

EFEITO VASORRELAXANTE DO CITRAL SOBRE VASOS UMBILICAIS HUMANOS

Francisco Junio Dias¹, Luis Pereira de Moraes², Maria Franciele Lima Gomes³ Cícera Georgia Brito Milfont⁴ Thaís de Souza Amorim⁵ Nayane de Sousa Almeida⁶ Roseli Barbosa⁷

Resumo: O presente estudo avaliou o efeito do citral em vasos umbilicais de parturientes normotensas (NM) e com pré-eclâmpsia (PE). As coletas foram realizadas utilizando solução *Krebs* modificada para transporte. Posteriormente os vasos foram isolados do cordão umbilical e seccionados em anéis, os quais foram mantidos em meio a solução *Krebs Henseleit* (37 °C, pH 7,4) em banho de órgãos a uma tensão de 3 g durante 3 h (estabilização). Investigou-se o efeito do citral em artérias (AUH) e veia umbilical (VUH) humana nas condições NM e PE sobre o tônus basal com a administração de concentrações crescentes e cumulativas (1 a 1000 µM) e sobre contrações evocadas por KCl 60 mM. Na condição NM o citral relaxou o tônus basal dos vasos a partir da concentração de 400 µM. O citral relaxou as contrações induzidas por KCl 60 mM em AUH (1000 µM) e VUH (600 µM) com eficácia máxima de 100 % nas condições NM e PE. Para AUH-NM e AUH-PE, verificou-se valores de IC₅₀: 417,56 µM e 363,31 respectivamente; nas preparações de VUH-NM e VUH-PE os valores de IC₅₀ verificados foram: 271,29 µM e 218,33 µM respectivamente. Observou-se, portanto, o efeito vasorrelaxante do citral sobre vasos NM e com PE maior potência farmacológica na condição PE, bem como sobre a VUH em evidência pelos valores de IC₅₀.

Palavras-chave: Citral. Vasorrelaxamento. Cordão umbilical. Pré-eclâmpsia. Monoterpeno.

1. Introdução

A elevação da pressão arterial em gestantes provoca efeitos deletérios sobre diversos sistemas, principalmente vascular, hepático, renal e cerebral. Essas complicações observadas acarretam a alta morbimortalidade materna e perinatal em mulheres com pré-eclâmpsia (PE) e hipertensão gestacional (HG). Um fator preocupante é que essas condições ainda são as principais causas de morte materna no Brasil e no mundo (PERAÇOLI et al., 2019; ARAUJO et al., 2007).

Tendo em vista as inúmeras consequências causadas pela pré-eclâmpsia ao feto, se faz importante a busca por substâncias capazes de atuar sobre os diferentes padrões de contrações e na resistência dos vasos umbilicais a fim de normalizar o fluxo sanguíneo feto-placentar. Os produtos naturais apresentam uma infinidade de substâncias, a exemplo, os terpenos dentre os quais o

1 Universidade Regional do Cariri, email: autor1@urca.br

2 Universidade Federal do Cariri, email: autor2@ufca.br

3 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, email: autor3@ifce.br

4 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, email: autor4@ifce.br

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

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



monoterpenoide citral se destaca por já demonstrar efeito vasorrelaxante, mas ainda não elucidado em vasos de cordão umbilical humano.

Avaliando-se as atividades biológicas, dados da literatura demonstram que o óleo essencial de *P. brevipedunculata* e seu composto citral são responsáveis por uma vasodilatação em anéis de aorta de ratos com dependência do NO/GMPc ativando influxo de cálcio pelos canais operados por voltagem (PEREIRA, 2013).

2. Objetivo

• Geral

Avaliar o efeito miorelaxante do citral em vasos umbilicais humanos de parturientes com pré-eclâmpsia;

• Específico

Verificar a ação do citral sobre o tônus basal de vasos umbilicais de parturientes normotensas e com pré-eclâmpsia;

Avaliar o efeito do citral frente às contrações induzidas por KCl.

3. Metodologia

3.1 Aspectos Éticos

A pesquisa seguiu as recomendações propostas pelo Conselho Nacional de Saúde de resolução 466/12 (BRASIL, 2012) e passou pela aprovação do Comitê de ética em Pesquisa Humana da Universidade Regional do Cariri-URCA nº 1.962.667. As coletas dos cordões foram realizadas mediante a assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecimento (TCLE).

