

# V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



### CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO VASODILATADOR DO EUGENOL EM ARTÉRIA UMBILICAL HUMANA

**Guilherme Maciel Honor de Brito, Débora de Menezes Dantas, Renata Evaristo Rodrigues da Silva, Francisco Junio Dias, Gabriela Lucena Calixto, Carla Mikevely de Sena Bastos, Cícera Georgia Brito Milfont e Roseli Barbosa**

**Resumo:** O presente trabalho investigou o efeito do eugenol (EUG) sobre a contratilidade do músculo liso vascular de artéria umbilical humana (AUH). No desenvolvimento experimental utilizou-se artérias umbilicais humanas de parturientes normotensas. Os tecidos foram mantidos em solução de Krebs Henseleit (temperatura 37°C e pH 7,2) na AUH isolada para registro isométrico das contrações musculares. Ao avaliar o efeito do EUG no acoplamento eletromecânico, concentrações crescentes e cumulativas do EUG (100 - 1400 µM), foram adicionadas durante o platô da contração induzida por KCl. Percebe-se que a adição desse composto, induziu um relaxamento o valor de EC<sub>50</sub> obtido foi de 986,4 ± 7,9 µM/mL. Esses dados preliminares demonstram o efeito vasorrelaxante do EUG em AUH, corroborando com a atividade miorelaxante já verificada permitindo o uso dessa substância no desenvolvimento de novos fármacos.

**Palavras-Chave:** Fenilpropanoide, cordão umbilical humano, relaxante

#### 1. Introdução

Distúrbios hipertensivos da gravidez afetam quase 10% de todas as mulheres grávidas em todo o mundo. Este grupo de doenças e condições inclui a pré-eclâmpsia (PE), a eclâmpsia, a hipertensão gestacional e a hipertensão crônica (STEEGERS et al., 2010). Essas doenças podem manifestar complicações para o feto, como restrição do crescimento fetal, líquido amniótico reduzido, oxigenação anormal, uma vez que ocasiona um aumento da resistência periférica e vasoconstrição geral (MOHAUPT, 2007)

Diante das inúmeras consequências decorrentes das desordens hipertensivas para o feto, percebeu-se a necessidade de investigar substâncias, oriundas de produtos naturais, que possam apresentar efeito relaxante em artéria umbilical humana (AUH), permitindo detectar possíveis alvos terapêuticos para o tratamento de distúrbios desses vasos.

# V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



Dentre os compostos derivados de produtos naturais, tem-se o eugenol (EUG), um fenol monoterpênóide derivado do fenilpropano (BRUNETON, 1995; TISSERAND; BALACS, 1995). Pode ser extraído de várias plantas aromáticas, sendo a fonte mais conhecida e utilizada é a *Eugenia caryophyllata*, onde seu óleo é retirado das folhas secas, mais conhecido como - cravos (LAZARO-FILHO, 2000). Na literatura são citadas atividades biológicas para o eugenol relacionada a musculatura lisa tais como: atividade miorreloxante em íleo (LEAL-CARDOSO et al., 2002), traqueia de ratos (LIMA et al., 2011), bem como em útero de ratas (SÁNCHEZ-TRIGUEROS et al., 2017); Damiani et al., (2003) também verificou ação vasorreloxante, resultante do bloqueio dos canais de  $Ca^{2+}$  dependentes de voltagem e canais operados por voltagem para o eugenol em aorta torácica de ratos. No entanto não foi verificado o efeito do eugenol sobre vasos umbilicais humanos.

Uma vez que, a maioria das atividades miorreloxante para produtos naturais são avaliadas em modelos animais de roedores e mediante as desordens que afetam a musculatura lisa vascular de artéria umbilical humana, buscou-se avaliar o efeito do eugenol sobre contrações das células musculares lisas de artéria umbilical humana (AUH).

## 2. OBJETIVOS

Investigar o efeito do eugenol (EUG) sobre a contratilidade do músculo liso vascular de artéria umbilical humana (AUH).

