary clinic, but treatment with drugs is of limited use due to adverse effects. The treatment of these disorders with medicinal plants may be feasible and economical, and does not affect other systems.

Objectives: to assess radiological gastric motility in an experimental model subjected to aqueous and ethanol extracts of *Rosmarinus officinalis*.

Materials and Methods: we used 48 Wistar rats, female, three months of age, who suffered a period of adjustment, after received 05 spheres with 2 mL of barium contrast, SO, followed by the following treatments: TE1 (ethanolic extract 125mg/kg); TE2 (ethanolic extract 250mg/kg); TE3 (ethanolic extract 500mg/kg); TA1 (aqueous extract 125mg/kg); TA2 (aqueous extract 250mg/kg); TA3 (aqueous extract 500mg/kg); T4 (metoclopramide), and, T5 (sterile distilled water).

Results: the amount of spheres that left the stomach of experimental animals upto 3 hours, it was observed that there was no difference in treatments, as to the number of spheres removed. Getting the following percentages: 76,6% of the spheres in the TE1 (n=23), in TE2 60% (n=18), in the group TE3 63,3% (n=19), 46,6% in TA1 (n=14), group TA2 50% (n=15), and, finally, the group TA3 86,6% (n=26) of the spheres, while the control groups, T4 was 100% (n=30), and T5 93,3% (n=28).

Conclusion: the results showed that aqueous and ethanolic extracts of *Rosmarinus officinalis* increase the gastric emptying time in rats.

Key-words: X - ray, gastrointestinal, *Rosmarinus officinalis*.

INTRODUÇÃO

As pesquisas com plantas medicinais têm sido desenvolvidas mais intensamente nas últimas décadas, impulsionadas pela resistência e/ou refratariedade estabelecida frente a alguns grupos de fármacos, aos efeitos adversos e ao alto custo destes, além de conscientização da população, que busca métodos mais naturais de tratamento¹. Outro fato de relevância são os resíduos deixados pelos medicamentos alopáticos nos produtos de origem animal, o que tem sido cada vez mais recriminado pelo mercado consumidor.² Além disso, muitas vezes, as plantas medicinais representam o único recurso terapêutico acessível em algumas localidades.³

Dentre as inúmeras plantas com conhecidos efeitos farmacológicos, destaca-se o *Rosmarinus officinalis* (alecrim). O alecrim tem seu uso difundido entre as populações com uma amplitude de indicações, desde o uso em cosméticos até o tratamento do câncer.^{4,5}

Os trabalhos com o uso do *R. officinalis* tem explorado mais intensamente os óleos essenciais, demonstrando ação antimicrobiana e antioxidante.^{6,7,8} Com relação aos extratos aquoso e/ou etanólico, alguns autores têm demonstrado potencial antisséptico e desinfetante,^{9,10} além de ação diurética e antipirética.¹¹ No trato gastrointestinal (TGI), a ação do *R. officinalis* inclui, relaxante da musculatura lisa, colerético e hepatoprotetor além de anti-espasmódico.^{4,5,12}

Neste sentido, e baseados no uso empírico do *R. officinalis* para o tratamento de disfunções do trato gastrointestinal, objetivou-se avaliar radiologicamente a motilidade gástrica em modelo experimental submetidos ao tratamento com extrato etanólico e aquoso de *Rosmarinus officinalis*.

MATERIAIS E MÉTODOS

As folhas secas de alecrim utilizadas no experimento foram adquiridas da empresa Luar Sul Ind. e Com. de Produtos Alimentícios – Santa Cruz do Sul/RS, com número de lote 001/2011.

Para obtenção dos extratos etanólicos foram utilizados 35g de folhas secas de alecrim e 350mL de álcool etílico P.A (Synth), enquanto que para o extrato aquoso bruto, utilizou-se 25g de folhas secas e 250mL de água destilada. A amostra vegetal e os solventes (etanol e água) foram colocados em um balão de 500 mL com fundo redondo e mantidos sob agitação constante em uma chapa de aquecimento com banho de óleo, sendo aquecidos à temperatura que variou de 65°C – 70°C.

O extrato etanólico foi mantido nas mesmas condições por 24h, depois de transcorrido esse tempo o extrato foi filtrado, e o álcool etílico foi evaporado em rotaevaporador até a obtenção do extrato seco.

O extrato aquoso foi mantido por uma hora nas mesmas condições, e após o sistema foi erguido, deixou-se decantar por 15min, e em seguida a amostra foi filtrada e separada. Adicionou-se mais 250mL de água destilada no balão com as folhas e o sistema foi novamente aquecido e mantido sob agitação por mais uma hora. Essa técnica foi repetida até a obtenção de três extrações, que foram homogeneizadas, acondicionadas em bandejas metálicas e congelado a -70°C em Ultra-Freezer. Posteriormente o extrato foi liofilizado por 48 horas obtendo-se um pó cristalino amarelo claro, que foi acondicionado em pequenos frascos escuros, hermeticamente fechados, para posterior utilização no experimento.

Para avaliação da motilidade, foram utilizados 48 ratos albinos, Wistar, fêmeas, com peso médio de 300g, 3 meses de idade, mantidos no Biotério Central da UFPel em caixas plásticas, ciclo claro-escuro de 12/12 horas, temperatura controlada ($\pm 23^{\circ}\text{C}$), água *ad libitum* e alimentados com ração comercial de acordo com o peso.

Durante duas semanas, previamente a avaliação, os animais foram adaptados ao manuseio para a administração dos tratamentos e realização do exame radiográfico. Após este período, foram identificados, passaram por jejum de 16 horas e receberam os seguintes tratamentos: TE1: Extrato Etanólico 125mg/kg; TE2: Extrato Etanólico 250mg/kg; TE3: Extrato Etanólico 500mg/kg; TA1: Extrato Aquoso 125mg/kg; TA2: Extrato Aquoso 250mg/kg; TA3: Extrato Aquoso 500mg/kg; T4: Metoclopramida (2 mg/kg IM); T5: Água destilada estéril.

Em todos os tratamentos (E1, E2, E3, A1, A2 e A3) os extratos foram pesados e diluídos em água destilada estéril e administrados 1 ml, via sonda orogástrica (SO). Uma hora após este procedimento, foram administradas cinco esferas metálicas de 1mm de diâmetro via SO juntamente com o contraste baritado a 10%. Nos tratamentos 4 e 5 foi administrado água destilada estéril via SO, e após uma hora, administradas as esferas metálicas. Como controle positivo (T4) foi administrado metoclopramida (2 mg/kg IM), e todos os outros tratamentos receberam 0,1mL de água destilada estéril IM.