As coletas contaram com critérios de inclusão e exclusão. Os critérios de inclusão foram: parturientes entre 19 a 39 anos que passaram por parto normal, sem complicações clínico-obstetras e com idade gestacional entre 37 e 41 semana e 6 dias. Critérios de exclusão: pacientes com doenças infectocontagiosas (HIV, hepatite, dentre outras), diabetes, hipercolesterolemia e doenças autoimunes além de fetos natimortos ou com patologia no cordão (nó, artéria umbilical única, cordão espiralado, estenose, inserção velamentosa, redução da geleia de Wharton) ou com tamanho anormal (BARISKANER et al., 2003).

3.2 Coleta e preparação do Material

A coleta foi realizada, apenas de partes do cordão destinadas ao descarte biológico, utilizando solução Krebs modificado para transporte (NaCl 125,0; KCl 4,8; CaCl₂ 1,0; MgSO₄ 1,2; NaHCO₃ 25,0; KH₂PO₄ 1,2; C₆H₁₂O₆ 11,0; HEPES 25,0; EDTA 0,3 mM) (LEREIS et al., 2006). Os cordões foram armazenados em geladeira (MILDENBERGER et al., 2003).

Em meio a solução Krebs para transporte em baixa temperatura os vasos foram livres da geleia de Wharton, do tecido conectivo e adiposo e foram seccionados em anéis de 3 a 5 mm de comprimento. Após a extração e secção dos vasos, foi removido o endotélio vascular, utilizando uma pinça fina com

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

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



algodão. Os anéis foram transferidos para banho termostático de órgãos através de uma haste metálica conectada a um transdutor de força isométrica (TRI, modelo 210, Panlab, Spain) em cubas contendo 10 ml de solução Krebs Henseleit (NaCl 119,0; KCl 4,7; CaCl₂ 2,5; MgSO₄ 1,0; NaHCO₃ 25,0; KH₂PO₄ 1,2; C₆H₁₂O₄ 1,2; C₆H₁₂O₆ 11,0; EDTA 0,004 mM), sob condições constantes de 37 °C, pH 7,4 e gaseificada com mistura gasosa de O₂ 95% e CO₂ 5%. O transdutor é conectado a um amplificador diferencial (DATAQ, modelo PM-1000, USA), e este à uma placa conversora analógica digital (DATAQ DI-200) instalada em um computador, cujos dados coletados são convertidos em traçados e armazenados em arquivos através do software WINDAQ (DATAQ Instrumentos, Inc. USA).

3.3 Estabilização

Para a estabilização do tecido, os anéis foram suspensos, e mantidos sob uma tensão isométrica de 3 g, por um período de três horas (WYLAM et al., 1993), durante esse período, a solução Krebs Henseleit foi renovada a cada 15 minutos, nos primeiros 150 min, para prevenir a interferência de metabólitos. Nos últimos 30 min a solução e a tensão não foram alteradas, até o início do ensaio. Após a estabilização, uma contração com uma solução de Krebs Henseleit isotônica modificada, onde foi substituído 60 mM de KCl por 60 mM de NaCl, foi induzida com a finalidade de certificar a viabilidade do tecido (SALOM et al., 1990; SANTOS-SILVA; CAIRÃO; VERDE, 2010; TUFAN et al., 2003; WYLAM et al., 1993).

3.4 Ensaio

Para avaliar o efeito do citral sobre o tônus basal espontâneo, foram administradas concentrações crescentes e cumulativas (1, 3, 10, 30, 100, 300, 600 e 1000 µM) após o retorno a linha de base.

A via eletromecânica foi avaliada por meio de uma prévia contração utilizando solução Krebs modificada com 60 mM de KCl (SANTOS-SILVA; CAIRÃO; VERDE, 2010). Na fase tônica da contração promovida por 60 mM de KCl foram adicionadas as concentrações crescentes e cumulativas do citral.

4. Resultados

O efeito vasorrelaxante do citral sobre o tônus basal de vasos sanguíneos de cordão umbilical humano, mostrou um relaxamento do tônus dos vasos em condição normotensa a partir da concentração de 400 µM, tanto em artérias (Figura 1) como em veias (Figura 2).

