

# 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"



### CARACTERIZAÇÃO DO EFEITO VASODILATADOR DO MONOTERPENÓIDE CARVEOL EM ARTÉRIA ISOLADA DE CORDÃO UMBILICAL

**Gabriela Lucena Calixto, Renata Evaristo Rodrigues da Silva, Débora de Menezes Dantas, Nayane de Sousa Almeida, Carla Mikevely de Sena Bastos, Maria Franciele Gomes, Roseli Barbosa**

**Resumo:** Os terpenos desempenham atividades farmacológicas, descritas pela literatura, em experimentos com animais. Contudo, estudos que apresentem a ação desses compostos em vasos umbilicais ainda não foram descritos. Portanto, esse trabalho objetivou investigar o efeito do monoterpênóide carveol em artéria de cordão umbilical humano (AUH). Os cordões foram obtidos de gestantes saudáveis, após parto normal ou cesáreo. As amostras foram transportadas para o laboratório, isoladas, seccionadas (3 a 4 mm) e colocadas nas cubetas do banho de órgão permanecendo em estabilização por 2 horas e 30 minutos, em solução de Krebs Henseleit. Posteriormente, induziram-se duas contrações subsequentes com 60 mM de KCl e, em seguida, administrou-se KCl (60mM) ou 5-HT (10  $\mu$ M), seguidos por uma adição crescente e cumulativa de carveol (1-5000  $\mu$ M). Evidenciou-se que o carveol induziu vasodilatação nas vias eletro e farmacomecânica, além da participação parcial de canais de potássio no vasorrelaxamento promovido pelo carveol, dada pela presença do tetraetilamônio. Esses resultados podem trazer novas perspectivas de tratamento para disfunções vasculares da AUH, como a pré-eclâmpsia.

**Palavras-chave:** Carveol. Cordão umbilical humano. Vasodilatação.

#### 1. Introdução

A importância dos produtos naturais e dos seus metabólitos na cura e controle de muitas patologias tem sido reconhecida pela ciência contemporânea, de modo que uma variedade de medicamentos atualmente utilizados possui como fonte primária os produtos naturais, incluindo as plantas medicinais (PETROVSKA, 2012). Dentre as classes de metabólitos existentes, uma que

merece destaque são os terpenos, os quais possuem diversas propriedades farmacológicas, muitas das quais relacionada a sua estrutura.

Nos últimos anos foram relatados vários estudos sobre as propriedades farmacológicas relacionando a estrutura dos terpenos, inclusive sobre o sistema cardiovascular, o que apontam essa classe de metabólitos produzidos por diversas plantas como uma fonte promissora de protótipos para expansão de novos agentes utilizados na terapêutica vascular. O clássico estudo de Dubey *et al.* (1974) revelou o cleonol, com atividade hipotensora, vasodilatadora e espasmolítica inespecífica. Estudo envolvendo aorta isolada de ratos, demonstrou efeito vasorrelaxante dos monoterpernos carvacrol e timol (PEIXOTO-NEVES *et al.*, 2010), enquanto que o citronelol induziu hipotensão em ratos hipertensos (BASTOS *et al.*, 2010). Considerando esses efeitos cardiovasculares promovidos por terpenos, é importante que se estude cada vez mais essa classe de composto, inclusive por sua abundância e disponibilidade. Algumas publicações já revelam produtos farmacêuticos utilizando terpenóides como princípios ativos (GUIMARÃES *et al.*, 2013.)

Ademais, é válido ressaltar que o cordão umbilical é uma fonte de baixo custo e abundante de tecido vascular humano (HOENICKA *et al.*, 2008), além de fácil obtenção quando comparado com outros vasos humanos. Adicionalmente, o método de pesquisa com vasos de cordão umbilical é de grande magnitude quando se leva em conta a importância da consciência do uso animal para fins científicos e didáticos, visto que segundo os aspectos éticos da pesquisa com animais existe um estímulo para adoção de métodos alternativos, e o uso destes seres vivos serem minimizados (BRASIL, 2008).

Portanto, evidencia-se esse estudo possa direcionar a um melhor entendimento sobre o efeito vasodilatador do monoterpenóide Carveol, na musculatura lisa de cordão umbilical humano, podendo estimular a descoberta de um potencial fármaco.