Após os tratamentos, foram feitas radiografias seriadas, de hora em hora, dos animais experimentais, a fim de acompanhar o tempo de esvaziamento gástrico. A primeira radiografia foi no momento zero, sendo a última seis horas após o momento zero, totalizando sete avaliações por animal. Depois de realizadas as radiografias na projeção ventrodorsal, as mesmas foram avaliadas quanto ao andamento das esferas pelo trato gastrointestinal, sendo que o enfoque maior foi dado, no momento de saída do estômago.

O experimento foi desenvolvido de acordo com as normas estabelecidas pelo COBEA (Comitê de Ética e Experimentação Animal), para experimentação com animais e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel (Universidade Federal de Pelotas).

Foi realizada análise de variância (ANOVA). O teste LSD foi utilizado para determinar diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as médias dos tratamentos.

RESULTADOS

Ao analisar a quantidade de esferas que saíram do estômago dos animais experimentais em até 3h, observou-se que houve diferença nos tratamentos com extrato etanólico, quanto ao numero de esferas eliminadas. Foram eliminadas 76,6% das esferas no TE1 (n=23), no TE2 60% (n=18), no grupo TE3 63,3% (n=19), enquanto nos grupos controle, (T4) foi de 100% (n=30) e T5 93,3% (n=28) (Fig.1).

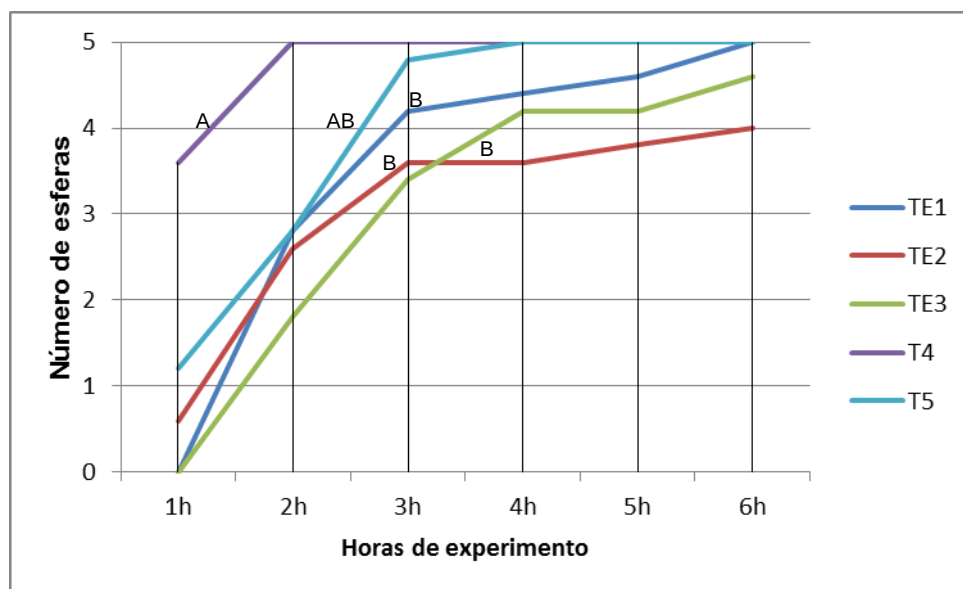


Figura 01: Representação gráfica da avaliação radiológica do esvaziamento gástrico de ratos wistar, submetidos ao tratamento com extrato etanólico 125mg (TE1), extrato etanólico 250mg (TE2), extrato etanólico 500mg (TE3), controle positivo - metoclopramida (T4), controle negativo (T5), de acordo com o número de esferas eliminadas.

Letras diferentes significam diferença estatística de $p < 0,05$.
Letras iguais não apresentam diferença estatística.

Com relação aos grupos tratados com extrato aquoso observou-se que a quantidade de esferas que saíram do estômago dos animais experimentais em até 3h foi de 46,6% no TA1 (n=14), no grupo TA2 50% (n=15) e, por fim, no grupo TA3 86,6% (n=26) das esferas, enquanto grupos T4 100% (n=30) e o T5 93,3% (n=28) (Fig.2).

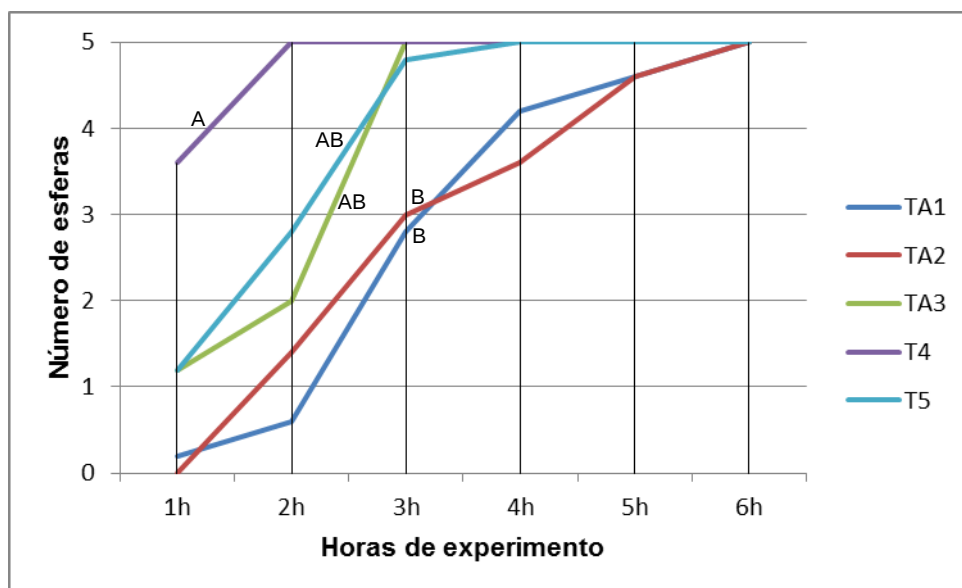


Figura 02: Representação gráfica da avaliação radiológica do esvaziamento gástrico de ratos wistar, submetidos ao tratamento com extrato aquoso 125mg (TA1), extrato aquoso 250mg (TA2), extrato aquoso 500mg (TA3), controle positivo - metoclopramida (T4), controle negativo (T5), de acordo com o número de esferas eliminadas.