Quanto ao relaxamento do tônus de artérias e veias, o citral mostrou maior efeito relaxante sobre vasos na condição normotensa do que em vasos de parturientes com pré-eclâmpsia (Figura 1 A e B). Isso porque nesta condição os vasos apresentam disfunção endotelial que causa maior sensibilidade a contrações e maior resistência ao relaxamento. Resultados semelhantes foram observados por Andrew et al.1993.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

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

ISSN 1983-8174

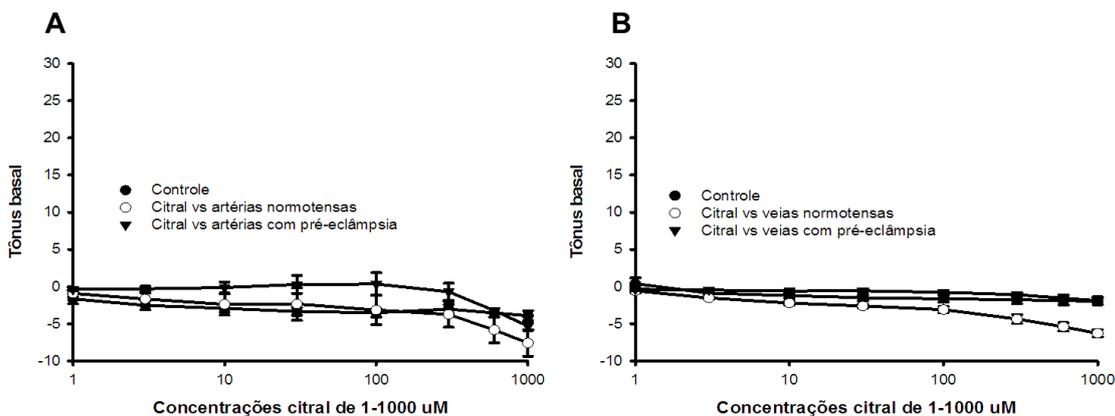


Figura 1: Efeito do citral sobre o tônus basal de artérias e veias umbilicais humana normotensas e com pré-eclâmpsia. 1A: efeito do citral sobre o tônus basal de AUHNM e AUHPE; 1B: efeito do citral sobre o tônus basal de VUHNM e VUHPE; n=6. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.; ($p < 0,05$, *one-way* ANOVA seguido de Holm-Sidak).

O citral relaxou as contrações induzidas por KCl 60 mM em artérias umbilicais humanas com eficácia máxima nas concentrações 1000 μ M para artérias normotensas e 600 μ M para artérias com pré-eclâmpsia (Figura 2A). Os valores de IC_{50} foram de 417,56 μ M em artérias normotensas e 363,31 μ M em artérias com pré-eclâmpsia (Figura 2A). Em veias também foi observado ação miorelaxante do citral atingindo 100% de relaxamento na concentração de 600 μ M e com IC_{50} 271,29 μ M em veias normotensas e 218,33 μ M em veias com pré-eclâmpsia (Figura 2B). Podemos observar que o citral possui maior potência em vasos umbilicais de mulheres acometidas por pré-eclâmpsia, provavelmente essa diferença esteja relacionada com algum fator envolvido no mecanismo da pré-eclâmpsia.