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do hospital Hospital e Maternidade São Francisco de Assis localizado no município de Crato-CE e pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Universidade Regional do Cariri-URCA com Número do Parecer: 1.962.667. Aplicou-se ainda um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para realizar a coleta dos cordões umbilicais. Utilizou-se como amostra as parturientes que atenderam aos seguintes critérios: idade acima de 18 anos; submetidas ao parto do tipo normal ou cesariano; sem relatos de complicações médicas.

Mediante a coleta as AUH foram transportadas para o Laboratório de Fisiofarmacologia – LFCE (URCA), conseqüentemente realizou-se a limpeza do material com a retirada da geleia de Wharton bem como dos tecidos anexos, seccionou-se a artéria em anéis de 3-5 mm de comprimento.

Os anéis foram suspensos, e mantidos sob uma tensão isométrica de 3g, em meio a solução Krebs Henseleit por um período de 2 horas (WYLAM et al., 1993), a solução Krebs Henseleit foi renovada a cada 15 minutos, nos

# V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



primeiros 90 min. Uma vez que o tecido foi estabilizado, evocou-se uma contração com uma solução de Krebs Henseleit isotônica modificada com KCl (60 mM), para verificação da viabilidade do tecido.

### 3.1 Protocolo Experimental

3.1.1 Investigação do efeito do eugenol sobre contrações induzidas por solução de Krebs Henseleit com 60 mM de KCl na AUH isolada.

Para avaliar o efeito do EUG sobre contrações evocadas por  $K^+$ , após o período de retorno à linha de base, administrou-se uma nova contração com a solução de *Krebs Henseleit* isotônica modificada com 60 mM de KCl (SANTOS-SILVA; CAIRRÃO; VERDE, 2010), ao atingir a fase tônica da contração na preparação foram adicionadas concentrações crescentes de EUG (100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400  $\mu$ M), de forma cumulativa, para obtenção de uma curva concentração-resposta. A resposta foi expressa como porcentagem de relaxamento da contração promovida por 60 mM de KCl.

Ao final de cada experimento, foram realizadas lavagens de trinta minutos consecutivos com contrações induzidas por KCl 60 mM, mostrando a reversão dos efeitos, e, portanto, viabilidade do tecido ao longo do experimento.

## 4. RESULTADOS

4.1 Efeito relaxante do eugenol sobre tônus vascular e sobre contrações induzidas por KCl (60 mM) em artéria umbilical humana.

Ao avaliar o efeito do EUG no acoplamento eletromecânico, concentrações crescentes e cumulativas do EUG (100 - 1400  $\mu$ M), foram adicionadas durante o platô da contração induzida por KCl (60 mM). Percebe-se que a adição desse composto, induziu um relaxamento dependente da concentração quando comparados com o controle (Fig.1). Esse efeito foi estatisticamente significativo a partir da concentração de 600  $\mu$ M ( $p < 0,001$ , ANOVA, Método de Holm-Sidak). O valor de  $EC_{50}$  obtido foi de  $986,4 \pm 7,9$   $\mu$ M/mL.

Esses dados preliminares demonstram o efeito vasorrelaxante do EUG em AUH, corroborando com a atividade miorelaxante já verificada para esse composto na literatura incluindo em vasos (DAMIANI et al., 2003; LIMA et al., 2011).

# V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



Esse dado preliminar propõe investigações dos mecanismos envolvidos na ação vasorrelaxante do EUG. Os estudos com produtos naturais em vasos umbilicais humanos são ainda bastante escassos, o nosso grupo tem avaliado a ação de alguns compostos (EVARISTO RODRIGUES DA SILVA et al., 2020) em vasos umbilicais humanos e as pesquisas mostram-se como uma inovação no estudo de produtos naturais em vasos humanos.