Letras diferentes significam diferença estatística de $p < 0,005$.
Letras iguais não apresentam diferença estatística.

Em uma análise geral dos resultados, observou-se que o uso do extrato etanólico na concentração 125mg/kg (TE1), resultou na saída mais rápida das esferas, assim como uma maior quantidade foi eliminada, porém não houve diferença estatística em

relação às outras concentrações e ao controle negativo (TE1^B, TE2^B, TE3^B, T5^{AB}), mas sim com relação ao controle positivo (T4^A). Nos grupos tratados com extrato aquoso observou-se que na concentração 500mg/kg (TA3), a saída das esferas foi mais rápida, assim como uma maior quantidade foi eliminada, havendo diferença estatística entre os grupos tratados (TA1^B, TA2^B e TA3^{AB}), com o controle positivo (T4^A) e negativo (T5^{AB}).

Além dos resultados acima demonstrados, vale ressaltar que nenhum tratamento se equiparou ao grupo T4 (controle positivo), o qual em apenas duas horas já havia eliminado 100% das esferas, comprovando assim a ação do metoclopramida sobre o trato gastrointestinal, o qual atua como bloqueador dopaminérgico antiemético e procinético.¹³

Ao avaliar a ação do extrato aquoso e do extrato etanólico do *R. officinalis*, observou-se que foi necessário uma dose alta do extrato aquoso para obter aumento da atividade gastrointestinal, enquanto o extrato etanólico, a melhor ação foi observada na concentração menor. Entretanto, os dois tipos de extrato diminuíram o peristaltismo gástrico quando comparados ao controle negativo. Estes resultados ocorrem pela quantidade de princípios ativos disponíveis nos extratos. Assim como os tipos de constituintes presentes, entretanto esta avaliação será afirmada mais consistentemente com a avaliação química dos extratos.

DISCUSSÃO

A metodologia aplicada demonstrou ser eficaz na avaliação da motilidade gástrica de ratos Wistar, confirmando as informações descritas na literatura.¹⁴ Modificações na técnica, associando contraste baritado com esferas metálicas,¹⁵ apresenta como vantagem a facilidade na determinação do momento exato do esvaziamento gástrico com o animal consciente, já que em outros trabalhos utilizando carvão ativado, esferas plásticas¹⁶ e cânula duodenal¹⁷, a eutanásia foi necessária.

A escolha da forma de extrato utilizada no estudo foi determinada baseada no uso popular da planta. Os extratos de alecrim têm sido difundidos durante anos e segundo a medicina popular tem ação colerética e hepatoprotetor,^{4,5,12} o que foi parcialmente confirmado em experimentação animal, utilizando a tintura da planta na dose 1-2 g/kg,¹⁸ além disso o extrato aquoso e etanólico de alecrim em cultivo de hepatócitos confirmou ação colerética,^{12,18} sugerindo ação no trato gastrointestinal.

Para a avaliação dos resultados, foi considerado o tempo médio de esvaziamento gástrico dos ratos Wistar no controle negativo (T5), que foi de 3h. Concordando com estudos prévios,¹⁵ onde determinaram tempo médio de 3,5h para esvaziamento gástrico em ratos com uso de esferas metálicas.

Pouco são os estudos sobre os efeitos biológicos do *Rosmarinus officinalis* no trato gastrointestinal, porém, foi descrito que o extrato aquoso de alecrim inibiu as

contrações espontâneas do jejuno de coelhos, além da inibição das contrações induzidas por histamina, acetilcolina e cloreto de bário⁴.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, pode-se concluir que os extratos aquoso e etanólico de *R. officinalis* diminuem a motilidade gástrica em ratos wistar. Sugerindo que estes podem ser uteis nos distúrbios de motilidade, entretanto novos estudos devem ser conduzidos a fim de determinar melhor esta ação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marchiori VF. *Rosmarinus officinalis*. 2004. 32f. Monografia (Curso Fitomedicina) - Fundação Herbarium, Associação Argentina de Fitomedicina.
2. Andrade SF. Manual de Terapêutica Veterinária, 3ed. Roca, 2008. p. 936.
3. Marinho ML, et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. Rev. Bras. Pl. Med. 2007; 9(3): 64-69.
4. Al-sereiti MR, et al. Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. Indian Journal of Experimental Biology. 1999; 37: 124-131.

5. Wynn SG, Fougère BJ. Veterinary Herbal Medicine. St Louis – Missouri: Mosby Elsevier; 2007. p. 848.
6. Celiktas OY, et al. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry. 2007; 100: 553-559.
7. Fonseca A, et al. Avaliação preliminar do uso de óleo essencial de alecrim em dermatófitos isolados de animais. In: XVIII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, 2009. Anais... Pelotas, Editora e Gráfica Universitária.
8. Hussain AI. Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. 2009, 257f. Thesis (Doctor of Philosophy in Chemistry)-Faculty of Sciences, University of Agriculture, Faisalabad.
9. Schuch LFD, et al. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. Ciência Animal Brasileira. 2008; 9: 161-169.
10. Schiavon DBA, et al. Use of medicinal plants for antiseptics of cows' teat after milking. Rev Cubana Plant Med. 2011; 16 (3): 253-259.

11. Martin SMMM, et al. Actividad diurética y antipirética de un extracto fluido de *Rosmarinus officinalis* L. em ratas. Rev. Cubana Plant Med. 2004; 9 (1): 1-7.
12. Hoefler C, et al. Comparative choleretic and hepatoprotective properties of young sprouts and total plant extracts of *Rosmarinus officinalis* in rats. Journal of ethnopharmacology. 1987; 19: 133-143.
13. Viana FAB. Guia Terapêutico Veterinário. 2.ed. Lagoa Santa-MG: Cem, 2007. p. 462.
14. Kealy JK, McAllister H. Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and cat. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p. 436.
15. Carnevali TR, et al. Avaliação Radiológica Preliminar da Motilidade Gástrica de Ratos Wistar. In: Simpósio Nacional de Diagnóstico por Imagem, 1. Santa Maria-RS, 2010. Anais... Santa Maria, p.03-06.
16. Tabosa A, et al. A comparative study of the effects of eletroacupuncture and moxibustion in the gastrointestinal motility of the rat. Rev. Digestive Diseases and Sciences. 2004; 49 (4): 602-610.

