

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

AVALIAÇÃO DO EFEITO VASORRELAXANTE DO CITRAL EM VASOS UMBILICAIS HUMANOS NORMOTENSOS E COM PRÉ-ECLÂMPSIA

Francisco Junio Dias¹, Luís Pereira-de-Morais², Gyllyandeson de Araujo Delmondes³ Paulo Ricardo Batista Alves⁴ Alex de Souza Borges⁵ Isaac Moura Araújo⁶ Roseli Barbosa⁷

Resumo: O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do citral em vasos umbilicais de parturientes normotensas (NM) e com pré-eclâmpsia (PE). As coletas foram realizadas utilizando solução Krebs Henseleit 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 2 g força durante 90 minutos (estabilização). Foi avaliado o efeito do citral em artérias (AUH) e veias (VUH) umbilicais humanas nas condições NM e PE contraídas por via serotonina. Foram ministradas concentrações crescentes e cumulativas de citral para obtenção de uma curva concentração-resposta. O citral se mostrou efetivo como substância vasorrelaxante em vasos umbilicais humanos com CE₅₀ de 164,82 e 432,12 µM para artérias normotensas e com pré-eclâmpsia respectivamente. O citral foi eficaz em relaxar contrações em AUH e VUH, com maior efeito em artérias umbilicais na condição normotensa.

Palavras-chave: Citral. Cordão umbilical. Pré-eclâmpsia. Vasorrelaxamento. Banho de órgãos.

1. Introdução

As síndromes hipertensivas no período gestacional estão entre as doenças que mais causam efeitos nocivos ao organismo materno e fetal (CHAIM; OLIVEIRA, 2008). A pré-eclâmpsia acomete 2 a 8% das gestantes e é a principal causa de morte materna no Brasil (DULEY, 2009). A pré-eclâmpsia passa a ser diagnosticada quando a pressão arterial sistólica (PAS) é \geq a 140 mmHg e a pressão arterial diastólica (PAD) é \geq a 90 mmHg com proteinúria \geq a 300 mg em urina de 24 horas (ACOG, 2013) após a 20ª semana de gravidez.

Até o momento, é considerado como principal causa da pré-eclâmpsia à redução da perfusão placentária, causada por mal remodelamento vascular útero-placenta, levando a uma isquemia placentária (JAMES et al., 2005; HARIHANA et al., 2016). Em média, crianças nascidas de mulheres acometidas

1 Universidade Regional do Cariri, email: juniordias195@gmail.com

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

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

por pré-eclâmpsia tem 5 % menos peso e pode chegar a 23 % quando a gestante é acometida mais precocemente (ODEGARD et al., 2000), além de aumentar em sete vezes o risco de natimortos (HARMON et al., 2015). É evidente a necessidade da busca por substâncias bioativas, sobre tudo, com atividade vasorrelaxante, que possam atuar sobre os diferentes padrões de contração e na resistência originada pela pré eclâmpsia, afim de normalizar a perfusão sanguínea entre o feto e a placenta.

O citral (3,7-dimetil-2,6-octadienal) é uma mistura natural de dois monoterpenos acíclicos isoméricos, os aldeídos: geranial (α -citral) e neral (β -citral) (SADDIG, KHAYYAT, 2010). Estudos etnobotânicos como o de LORENZI; MATOS (2002) demonstram a utilização de espécies ricas em citral como a *Cymbopogon citratus* com a finalidade de tratar doenças respiratórias. Além dessas, foi relatado o uso para o tratamento de cólicas, indigestão, dores e espasmos, bronquite, diarreia e como analgésico (HEINZMANN; BARROS, 2007). O mono terpeno citral já se mostrou efetivo em relaxar o músculo liso de tecido animal não humano. Em estudo realizado por DA SILVA et al., (2018) com aortas de ratos, foi demonstrado relaxamento significativo obtido pelo citral. Além disso, o citral demonstra ter outra propriedade importante no âmbito gestacional por mostrar atividade tocolítica (MORAIS, et al., 2018).

2. Objetivo

Geral

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

Específico

Verificar a ação do citral frente a contrações obtidas por via farmacomecânica induzidas por serotonina (5-HT) em vasos umbilicais de parturientes normotensas e com pré-eclâmpsia.