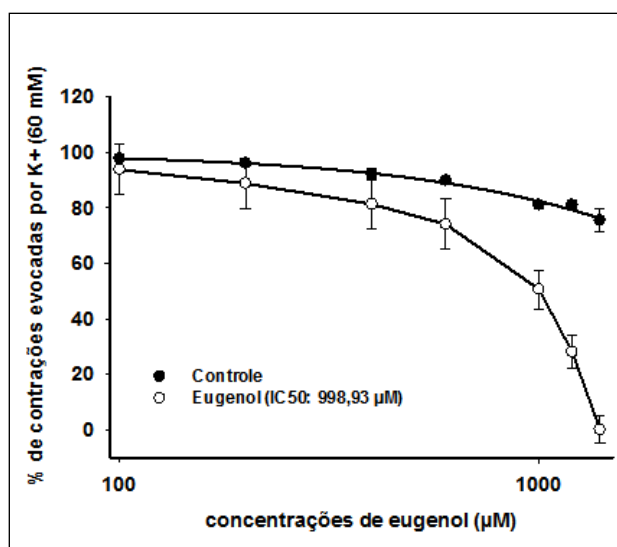


Figura 1: Efeito do eugenol no acoplamento eletromecânico em artéria umbilical humana. Gráfico concentração-resposta do efeito vasorrelaxante do EUG (100-1400 µM) sobre AUH pré-contraída com KCl (60 mM) N= 9. Os valores estão expressos como média ± E.P.M.; representa os efeitos significantes ( $p < 0,05$ , one-way ANOVA seguido de Holm-Sidak).

## 5.CONCLUSÃO

O eugenol demonstrou efeito vasorrelaxante em artéria umbilical humana sobre acoplamento eletromecânico. Estes resultados propõe a continuidade da investigação dos mecanismos envolvidos no efeito vasorrelaxante do EUG sobre AUH, uma vez que esse composto possivelmente pode ser utilizado como molécula terapêutica para desordens relacionadas a AUH.

## REFERÊNCIAS

BRUNETON, J. Terpenoids and steroids. In: Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, ed. Bruneton, J., pp. 385-621. Paris, France, Technique & Documentation – Lavoisier. 1995.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA  
XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia pela COVID-19 no ensino, pesquisa e extensão"



DAMIANI, C. E. N.; ROSSONI, L. V.; VASSALLO, V. Vasorelaxant effects of eugenol on rat thoracic aorta. **Vascular pharmacology**, v. 40, n. 1, p. 59-66, 2003.

EVARISTO RODRIGUES DA SILVA, Renata, et al. Relaxant Effect of Monoterpene (-)-Carveol on Isolated Human Umbilical Cord Arteries and the Involvement of Ion Channels. **Molecules**, , v. 25.n. 11, p 2681, 2020.

**LAZARO-FILHO, M.** 2000. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

Leal-Cardoso, J. H., Lahlou, S., Coelho-de-Souza, A. N., Criddle, D. N., Pinto Duarte, G. I., Santos, M. A., & Magalhães, P. J. Inhibitory actions of eugenol on rat isolated ileum. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 80, n. 9, p. 901-906, 2002.

LIMA, F. C., PEIXOTO-NEVES, D., GOMES, M. D. M., COELHO-DE-SOUZA, A. N., LIMA, C. C., ARAÚJO ZIN, W., LEAL-CARDOSO, J. H. Antispasmodic effects of eugenol on rat airway smooth muscle. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 25, n. 6, p. 690-699, 2011.

MOHAUPT, M., Molecular aspects of preeclampsia. Molecular aspects of medicine, 2007. 28(2): p. 169-191

SÁNCHEZ-TRIGUEROS, M. I., ORTIZ, M. I., & PONCE-MONTER, H. A. Efecto espasmolítico de Eugenol en tejido muscular uterino aislado de rata.

Spasmolytic effect of Eugenol on isolated rat uterine smooth muscle. **Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de la Salud del ICSa**, v. 6, n. 11, 2017

SANTOS-SILVA, A. J., CAIRRÃO, E., & VERDE, I. Study of the mechanisms regulating human umbilical artery contractility. *Health*, v. 2, n. 04, p. 321, 2010.

Stegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet*, 2010, 21;376(9741):631–44.

WYLAM, M. E., SAMSEL, R. W., SCHUMACKER, P. T., & UMANS, J. G. Extracellular calcium and intrinsic tone in the human umbilical artery. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 266, n. 3, p. 1475-1481, 1993.