## **2. Objetivo:**

- Investigar o efeito do carveol sobre a contratilidade do músculo liso vascular de artéria de cordão umbilical humano.

## **-Objetivos específicos:**

- Verificar o efeito do carveol sobre o tônus basal de anéis de artéria de cordão umbilical humano;
- Investigar ação do carveol, nas vias eletromecânicas e farmacomecânica, induzidas respectivamente por KCl e serotonina;
- Investigar o efeito carveol sobre os canais de K<sup>+</sup>

### **3. Metodologia:**

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética em Pesquisa Humana da Universidade Regional do Cariri-URCA (nº 3.832.881) e pelo Comitê de ética do Hospital e Maternidade São Francisco de Assis. Fragmentos de aproximadamente 10 cm de cordão umbilical humano (porções que seriam destinadas ao descarte biológico), foram obtidos com consentimento das mães doadoras, saudáveis, normotensas e sem nenhum distúrbio desse cordão, após parto normal ou cesáreo.

As amostras foram coletadas, armazenadas e transportados para o Laboratório de Fisiofarmacologia das Células Excitáveis da URCA, em solução de Krebs Modificado. A artéria umbilical humana (AUH) foi isolada do seu tecido conectivo e cortada em anéis de 3 a 4 mm, os quais foram colocados nas cubetas do banho de órgão contendo 10 ml de solução nutritora de Krebs Henseleit (mantida a 37 °C, borbulhada com mistura carbogênica (95% O<sub>2</sub> ; 5% CO<sub>2</sub> ), permanecendo em estabilização por 2 horas e 30 minutos.

Decorrido este tempo, foi-se induzido duas contrações subsequentes, reproduzidas pela adição de 60 mM de KCl (K60), de modo hipertônico nos anéis de AUH estudados, considerando-se a contração máxima do anel. Em seguida foram feitas administração com os agonistas: KCl (60mM para a via eletromecânica) ou 5-HT (10 µM para a via farmacomecânica), seguidos por uma adição crescente e cumulativa de carveol (1-5000 µM). Para cada nova concentração de carveol, foi esperado um tempo de 5 a 15 minutos, para a resposta atingir o estado estacionário. Apenas os experimentos com contrações reproduzíveis foram considerados viáveis para as séries experimentais.

### **4. Resultados:**

Ao avaliar a atividade do Carveol (adicionando-se concentrações crescentes e cumulativas do carveol (1-5000 µM) em todos os protocolos utilizados), sobre

o tônus basal das AUH, os resultados demonstram que o Carveol induziu vasorrelaxamento no tônus basal de AUH, reduzindo  $72,77 \pm 4,69$  % do tônus basal ( $p < 0,05$ ) (Figura 1A).

Visando analisar se o carveol possuía efeito sobre a via farmacomecânica, induziu-se uma contração da musculatura lisa da AUH com serotonina ( $10\mu\text{M}$ ), observando-se que este apresentou um vasorrelaxamento de maneira concentração dependente nos anéis de AUH. O carveol apresentou efeito relaxante estatisticamente significativo a partir da concentração de  $10\mu\text{M}$ , com uma CE 50 de  $175,82 \pm 4,05\mu\text{M}$  ( $p < 0,05$ , one way ANOVA, seguido de Holm-Sidak) (Figura1B).

Para avaliar se o carveol possuía efeito sobre a via eletromecânica, foi induzida contração da musculatura lisa da AUH com solução de Krebs Henseleit modificada com  $60\text{ mM}$  de KCL. Nesses anéis de AUH pré-contraídos, o carveol induziu vasodilatação de maneira dependente da concentração, e este relaxamento foi estatisticamente significativo a partir da concentração de  $100\mu\text{M}$ . O carveol mostrou um deslocamento da curva, aumentando a CE 50 para  $344,25 \pm 5,41\mu\text{M}$  ( $p < 0,05$ , one way ANOVA, seguido de Holm-Sidak). Demonstrou-se que o carveol se mostrou menos potente em relaxar anéis pré-contraídos com KCL do que com 5-HT. (Figura 1C)

Ademais, para investigar a participação de canais de potássio na resposta vasorrelaxante promovida pelo carveol,  $10\text{ Mm}$  de tetraetilamônio (TEA) foi adicionado à preparação e em seguida foi induzida uma contração com  $10\mu\text{M}$  de 5-HT e pela análise dos dados, notou-se que ocorre participação parcial dos canais de potássio dependente de voltagem (Figura 1D).