17. Ouyang H, et al. Eletroacupuncture accelerates gastric emptying in association with changes in vagal activity. *Rev. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002; 282: 390-396.
18. Hopia AI, et al. Effect of Different Lipid Systems on Activity of Rosemary Constituents Carnosol and Carnosic Acid with and without Tocoferol. *J. Agric. Food Chem.* 1996; 44: 2030–2036.
19. Agel MB. Relaxant effect of the volatile oil of *Rosmarinus officinalis* on tracheal smooth muscle . *J Ethnopharmacol.* 1991; 33: 57-62.
20. Taddei I, et al. Spasmolytic activity of peppermint, sage and rosemary essences and their major constituents. *Fitoterapia.* 1988; 59: 463-468.
21. Luchese FC, et al. Evaluation of oregano and rosemary essential oils for the prevention of neonatal diarrhea in piglets. *Arq. Inst. Biol.* 2011; 78 (1): 17-22.

3.3 ARTIGO 3

Situs inversus totalis em rato wistar – relato de caso

Artigo formatado conforme as normas da revista **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**

***Situs inversus totalis* em rato Wistar: relato de caso**

***Situs inversus totalis* in Wistar rat: case report**

T.R. Carnevali^{I*}; A.L. Silva^{II}; J.F. Kaiser^{II}; E.F.Silva^{III}; M.B. Cleff^{III}

^IMestranda, Faculdade de Veterinária - FAVet, Universidade Federal de Pelotas - UFPel. Caixa Postal 354 • CEP 96001-970. Pelotas, RS, Brasil. E-mail: taianecarnevali@yahoo.com.br.

^{II}Aluna de graduação - FAVet - UFPel - Pelotas, RS

^{III}Prof. Dr. - FAVet - UFPel - Pelotas, RS

RESUMO

Situs Inversus é uma alteração em que os órgãos se desenvolvem no lado oposto de sua localização habitual. A condição tem sido relatada em diferentes espécies, sendo classificada em dois tipos: *totalis* e *partialis*. O diagnóstico é baseado nos exames por imagem geralmente em achados ocasionais. Diante da raridade dos relatos acerca da alteração, o objetivo foi descrever a ocorrência em um animal experimental, detectada durante exame radiográfico. Observou-se que um rato albino, linhagem Wistar, fêmea, com 18 semanas de idade, utilizado para estudo experimental independente, apresentava o estômago e coração em posição contrária a normal ao exame radiográfico. Após o término do experimento, procedeu-se a necropsia do animal, a qual confirmou o desenvolvimento de todos os órgãos em posição oposta à fisiológica, caracterizando *Situs Inversus Totalis*. A ocorrência de *Situs Inversus Totalis* é de caráter congênito e raro, sendo de suma importância o diagnóstico a fim de retirar o animal da reprodução, já que não existam estudos suficientes para determinar o reflexo da afecção na sanidade dos animais.

Palavras-chave: rato, órgãos, localização

ABSTRACT

Situs Inversus is a change in the organs develop on the opposite side of its normal location. The condition has been reported in different species, being classified into two

types: *totalis* and *partialis*. The diagnosis is based on imaging studies usually incidental findings. Given the rarity of reports about the change, the objective was to describe the occurrence in an experimental animal, detected during radiographic examination. It was observed that an albino rat, Wistar, female, 18 weeks old, used for independent experimental study showed the stomach and heart in normal position on against the radiographic examination. After the experiment, we proceeded to the animal autopsy, which confirmed the development of all organs in a position opposite to the physiological, featuring *Situs Inversus Totalis*. The occurrence of *Situs inversus totalis* is a rare congenital and character, and the diagnosis of paramount importance in order to remove the animal from the reproduction, since there are not enough studies to determine the reflection of the health condition of animals.

Key-words: rat, organs, opposite

INTRODUÇÃO

Situs inversus é uma alteração congênita rara, em que os órgãos se desenvolvem no lado oposto de sua localização habitual, como se fosse uma imagem espelhada (Souza Junior, et al., 2011; Shiraiwa, et al., 1995; Salman, et al., 2010). A condição tem sido relatada em humanos, ratos, camundongos, cães, cavalos, bovinos, suínos e gatos (Jerram, et al., 2006). A incidência da malformação é relatada em aproximadamente 0,01-0,2% dos ratos (Shiraiwa, et al., 1995; Salman, et al., 2010), e 0,01-0,02% em humanos (Jerram, et al., 2006; Shiraiwa, et al., 1995), com uma proporção de 1:1 de machos e fêmeas (Wilhelm e Holbert, 2003), porém, não tem quaisquer efeitos adversos significativos sobre a saúde do indivíduo, e assim, pode passar despercebido (Salman, et al., 2010).

A alteração é classificada em dois tipos: *totalis* e *partialis*. *Situs inversus totalis* é uma condição na qual a posição normal das vísceras é totalmente revertida da posição usual. Já no caso do *situs inversus partialis*, apenas algumas estruturas estão parcialmente invertidas ou em uma posição anormal (Shiraiwa, et al., 1995).

Kaya, et al. (2002) e Shiraiwa, et al. (1995) citam que o *situs inversus* pode ser associado com Síndrome de Kartagener em seres humanos, que é uma herança autossômica recessiva, caracterizada pela deficiência na motilidade de cílios e flagelos, o que torna os tecidos epiteliais ciliados propensos a lesões (Souza Junior, et al., 2011), conhecida também por discinesia ciliar primária. Funcionando normalmente, os cílios determinam a posição dos órgãos internos durante o desenvolvimento embrionário precoce, e assim o indivíduo com discinesia ciliar tem 50% de chance de desenvolver *situs inversus* (Afzelius, 1995).

O diagnóstico geralmente é obtido por achados ocasionais através de exames por imagem, como radiografias, ultrassonografia, tomografia computadorizada e/ou ressonância magnética (Souza Junior, et al., 2011). Como o *situs inversus* não costuma apresentar sintomas clínicos, o enfoque terapêutico reside no manejo das alterações decorrentes da discinesia ciliar primária (Hawkins, 1992; Souza Junior, et al., 2011).

