

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 DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia* SOB CONTRAÇÕES DE VASOS UMBILICAIS HUMANOS.

Gabriela Lucena Calixto, Andressa de Alencar Silva, Renata Evaristo Rodrigues da Silva, Alex de Souza Borges, Luís Pereira de Moraes, Marta Regina Kerntopf, Roseli Barbosa

Resumo: O óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth (OELo) apresenta uso popular e relatos farmacológicos na literatura, em roedores, como atividade antiespasmódica. Contudo, não foram encontrados relatos do OELo em vasos humanos tão pouco em vasos umbilicais. Portanto, objetivou-se investigar o efeito do OELo em vasos de cordão umbilical humano. As amostras de cordões foram transportadas para o laboratório, isoladas, seccionadas em anéis (3 a 4 mm) e colocadas nas cubetas do banho de órgão (estabilização por 1h:30 min), em solução de *Krebs Henseleit*. Avaliou-se o efeito do OELo em presença de agonistas contráteis: KCl (60mM) ou 5-HT (10 µM) e em fora adicionadas concentrações crescentes e cumulativa do OELo (1-3000 µg/mL). Os dados evidenciaram vasodilatação promovida pelo OELo em valores de 100% de relaxamento com valores de EC₅₀: 468,7 ± 6,7 µg/mL e 641,3 ± 4,3 µg/mL vias eletromecânica e farmacotécnica respectivamente na AUH. Observa-se efeito vasorrelaxante do OELo em AUH o que propõe a continuidade das investigações do efeito deste produto natural para melhor descrição do seu efeito em vasos humanos.

Palavras-chave: Cordão umbilical humano. Artéria umbilical humana. *Lippia origanoides* Kunth.

1. Introdução

Os produtos naturais bem como seus metabolitos apresentam grande relevância para o controle de muitas enfermidades, sabe-se que uma variedade de medicamentos possui como fonte primária substâncias e moléculas de origem natural á exemplo o captopril que possui sua descoberta no veneno de *Bothrops jararaca* uma serpente, para além deste as plantas medicinais são fontes de muitas substâncias bioativas. (PETROVSKA, 2012). Isso deve-se as vantagens

que esses componentes ativos apresentam sobre os fármacos sintéticos como o fato de a maioria dos produtos naturais apresentam uma baixa toxicidade e baixo custo (TUROLLA, 2004).

As espécies vegetais ganharam atenção e muitas tem sido relatadas quando a sua confiabilidade de uso pelo guia de plantas medicinais instituído pela ministério da saúde. Um exemplo é a espécie *Lippia origanoides* (antiga *Lippia sidoides*), que pertence a família verbenaceae e para a qual seu óleo essencial possui relato de uso popular como: desinfetante e antimicrobiano, agindo no combate à gengivite, atisséptico (LACOSTE et al., 1996; ALBUQUERQUE et al., 2008; FERREIRA et al., 2017); além de apresentar atividades biológicas para a tais como: atividade inseticida em *Rhodnius prolixus* vetor da doença de Chagas (FIGUEIREDO et al., 2017), inibidora da excitabilidade nervosa em nervo ciático de ratos (BARBOSA et al., 2017), antiespasmódica em traqueia de ratos (TEÓFILO, 2012). Cabe ressaltar que, espécies do mesmo gênero apresentam potencial vasorrelaxante em vasos animais tais como a *Lippia alba* (SILVA et al., 2018).

No entanto cabe destacar que o potencial natural de espécies vegetais tem sido pouco estudado em modelos experimentais humanos, á exemplo os modelos vasculares. Sendo necessário destacar a relevância de expandir tais estudos.

Ademais, é válido ressaltar que o cordão umbilical humano é uma fonte de baixo custo e abundante em 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).

De acordo com dados na literatura incluindo estudos com produto natural que já vem sendo desenvolvidos pelo nosso grupo (EVARISTO RODRIGUES et al., 2020), acredita-se que esse estudo possa direcionar a um melhor entendimento sobre o efeito do OELO, na musculatura lisa de artéria e de veia de cordão umbilical humano.

2. Objetivo:

Investigar o efeito do óleo essencial de *Lippia oroganoides* Kunth sobre a contratilidade do músculo liso vascular de vasos do cordão umbilical humano.

3. Metodologia:

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética em Pesquisa Humana da Universidade Regional do Cariri-URCA (CEP nº 3.832.881) e pelo Comitê de ética do Hospital e Maternidade São Francisco de Assis.

São realizadas coletas de fragmentos de aproximadamente 10 cm de cordão umbilical humano (porções que seriam destinadas ao descarte biológico), obtidos com consentimento das mães doadoras (Assinatura de termo de consentimento livre esclarecido), 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. Os vasos são isolados do seu tecido conectivo e seccionados em anéis (3 a 4 mm), sendo 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% O₂ ; 5% CO₂), permanecendo em estabilização por 1 hora e 30 minutos.