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). Foram utilizados critérios para a realização das coletas do material biológico. 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 semanas 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 umbilical (nó verdadeiro, artéria umbilical única, cordão espiralado, estenose,

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

inserção velamentosa, redução da geleia de Wharton) ou com tamanho anormal (BARISKANER et al., 2003).

3.2 Coleta e preparação do Material

Apenas as porções do cordão destinadas ao descarte biológico foram coletadas e colocadas em solução Krebs Henseleit 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 Henseleit para transporte em baixa temperatura os vasos foram livres da geleia de Wharton, do tecido conectivo e adiposo e em seguida foram seccionados em anéis de 3 a 5 mm de comprimento. Após a extração e secção dos vasos, o endotélio vascular foi removido por movimento de fricção, utilizando uma pinça fina com algodão.

Os anéis de vasos umbilicais humanos foram transferidos para banho termostático de órgãos, que contem hastes metálicas 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 e pH 7,4 gaseificada continuamente com mistura carbogênica 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 instalada em um computador, cujas alterações no diâmetro dos vasos foram captadas e convertidas em traçados e armazenados em arquivos através do software WINDAQ (DATAQ Instrumentos, Inc. USA).

3.3 Ensaio

Para a estabilização do tecido, os anéis foram suspensos, e mantidos sob uma tensão isométrica de 2 g, por um período de 90 minutos (WYLAM et al., 1993). Durante os primeiros 60 minutos a solução de Krebs Henseleit foi renovada a cada 15 minutos 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, foi evocada uma contração no tecido utilizando solução de Krebs Henseleit contendo 60 mM de cloreto de potássio (KCl) com a finalidade de certificar a viabilidade do tecido (SANTOS-SILVA, 2010).

Para avaliar o efeito vasorrelaxante do citral sobre vasos de cordões umbilicais humanos foi utilizado como agente contracturante a 5-HT, configurando uma via de contração farmacomecânica. Após a obtenção de uma contração foram ministradas concentrações crescentes e cumulativas do citral (1, 3, 10, 30, 100, 300, 600 e 1000 µM).

4. Resultados

O citral se mostrou efetivo como substância vasorrelaxante tanto em artérias umbilicais humanas (AUH) quanto em veias umbilicais humanas (AUH), frente a

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

contrações induzidas pela serotonina (5-HT), tanto em vasos na condição normotenso como também em vasos acometidos pela pré-eclâmpsia. Foram obtidas CE_{50} de 164,82 e 432,12 μM para artérias normotensas e com pré-eclâmpsia respectivamente (Figura 1). Em VUH o citral expressou CE_{50} de 574,26 e 520,41 μM em veias normotensas e com pré-eclâmpsia respectivamente (Figura 2).

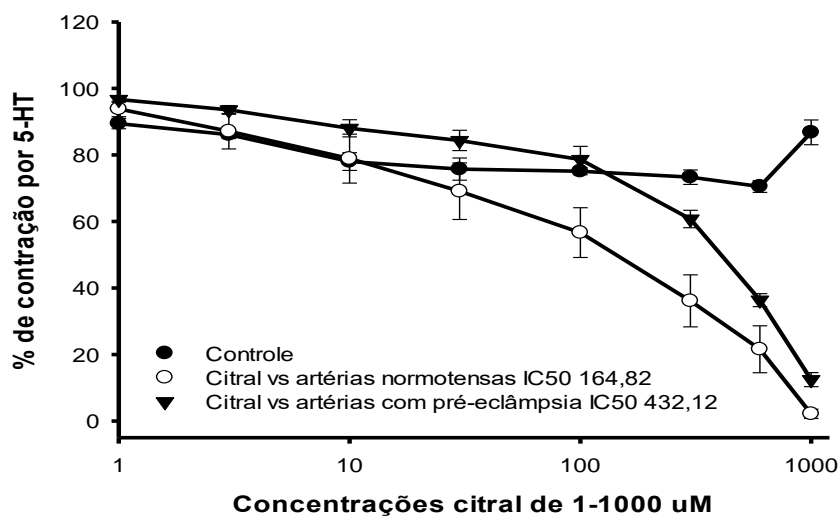


Figura 1: Efeito relaxante do citral em artérias umbilicais humanas frente a contrações induzidas por serotonina.