Assim, diante da raridade de diagnóstico da alteração em animais experimentais, o objetivo deste trabalho foi de relatar um caso de *Situs Inversus Totalis* em um rato albino wistar.

CASUÍSTICA

Um grupo de 48 ratos foi incluído como modelo experimental em trabalho de pesquisa no biotério Central da Universidade Federal de Pelotas - UFPel. Durante duas semanas, antes da avaliação, todos animais foram adaptados ao manuseio para o desenvolvimento da pesquisa. Após o período de adaptação um rato albino, linhagem Wistar, fêmea, com 4 meses de idade, 230g, foi submetido a exame radiográfico, como uma das etapas do experimento, sendo observado alteração no posicionamento dos órgãos .

O exame radiográfico do animal experimental revelou: ápice cardíaco voltado para a direita e base cardíaca voltada para a esquerda (dextrocardia), estômago do lado direito da cavidade abdominal, com piloro voltado para a esquerda, não sendo visualizadas demais alterações radiográficas (Fig. 1).

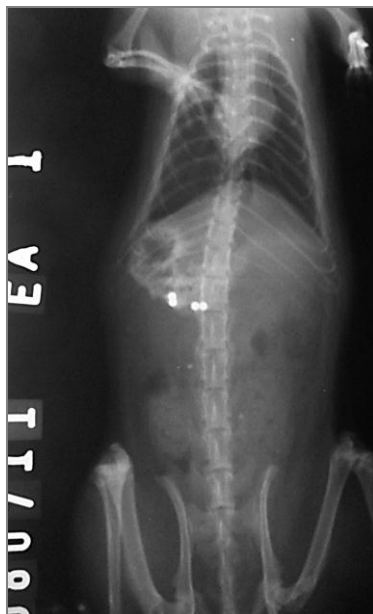


Figura 1: Imagem radiográfica, em projeção ventrodorsal, de rato wistar acometido de *Situs Inversus Totalis*, demonstrando localização das esferas metálicas armazenadas em estômago, no lado esquerdo da cavidade abdominal.

Ao término do experimento, o animal foi eutanasiado, e a necropsia, foi realizada através de incisão abdominal e esternotomia na linha média, demonstrando ao exame da cavidade abdominal: fígado mais voltado para o lado esquerdo; o baço localizado no lado direito, junto com o estômago; e o ceco localizado no lado esquerdo. A investigação da cavidade torácica demonstrou o pulmão mais voltado para o lado direito; ápice cardíaco voltado para a direita e a base cardíaca para o lado esquerdo (Fig. 2).

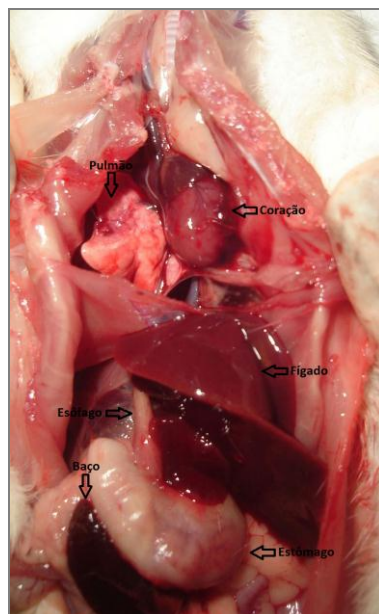


Figura 2: Foto, do rato wistar, em decúbito dorsal, durante necropsia, acometido de *Situs Inversus Totalis*, demonstrando a localização inversa dos órgãos da cavidade torácica e abdominal.

Registro na Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEa) – Universidade Federal de Pelotas (UFPel): 6538

DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos no exame radiográfico e confirmados na necropsia, observamos tratar-se de um caso de *Situs Inversus Totalis*. O animal experimental não apresentava nenhuma anormalidade clínica, durante o período em que esteve em observação no estudo, o que concorda com outros autores que citam que o *situs inversus* não tem quaisquer efeitos adversos sobre a saúde do indivíduo, e assim, pode passar despercebido (Salman et al., 2010). Além disso, não foram observados nenhum sinal de doença associada, como a síndrome de Kartagener (Neil, et al. 2002)

De acordo com a literatura (Souza Junior et al., 2011; Shiraiwa, et al., 1995; Salman, et al., 2010), *situs inversus* é uma alteração congênita rara, em que os órgãos se desenvolvem no lado oposto de sua posição normal, como se fosse uma imagem espelhada, sendo relatada em aproximadamente 0,01-0,2% dos ratos (Shiraiwa et al.,

1995; Salman et al., 2010), condizendo com nossos achados, onde o animal experimental apresentava todos os órgãos localizados no lado oposto da sua topografia habitual, confirmando um caso de *situs inversus totalis*. Dentro do grupo experimental foi o único animal que apresentou a deformidade, sendo que ainda não havia sido relatado esta alteração em animais provenientes do Biotério Central da UFPel, concordando com a raridade de manifestação da síndrome.

Os resultados obtidos no exame radiográfico concordam com outros trabalhos que visualizaram o ápice cardíaco voltado para a direita e base cardíaca voltada para a esquerda, além do estômago do lado direito da cavidade abdominal, com piloro voltado para a esquerda (Jerram et al., 2006). Segundo Souza Junior et al., (2011), os exames por imagem, como radiografias, ultrassonografias, entre outros, são os exames de eleição para a identificação prévia da ocorrência de *situs inversus*, porém sua ocorrência é rara, por isso deve-se ter uma maior atenção no ato do exame para a identificação da anormalidade, que pode passar despercebida.

Os achados de necropsia concordam com o descrito por outros pesquisadores, os quais relataram as mesmas alterações citadas em nosso caso (Jerram et al., 2006; Salman et al., 2010).

CONCLUSÃO

O relato chama a atenção para importância deste tipo de diagnóstico a fim de retirar o animal da linha de produção, já que se trata de animal experimental e embora não existam estudos suficientes para determinar o reflexo da afecção na sanidade dos animais, sabe-se que existe herança genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFZELIUS, B. A. *Situs inversus* and ciliary abnormalities. What is the connection?. *Int. J. Dev. Biol.* v. 39, n. 5, p. 839-844, 1995.