Decorrido este tempo, são induzidas uma contração pela adição de solução de Krebs modificado 60 mM de KCl (K60), de modo hipertônico nos anéis de artéria (AUH) ou veia (VUH), considerando-se a contração máxima da preparação. Para os estudos preliminares aqui relatados em seguida foram feitas administração com os agonistas contráteis: KCl (60 mM para a via eletromecânica) ou 5-HT (10 µM para a via farmacomecânica), seguidos por uma adição crescente e cumulativa de OELO (1-3000 µM) em anéis de AUH. Apenas os experimentos com contrações reproduzíveis foram considerados viáveis para as séries experimentais. A amostragem experimental para o experimento correspondeu a n=6. Os valores estão expressos como média ± E.P.M.;

4. Resultados:

Avaliou-se o efeito do OELO adicionando-se concentrações crescentes e cumulativas (1-3000 µg/mL) inicialmente apenas em anéis de AUH, em presença de contrações evocadas por solução de *Krebs Henseleit* modificada com 60 mM de KCL ou serotonina (10µM). Analisou-se inicialmente se o OELO possuía efeito sobre a via eletromecânica e farmacomecânica – respectivamente – em AUH, sendo observado efeito vasorrelaxante do OELO.

Na presença de contração da musculatura lisa da AUH com solução de Krebs Henseleit modificada com 60 mM de KCL o OELO induziu vasodilatação de maneira dependente da concentração (300 µg/mL foi a concentração estatisticamente significativa), com eficácia máxima (100%) na concentração de 3000 µg. o valor da CE₅₀ nas preparações de AUH correspondeu à: 468,7 ± 6,7 µg/mL. (FIGURA 1A)

Ao induzir uma contração com serotonina (10µM) nos anéis de AUH, observou-se que as concentrações crescentes e cumulativas (1 – 3000 µg/mL) do OELO, apresentaram um vasorrelaxamento de maneira concentração dependente (600 µg/mL concentração estatisticamente significativa), obtendo 100% de relaxamento com 3000 µg; com uma EC₅₀ de 641,3 ± 4,3 µg/mL.. (FIGURA 1B).

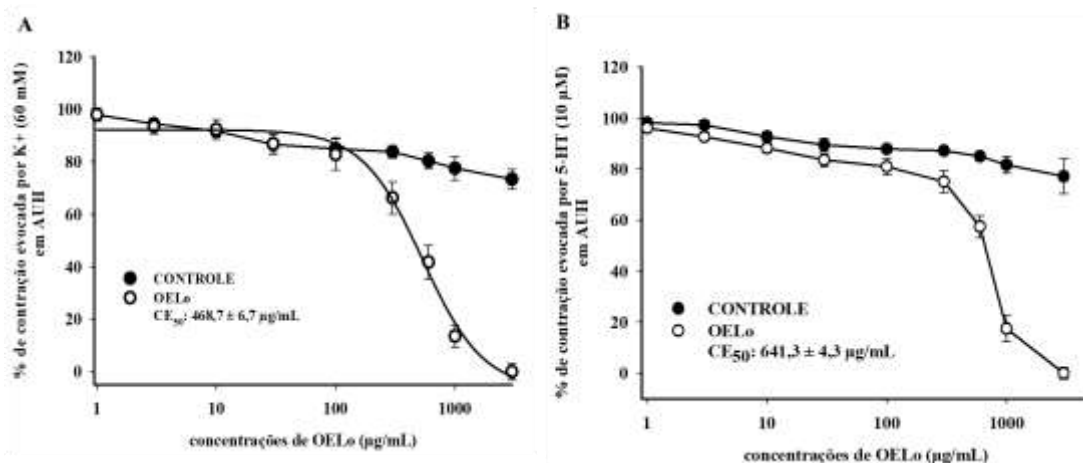


Figura 1: Efeito do óleos essencial de *Lippia origanoides* (OELa 1-3000 µg/mL) sobre o parâmetro contrátil do acoplamento eletromecânico (KCl 60 mM) e farmacomecânico 5-HT (10 µM) da musculatura lisa da artéria umbilical humana (AUH). Os valores são expressos como média ± S.E.M.; (p <0,05, ANOVA unilateral p <0,001).

5. Conclusão:

O presente estudo demonstrou que o OELO promoveu o relaxamento da contratilidade vascular de AUH, em presença de dois agonistas que influenciam

diretamente na contratilidade vascular umbilical. Estes são dados preliminares do nosso estudo que impulsiona na continuidade dos trabalhos em vasos umbilicais para melhor descrição do efeito farmacológico deste produto natural em vasos de grande relevância para o desenvolvimento embrionário e para a descoberta de futuros fármacos que originem-se do OELO para o tratamento de patologias, tal como a pré-eclâmpsia, que atinjam essa vasculatura.

Referências:

BARBOSA, R. et al. Effects of *Lippia sidoides* essential oil, thymol, p-cymene, myrcene and caryophyllene on rat sciatic nerve excitability. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 12, 2017.

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

DA SILVA, R. E. 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.

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.

FERREIRA, L. L. C., MATOS, J. L., OLIVEIRA, D. R. D., & BEHRENS, M. D. D. (2017). **Incentivo governamental para Arranjos Produtivos Locais de Plantas Medicinais e Fitoterápicos no âmbito do SUS.**

FIGUEIREDO, M. B. et al. Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 1, p. 63–69, 2017.

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**.

LACOSTE, E. et al. Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. **Application to the cutaneous microflora. Annales pharmaceutiques francaises. Anais...**1996.

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

SALIMENA, F.R.G.; CARDOSO, P.H. 2020. *Lippia in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

TEÓFILO, T. M. DO N. G. Efeito antiespasmódico do óleo essencial da Lippia sidoides Cham . e seus constituintes, timol, para-cimeno e beta-cariofileno, sobre o músculo liso traqueal de ratos. [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ, 2012.

TUROLLA, M. S. DOS R. Avaliação dos aspectos toxicológicos dos fitoterápicos: um estudo comparativo Universidade de São Paulo, 2004.