## **5. Conclusão:**

O Carveol promoveu o relaxamento da contratilidade vascular de AUH, fato que pode nos trazer novas perspectivas de tratamentos terapêuticos para as disfunções vasculares da AUH como a pré-eclâmpsia.

## **6. Referências:**

BASTOS, Joana FA et al. Hypotensive and vasorelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, v. 106, n. 4, p. 331-337, **2010**.

BRASIL. Lei 11.794, de 8 de outubro de **2008**- Lei Arouca: Estabelece procedimentos para uso científicos de animais.

DUBEY, M. P. et al. Hypotensive and spasmolytic activities of coleonol, active principle of *Coleus forskohlii* Briq. *Indian Journal of Pharmacology*, 6 (**1974**), v. 15, 1974.

GUIMARÃES, A. G.; QUINTANS, J. S. S.; QUINTANS, L. J., Jr. Monoterpenes with analgesic activity--a systematic review. *Phytotherapy research: PTR*, v. 27, n. 1, p. 1–15, **2013**.

HOENICKA, Markus et al. Advantages of human umbilical vein scaffolds derived from cesarean section vs. vaginal delivery for vascular tissue engineering. *Biomaterials*, v. 29, n. 8, p. 1075-1084, **2008**.

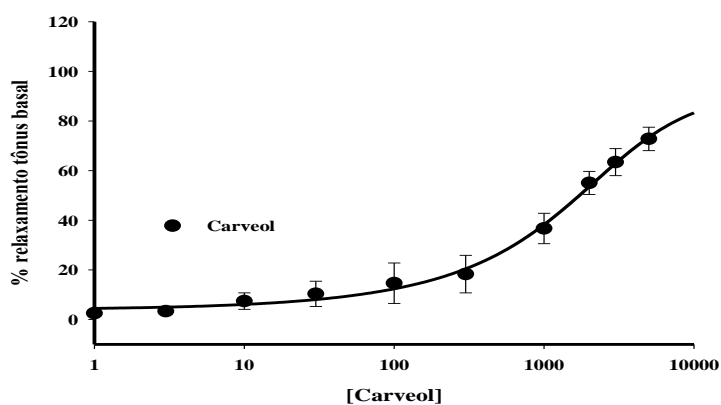
PEIXOTO-NEVES, D.; SILVA-ALVES, K. S.; GOMES, M. D. M.; LIMA, F. C.; LAHLOU, S., MAGALHÃES, P. J. C.; CECCATTO, V. M.; COELHO-DE-SOUSA, A. N.; LEAL-CARDOSO, J. H. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, v. 24, n. 3, p. 341-350, **2010**.

PETROVSKA, B. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy Reviews**, v. 6, n. 11, p. 1, **2012**.

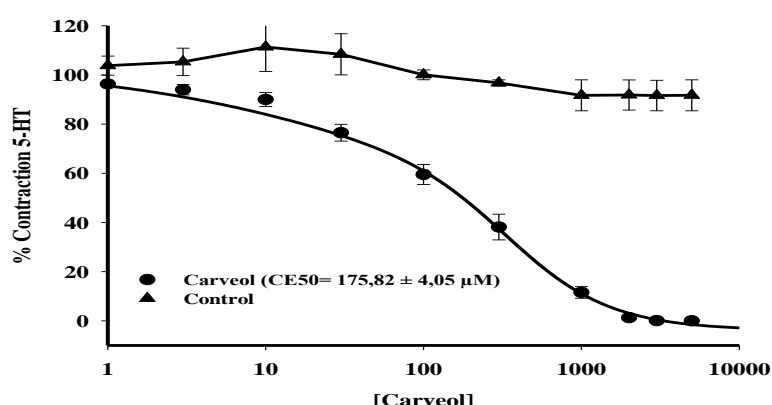
SANTOS-SILVA, A.J.; Cairrão, E.; Verde, I. Study of the mechanisms regulating human umbilical artery contractility. *Health (Irvine. Calif)*. **2010**, 2, 321–331.

(Figura 1A)

(Figura 2A)



(Figura 3A)



(Figura 4A)