- 146 HAWKINS, E. C. Doenças respiratórias. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G.
147 *Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais*: Rio de Janeiro, 1992. p. 153-
148 157.
- 149 JERRAM, R. M.; WARMAN, C. G. A.; WU, C. T. C.; Echocardiographic and
150 radiographic diagnosis: complete *situs inversus* in a cat. *Veterinary radiology &*
151 *ultrasound*. v. 47, n. 3, p. 313-315, 2006.
- 152 KAYA, A.; KAYA, S. U.; et al. Kartagener's syndrome. *Turkish respiratory journal*. v.
153 3, p. 113-116, 2002.
- 154 NEIL, J.A. Kartagener's Syndrome in a Dachshund Dog. *J Am Anim Hosp Assoc*. v. 38,
155 p. 45-49, 2002.
- 156 SALMAN, B.; TEZCANER, T.; et al. *Situs inversus totalis* in a wistar albino rat.
157 *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*. v. 2, n. 1, p. 006-007, 2010.
- 158 SHIRAIWA, K.; WATANABE, A.; et al. Case report on *situs inversus totalis* in two
159 sprague-dawley rats. *Exp. Anim*. v. 44, n. 4, p. 341-345, 1995.
- 160 SOUZA JUNIOR, P.; SILVA, S. S. R.; MARTINS, M. C. Síndrome de kartagener em
161 um cão (*canis lupus familiaris*) da raça cocker spaniel inglês. *Arquivo Brasileiro de*
162 *Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 63, n. 3, p. 768-772, 2011.
- 163 WILHELM, A., et al. *Situs inversus* imaging. Disponível em:
164 <http://emedicine.medscape.com/article/413679-overview>. Acessado em 20/10/2011.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A técnica usada, por exame radiográfico, foi efetiva na avaliação do momento de saída das esferas da cavidade gástrica e no deslocamento destas no TGI;
- O grupo tratado por eletroacupuntura obteve uma média de tempo menor, seguido do grupo metoclopramida, na análise do momento de saída das primeiras esferas do estômago dos ratos wistar;
- O uso de eletroacupuntura nos pontos BP6 e E36, foram efetivos no aumento da motilidade gástrica em ratos wistar;
- O uso do extrato etanólico na concentração 125mg/kg (TE1), levou a saída mais rápida das esferas, assim como uma maior quantidade foi eliminada, quando comparado aos grupos TE2 (250mg/kg) e TE3 (500mg/kg);
- Nos grupos tratados com extrato aquoso observou-se que na concentração 500mg/kg (TA3), a saída das esferas foi mais rápida, assim como uma maior quantidade foi eliminada, quando comparado aos grupos TA1 (125mg/kg) e TA2 (250mg/kg);
- Os extratos aquoso e etanólico de *R. officinalis* diminuem a motilidade gástrica em ratos wistar, sugerindo que estes podem ser úteis nos distúrbios de aumento motilidade, quando comparados ao controle negativo;
- A ocorrência de *Situs Inversus Totalis* é de caráter congênito e raro, sendo de suma importância o diagnóstico a fim de retirar o animal da linha de produção, já que não existam estudos suficientes para determinar o reflexo da afecção na sanidade dos animais.

5 PERSPECTIVAS

As perspectivas consistem em dar continuidade aos estudos, utilizando novas concentrações dos extratos vegetais de alecrim. Espera-se que através da análise química dos extratos possamos explicar com maior consistência os resultados observados, que podem ter sido influenciados pelos componentes presentes nos diferentes extratos. Outra opção seria utilizar os extratos em animais com alterações de TGI que cursem com o aumento de motilidade, como no caso de diarreias, a fim de comprovar a ação terapêutica dos extratos de alecrim nos animais.

A técnica de eletroacupuntura deverá ser utilizada em alterações de motilidade de animais de companhia, a fim de determinar o tempo de utilização, frequência e pontos a serem utilizados, beneficiando um número maior de animais com esta terapia pouco invasiva e com mínimos efeitos adversos.

REFERÊNCIAS

ABE, F., et al. Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.25, p.1485-1487, 2002.

AFZELIUS, B. A. *Situs inversus* and ciliary abnormalities. What is the connection?. **International Journal of Developmental Biology**, v.39, n.5, p.839-844, 1995.

AL-SEREITI, M. R. et al. Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.37, p.124-131, 1999.

ALVES, M. S., et al. Análise quantitativa dos neurônios mioentéricos da curvatura gástrica menor do estômago glandular de ratos induzidos à carência protéica. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v.13, n.2, p.139-145, 2009.

ALVES, P. M., et al. Antimicrobial and antiadherent activity, *in vitro*, of *rosmarinus officinalis linn.* (alecrim) extract tested on cariogenic microorganisms. **Arquivos em Odontologia**, v.44, n.02, 2008.

ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3ed. São Paulo: Roca, 2008. 936p.

Annamaria Wilhelm, et al: Situs inversus imaging. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/413679-overview>>. Acesso em 20 out. 2011.

AQEL, M. B. Relaxant effect of the volatile oil of *Rosmarinus officinalis* on tracheal smooth muscle. **Journal of Ethnopharmacology**, v.33, p.57-62, 1991.

ARAÚJO, D. S. D.; HENRIQUES, R. P. B. Análise florísticas das restingas do Estado do Rio de Janeiro. In: LACERDA, L. D. de Araújo, D. S. D. de; Cerqueira, R. & Turq, B. (org) – **Restingas: origem, estrutura, processos**. CEUFF, Rio de Janeiro. 1984. 159 – 226p.

BALESTRINI, J. L. et al. Acupuncture accelerates delayed gastrointestinal transit after abdominal surgery in conscious rats. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.40, p.734-735, 2005.

BIRCHARD, S. S.; SHERDING, R. G. **Clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998. 270p.

BUSTAMANTE, H.; WERNER, M. Efecto sedativo de la asociación xilazina-morfina en caninos. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.41, p.229-236, 2009.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, p.179-189, 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America a personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.131-134, 2005.

CARNEVALI, T. R. et al. Avaliação Radiológica Preliminar da Motilidade Gástrica de Ratos Wistar. In: Simpósio Nacional de Diagnóstico por Imagem, 1. Santa Maria-RS, 2010. **Anais...** Santa Maria, p.03-06.

CARVALHO, Ana Cecília Bezerra. **Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil**. 2011. 318f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Universidade de Brasília, Brasília.

CARVALHO, C. M. G. et al. Avaliação da qualidade de extratos vegetais. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.53-62, 2006.