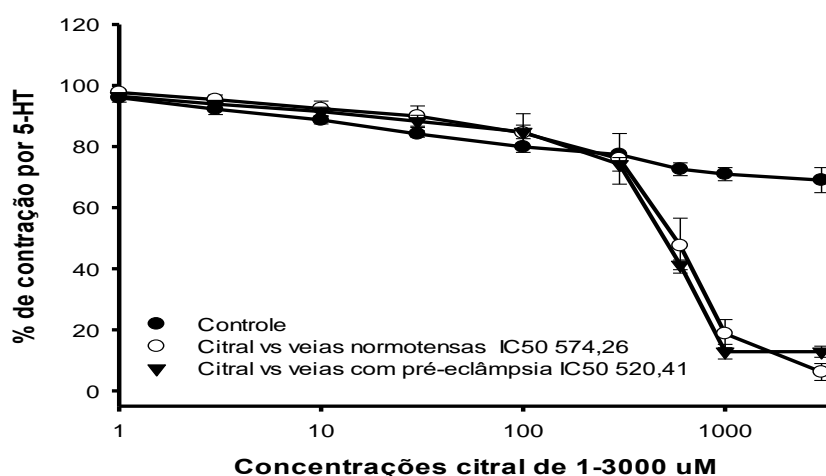


Figura 2: Efeito relaxante do citral em veias umbilicais humanas frente a contrações induzidas por serotonina.

VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

O relaxamento promovido pelo citral se mostrou mais efetivo em vasos na condição normotenso, tal resultado foi observado em AUH. Diferentemente em VUH, não foi observado diferença significativa do efeito relaxante do citral em condição normotenso e vasos com pré-eclâmpsia. Quando acometidos pela pré-eclâmpsia os vasos apresentam disfunção endotelial que causa maior sensibilidade a contrações e maior resistência ao relaxamento, como foi visto por ZHOU, et al. (2008). Em estudo com músculo liso traqueal de rato contraído por KCl e acetilcolina (ACh) CARVALHO, et al. (2018) obtiveram relaxamento significativo do citral na concentração de 600 µg/ml.

5. Conclusão

O monoterpene citral foi eficaz em relaxar contrações induzidas por serotonina (5-HT) em artérias e veias umbilicais humanas, com maior efeito em artérias umbilicais na condição normotensa. Nesse sentido, os testes preliminares apontam que o citral tem potencial na terapia da pré-eclâmpsia. Contudo, por se tratar de um estudo inédito, é necessário a realização de mais estudos para investigar os mecanismos envolvidos nesse efeito relaxante.

6. Referências

- AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS. Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy: report of the American College of Obstetricians and gynecologists. Obstetricians Gynecologists. v.11 p.22-31, 2013.
- CARVALHO, P. M. M.; MACÊDO, C. A. F.; RIBEIRO, T. F.; SILVA, A. A.; SILVA, R. E. R.; MORAIS, L. P.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A.; BARBOSA, R. Effect of the Lippia alba (Mill.) N.E. Brown essential oil and its main constituents, citral and limonene, on the tracheal smooth muscle of rats. Biotechnology Reports. v.17, p. 31 34, 2018.
- DULEY, L. The global impact of pre-eclâmpsia and eclâmpsia. Semin Perinatol, v. 33, p. 130-137, 2009.
- GIFFORD, R. W. A. P. Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. American Journal of Obstetrics and Gynecology, v. 183, p. S1-S15, 2000.
- GRAYSON, D.H. Monoterpenoids. Nat. Prod. Rep. [s. 0], v.15, p. 435–439, 1998.
- HARIHANA, N.; SHOEMKER, A.; WAGNER, S. Pathophysiology of hypertension in preeclampsia. Clinical Practice. [s.2], v. 13, ed. 7, p.13-33. 2016.
- HARMON, Q. E.; HUANG, L.; UMBACH, D. M.; ENGEL, K. S. M.; MAGNUS, P. Risk of fetal death with preeclampsia, Obstetrics & Gynecology. v. 125, p 628-635. 2015.
- HEINZMANN, B. M.; BARROS, F. M. C. Potencial das plantas nativas brasileiras para o desenvolvimento de fitomedicamentos tendo como exemplo Lippia alba (Mill.) N.E.Brown (Verbenaceae). Saúde. v. 33, p. 43-48, 2007.
- SADDIQ, A. A.; KHAYYAT, S. A.; Chemical and antimicrobial studies of monoterpene: Citral. Pesticide Biochemistry and Physiology. v.98, p.89–93. 2010.