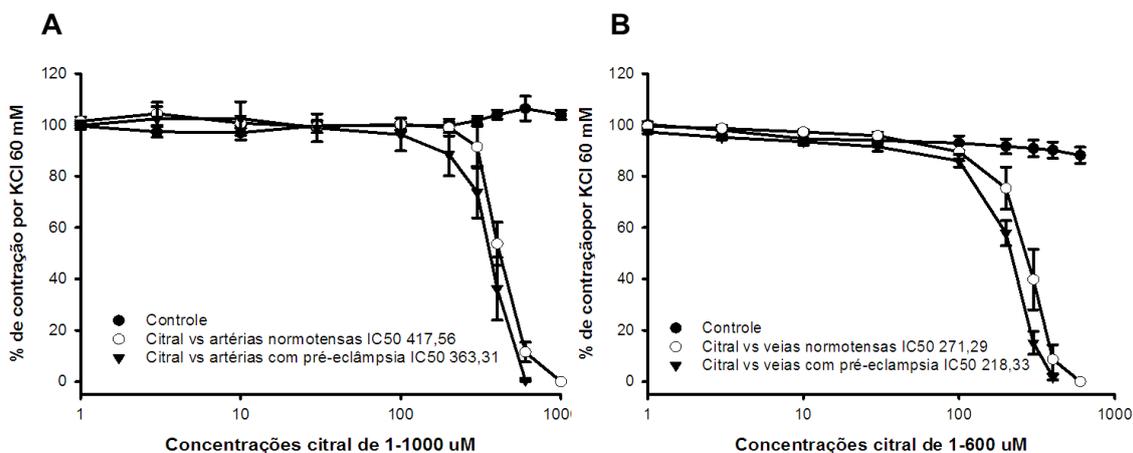


Figura 2: Efeito do citral sobre contrações evocadas por KCl (60 Mm) de artérias e veias umbilicais humana normotensas e com pré-eclâmpsia. 2A: efeito do citral sobre contrações evocadas por KCl (60 mM) AUHNM e AUHPE; 2B: efeito do citral sobre contrações evocadas por

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

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



KCl (60 mM) VUHNM e VUHPE; n=6. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M.; ($p < 0,05$, one-way ANOVA seguido de Holm-Sidak).

O efeito vasorrelaxante do citral foi semelhante quando comparado as condições normotensas e pré-eclâmpsia frente a contrações evocadas por KCl. Outros estudos com citral, demonstram efeito relaxante parecido em outros músculos lisos, não humano, da Silva *et al.* (2018) obtiveram IC₅₀ de 601,66 μ g/mL em aorta isolada de rato, frente a contrações invocadas por potássio e fenilefrina. O nosso estudo demonstrou valores de IC₅₀ menores o que propõe uma maior potência farmacológica do citral em vasos umbilicais humanos.

5. Conclusão

O citral foi capaz de relaxar o tônus de vasos na condição normotenso. Mostrou efeito miorrelaxante significativo de vasos umbilicais normotensos e com pré-eclâmpsia, contraídos por KCl 60 mM.

6. Referências

PERAÇOLI, J. C., BORGES, V. T. M., RAMOS, J. G. L., DE CARVALHO CAVALLI, R., COSTA, S. H. D. A. M., DE OLIVEIRA, L. G. et al. Pre-eclâmpsia/Eclâmpsia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia/RBGO Gynecology and Obstetrics**, v. 41, n. 05, p. 318-332, 2019.

ARAÚJO, F. M., DUARTE, G., NOMEINI, J., LÔBO, R. B., RAMOS, E. S. Familial occurrence of gestational hypertensive disorders in a Brazilian population. **Hypertension in pregnancy**, v. 26, n. 3, p. 357-362, 2007.

BARISKANER, H., TUNCER, S., TANER, A., DOGAN, N. Effects of bupivacaine and ropivacaine on the isolated human umbilical artery. **International Journal of Obstetric Anesthesia**, v. 12, n. 4, p. 261-265, 2003.

LEREIS, V. A. P., HITA, F. J., GOBBI, M. D., VERDI, M. G., RODRIGUEZ, M. C., & ROTHLIN, R. P. Pharmacological characterization of muscarinic receptor subtypes mediating vasoconstriction of human umbilical vein. **British journal of pharmacology**, v. 147, n. 5, p. 516-523, 2006.

MILDENBERGER, E., BIESEL, B., SIEGEL, G., VERSMOLD, H. T. Nitric oxide and endothelin in oxygen-dependent regulation of vascular tone of human umbilical vein. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 285, n. 4, p. H1730-H1737, 2003.

Salom, J. B., Campos, V., Perales, A., Torregrosa, G., Miranda, F. J., Alabadi, J. A., Alborch, E. Effects of calcium entry blockers on KCl-and 5-hydroxytryptamine-induced contractions of human umbilical arteries. **Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie**, v. 304, p. 219-231, 1990.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA
XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

*Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino,
pesquisa e extensão"*



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.

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.

ANDREW L. MCCARTHY, ROBIN G. WOOLFSON, SHANTI K. RAJU, LUCILLA POSTON. Abnormal endothelial cell function of resistance arteries from women with preeclampsia. **Science direct**. 1993. doi.org/10.1016/0002-9378(93)90389-Z.

DA SILVA, R. E. R., DE MORAIS, L. P., SILVA, A. A., BASTOS, C. M. S., PEREIRA-GONÇALVES, Á., KERNTOPF, M. R. et al. Vasorelaxant effect of the Lippia alba essential oil and its major constituent, citral, on the contractility of isolated rat aorta. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 792-798, 2018.