CARVALHO, J. E. Fitoterápicos: Alimento ou Medicamento? In: MERCADANTE, A. Z.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A.; PEREIRA, J. L.; PASTORE, G. M. ed. **Ciência**

de Alimentos: avanços e perspectivas. v.2, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, Campinas, p.196-202, 2001.

CELIK TAS, O. Y., et al. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, n.100, p.553-559, 2007.

CHOI, M. Ultrasonographic observation of intestinal motility of dogs after acupunctural stimulation on acupoints ST36 and BL27. **Journal of Veterinary Science**, v.2, p.221-226, 2001.

CLEBIS, N. K. et al. Avaliação quantitativa e morfométrica dos neurônios mioentéricos da região aglandular do estômago de ratos com Diabetes mellitus induzido por estreptozotocina e suplementados com ácido ascórbico. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, v.8, n.2, p.87-93, 2004.

CORREA, A. D., et al. **Plantas medicinais do cultivo a terapêutica**. Rio de Janeiro: Editora vozes, 1998. 246p.

DAVID, J. P., DAVID, J. M., Planta Medicinais. Fármacos Derivados de Plantas. In: SILVA, P., **Farmacologia**. 6 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.134-145.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária - Doenças do Cão e do Gato**. 5.ed, v.2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2256p.

FIGUEIREDO, M. E., et al. Avaliação Química e da Atividade Anti-Diarréica das Folhas de *Byrsonima cinera* DC. (*Malpighiaceae*). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.1, p.1-5, 2005.

FONSECA, A., et al. Avaliação preliminar do uso de óleo essencial de alecrim em dermatófitos isolados de animais. In: XVIII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, 2009. **Anais...** Pelotas, Editora e Gráfica Universitária.

HALL, E. J., et al. **BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology**. 2 ed. England: Blackwell publishing, 2005. 334p.

HAWKINS, E. C. Doenças respiratórias. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1992. p. 153-157.

HERTWING, I. F. **Plantas Medicinais e Aromáticas: plantio, colheita, secagem e comercialização**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414p.

HOEFLE, C., et al. Comparative choleretic and hepatoprotective properties of young sprouts and total plant extracts of *Rosmarinus officinalis* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.19, p.133-143,1987.

HOPIA, A. I., et al. Effect of Different Lipid Systems on Activity of Rosemary Constituents Carnosol and Carnosic Acid with and without Tocoferol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.2030–2036, 1996.

HUANG, M. T., et al. Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. **Cancer Research**, v.54, n.3, p.701–708, 1994.

HUSSAIN, A. I. **Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae**. 2009, 257f. Thesis (Doctor of Philosophy in Chemistry)-Faculty of Sciences, University of Agriculture, Faisalabad.

JERRAM, R. M.; WARMAN, C. G. A.; WU, C. T. C.; Echocardiographic and radiographic diagnosis: complete *situs inversus* in a cat. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 47, n. 3, p. 313-315, 2006.

JIANYONG, W. et al.. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.8, p.347-352, 2001.

JOAQUIM, Jean Guilherme Fernandes. **Efeito da acupuntura e eletroacupuntura na contração gástrica em cães (*Canis familiaris*)**. 2003. 105f. Dissertação (Mestre em Cirurgia Veterinária)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

JOBST, K. Controlled trial of acupuncture for disabling breathlessness. **Lancet**, v.328, p.1416-1419, 1986.

KAYA, A.; KAYA, S. U.; et al. Kartagener's syndrome. **Turkish Respiratory Journal**, v. 3, p. 113-116, 2002.

KEALY J. K.; MCALLISTER H. **Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and cat**. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. 436p.

LEE, A.; CHAN, S. Acupuncture and anaesthesia. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v.20, n.2, p.303-314, 2006.

LI, Y. et al. The effect of acupuncture on gastrointestinal function and disorders. **American Journal of Gastroenterology**, v.87, p.1372-1381, 1992.

LOONEY, A. L. Using acupuncture in veterinary practice. **Veterinary Medicine**, v.95, n.8, p.615–619, 2000.

LÓPEZ, H. S.; BUENDIA, G. L. **Acupuntura veterinária**. México: Nueva Editorial Interamericana, 1990, 346 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas**. 1.ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2006. 512p.

LUCARINI, R., et al. Extratos brutos do alecrim como potencial agente antibacteriano frente ao *Clostridium perfringens*. In: 31 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia - SP. **Anais...** 31 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.

LUCAS, Danielle Alves Porto. **Identificação e comparação dos principais constituintes químicos da *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (marcela) através dos métodos extrativos hidrodestilação, maceração, Soxhlet, banho e sonda ultrassônicos**. 2011. 71f. Dissertação (Mestre em Química)-Faculdade de Química, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

LUCHESE, F. C., et al. Evaluation of oregano and rosemary essential oils for the prevention of neonatal diarrhea in piglets. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.1, p.17-22, 2011.

MARCHIORI, Vanderli F. **Rosmarinus officinalis**. 2004. 32f. Monografia (Curso Fitomedicina) - Fundação Herbarium, Associação Argentina de Fitomedicina.

MARINHO, M. L., et al. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.9, n.3, p.64-69, 2007.

MARTIN, S. M. M., et al. Actividad diurética y antipirética de un extracto fluido de *Rosmarinus officinalis* L. em ratas. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.9, n.1, p. 1-7, 2004.

MARTINS, E. R., et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 220p.

MAYER, D. J. Acupuncture: an evidence-based review of the clinical literature. **Annual Review of Medicine**, v.51, p.49-63, 2000.

MELECCHI, M. I. S. **Caracterização química de extratos de *Hibiscus Tiliaceus* L.: Estudo comparativo de métodos de extração**. 2005. 197f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MELECCHI, M. I. S., et al. Optimization of the sonication extraction method of *Hibiscus tiliaceus* L. flowers. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.13, p.242-250, 2006.

MOAYYEDI, P., et al. Pharmacological interventions for non-ulcer dyspepsia. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v.1, 2003.

NEIL, J. A. Kartagener's syndrome in a dachshund dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, p. 45-49, 2002.

OUYANG, H. et al. Eletroacupuncture accelerates gastric emptying in association with changes in vagal activity. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 282, p. 390-396, 2002.

OWENS, J. M.; BIERY, D. N. **Radiographic interpretation for the small animal clinician**. 2. ed. Williams & Wilkins, 1999. 112p.

PERES, T.B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, v.64, n.2, p.227-229, 2002.

PETERSEN, M.; SIMMONDS, M. S. J.: Rosmarinic acid. **Phytochemistry**, v.62, p. 121-125, 2003.

ROCHA, L. M. Controle de qualidade de produtos fitoterápicos. In: SHARAPIN, N. **Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos**. Santafé de Bogotá - Colômbia: CAB/CYTED, 2000.

SALAZA, J.A.C.; REYES, C.R.R. Analgesia por Acupuntura. **Revista Cubana de Medicina Militar**, v.33 n.1, p.1-6, 2004.

SALISOVÁ, M., et al. Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.4, p.131-134, 1997.

SALMAN, B.; TEZCANER, T., et al. *Situs inversus totalis* in a wistar albino rat. **Journal of Veterinary Medicine and Animal Health**, v. 2, n. 1, p. 006-007, 2010.

SANTORUM, M., et al. Análise morfométrica dos neurônios da curvatura gástrica maior glandular de ratos induzidos ao alcoolismo. **Revista Paraense de Medicina**, v.24, n.2, p.07-12, 2010.

SANTOS, A. C., et al. Densidade populacional dos neurônios mioentéricos da curvatura gástrica maior do estômago glandular de ratos induzidos ao alcoolismo crônico. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.3, n.3, p.285-289, 2010.

SCHAEFER, D. C.; CHESKIN, L. J. Constipation in the elderly. **American Family Physician**, v.58, n.4, p.907-194, 1998.

SCHIAVON, D. B. A., et al. Use of medicinal plants for antiseptics of cows' teat after milking. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.16, n.3, p.253-259, 2011.

SCHINOR, E. C., et al. Comparison of classical and ultrasound-assisted extractions of steroids and triterpenoids from three *Chresta spp.* **Ultrasonics Sonochemistry**, v.11, p.415-421, 2004.

SCHOEN, A. M. **Acupuntura veterinária – Da arte antiga à medicina moderna**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2006. 624p.

SCHUCH, L. F. D., et al. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados à mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, p.161-169, 2008.

SCHVARTSMAN, S. Plantas venenosas. In: **Manual sobre intoxicações alimentares**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Pediatria, 1990. p.15-24.

SHIRAIWA, K.; WATANABE, A., et al. Case report on *situs inversus totalis* in two sprague-dawley rats. **Experimental Animals**, v. 44, n. 4, p. 341-345, 1995.

SILVA, F. C. C. Ketamina, da anestesia ao uso abusivo: artigo de revisão. **Revista Neurociências**, v.18, n.2, p.227-237, 2010.

SIMÕES, C. M. O., et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2003. 1102p.

SOUSA, T. M. P.; CONCEIÇÃO D. M. Atividade antibacteriana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). **Ensaio e Ciência**, v.5, n.5, p. 7-13, 2007.

SOUZA JUNIOR, P.; SILVA, S. S. R.; MARTINS, M. C. Síndrome de kartagener em um cão (canis lupus familiaris) da raça cocker spaniel inglês. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 768-772, 2011.

STEINER, J. M. **Small Animal Gastroenterology**. Hannover, 2008. 366p.

SUGAI, G. C. M. et al. Serotonin involvement in the eletroacupuncture and moxibustion induced gastric emptying in rats. **Physiology & Behavior**, v.82, p. 855-861, 2004.

SWEENEY, M. A. Constipation, diagnosis and treatment. **Home care provider**, v.2, n.5, p.251-255, 1997.

TABOSA, A., et al. A comparative study of the effects of eletroacupuncture and moxibustion in the gastrointestinal motility of the rat. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, n. 4, p. 602-610, 2004.

TACK, J., et al. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. **Gastroenterology**, v.127, n.4, p.1239-1255, 2004.

TADDEI, I., et al. Spasmolytic activity of peppermint, sage and rosemary essences and their major constituents. **Fitoterapia**, v.59, p.463-468, 1988.

TAKAHASHI, T. Acupuncture for Functional Gastrointestinal Disorders. **Journal of Gastroenterology**, v.41, n.5, p.408-417, 2006.

TATEWAKI, M., et al. Dual effects of acupuncture on gastric motility in conscious rats. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 285, p. 862-872, 2003.

TESKE, M.; TRENTINI, M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 4 ed. Curitiba-PR: Herbarium Lob. Bot. 2001. 317p.

TILLEY, L. P.; SMITH, F. W. K. **Consulta veterinária em 5 minutos – Espécies canina e felina**. 3. ed. Barueri – SP: Manole, 2008. 1547p.

VALACHOVIC, P., et al. Towards the industrial production of medicinal tincture by ultrasound assisted extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.8, p.111-117, 2001.

VIANA, F. A. B. **Guia Terapêutico Veterinário**. 2.ed. Lagoa Santa-MG: Cem, 2007. 462p.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.8, p.303-313, 2001.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas**. 2th. Berlin: Springer, 1996.

WYNN, S. G.; FOUGÈRE, B. J. **Veterinary Herbal Medicine**. St Louis – Missouri: Mosby Elsevier, 2007. 848p.

YAMADA, C. S. B. Fitoterapia sua história e importância. **Racine**. p.50-51, 1998.

YAMAMURA, Ysao. **Efeitos da acupuntura evidenciados por estudos clínicos e experimentais controlados e realizados na Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, no período de 1992 a 2002**. 2002. 81 f. Tese (Livre-Docência em Ortopedia e Traumatologia) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2002.

YIN, J.; CHEN, J. D. Z. Gastrointestinal motility disorders and acupuncture. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v.157, p.31-37, 2010.

Apêndice

APÊNDICE A – Carta de aceite do CEEA-UFPeI

Pelotas, 18 de dezembro de 2010.

De: Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Pres. da Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEE A)

Para: Prof^a. Marlete Brum Cleff

Clínicas Veterinárias

Faculdade de Veterinária

Senhora Professora:

A CEEA analisou o projeto intitulado: **"Avaliação radiológica da motilidade gástrica em modelo experimental submetido à eletroacupuntura"**, processo nº 23110.006538/2010-66, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste Projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa para posterior registro no COCEPE (Código para Cadastro nº CEEA 6538).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Orlando Antonio Lucca Filho

Presidente da CEEA