

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

EFEITO VASODILATADOR DO ÁLCOOL PERÍLICO EM VEIAS DE CORDÃO UMBILICAL HUMANO

Maria Raquel da Silva Duarte¹, Laíza Maria Ulisses Magalhães¹, Carla Mikevely de Sena Bastos², Francisca Daliane Severino da Silva¹, Luís Pereira de Moraes¹, Adrieli de Fátima Cruz Tavares¹, Antonio César Vieira da Silva¹, Maria Jérica da Silva Sousa¹, Roseli Barbosa¹

Resumo: O álcool perílico (POH) é um monoterpenoide presente na composição do óleo essencial de plantas, algumas atividades vasorrelxantes já foram relatadas em artérias umbilicais de roedores. Entretanto, nada se sabe sobre do efeito do POH em veia umbilical humana (VUH). Sendo assim objetiva-se avaliar o efeito do POH na musculatura lisa das VUH. Para realização deste trabalho as VUH foram isoladas, limpas e seccionadas em anéis de 3-4 mm e mantidas em banho de órgão, em solução de Krebs Henseleit, sob mistura carbogênica, a 37 °C. O POH foi capaz de relaxar totalmente as contrações eletromecânicas induzidas por KCl e as contrações farmacomecânicas por serotonina na VUH. O POH também inibiu a contração provocada por BaCl₂, semelhantemente a nifedipina, demonstrando um possível envolvimento dos canais de cálcio operados por voltagem (VOCC). Os dados encontrados mostram que o POH tem efeito vasodilatador em VUH, com maior potência farmacológica na via eletromecânica. Este efeito pode estar sendo mediado pelos VOCC. Dessa forma, há novas possibilidades no tratamento de disfunções vasculares umbilicais utilizando produtos naturais derivados de plantas como o POH.

Palavras-chave: Álcool Perílico. Veia umbilical humana. Banho de Órgão

1. Introdução

O álcool perílico, é um álcool monocíclico encontrado nos óleos essenciais de diversas plantas aromáticas. É amplamente utilizado nas indústrias de cosméticos, perfumes, produtos de limpeza e no setor alimentício, devido ao seu aroma agradável (Bhatia et al., 2008; Garcia et al., 2010). Ademais, mostrou-se bastante promissor na eficácia da atividade antineoplásica, antiangiogênica e anti-inflamatória de maneira que em diversas linhagens tumorais agiu como bloqueador da progressão da metástase. (Moraes., 2022).

1 Universidade Regional do Cariri, e-mail: raquel.duarte@urca.br, laiza.ulisses@urca.br, daliane.silva@urca.br, luis.pereira@urca.br, adrieli.cruz@urca.br, cesar.silva@urca.br, jerica.sousa@urca.br, roselibarbo@gmail.com

2 Universidade Estadual do Ceará, e-mail: mikevellybastos@gmail.com

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

A investigação farmacológica dessa molécula ainda é escassa, pois poucos são os estudos que avaliaram as atividades biológicas do álcool perílico. Dentre esses estudos existem relatos de efeito vasodilatador em musculatura lisa de artéria coronária porcinas (Kennedy et al., 2022) e em aorta de ratos (Cardoso-Teixeira et al., 2018).

Nessa perspectiva, Leung et al., (2006) destacam a importância de se estudar os efeitos de novas substâncias vasoativas nos vasos sanguíneos umbilicais, uma vez que a reatividade vascular das circulações fetal e materna não são idênticas.

Sendo assim, a veia umbilical humana é indispensável para o avanço saudável da gestação, principalmente no que concerne a sua sensibilidade quanto a estímulos externos, haja vista a ausência de inervação na sua composição fisiológica natural, que facilita o agravamento de condições patológicas e alterações metabólicas.

2. Objetivo

Buscou-se avaliar o efeito do álcool perílico sob musculatura lisa das veias umbilicais humanas

3. Metodologia

As drogas e reagentes que foram utilizadas possuem pureza analítica, os quais foram obtidos das companhias Sigma Chemical Corporation, Merck; mantidas sob condições indicadas pelo fabricante. As substâncias utilizadas como agentes contracturantes serotonina (5-HT), ou bloqueadores tetraetilamônio (TEA 1 e 10 mM), glibencamida (10 μ M) e 4- aminopiridina (1 μ M); a nifedipina (10 μ M). A solução de álcool perílico foi diluída com o auxílio do agente diluente tween em meio Krebs Henseleit.

A coleta e o processamento das amostras foram aprovados 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.

Após serem levadas ao laboratório e armazenadas corretamente as veias umbilicais humanas foram isoladas, limpas e seccionadas em anéis de 3-4 mm e mantidas em banho de órgão, com capacidade de 10 mL, em solução de Krebs Henseleit, sob mistura carbogênica, a 37 °C. Após o período de estabilização, de aproximadamente 1 horas e 30 minutos, todos os protocolos iniciaram com os agonistas indutores de contração KCl (60 mM) ou 5-HT (10 μ M) seguidos por uma adição crescente e cumulativa do álcool perílico (1-3000 μ M a depender do protocolo avaliado) em intervalos de 5 – 15 minutos.

Os dados são expressos como média \pm S.E.M. O software Sigma Plot 11.0 foi utilizado para análise estatística e produção gráfica. Os valores de EC50 foram determinados como a concentração da substância capaz de produzir 50% de inibição ou efeito máximo. Uma interpolação logarítmica foi realizada em cálculos para cada experimento. Onde isso não foi possível, a relação linear entre dois pontos da EC50 foi realizada.

4. Resultados

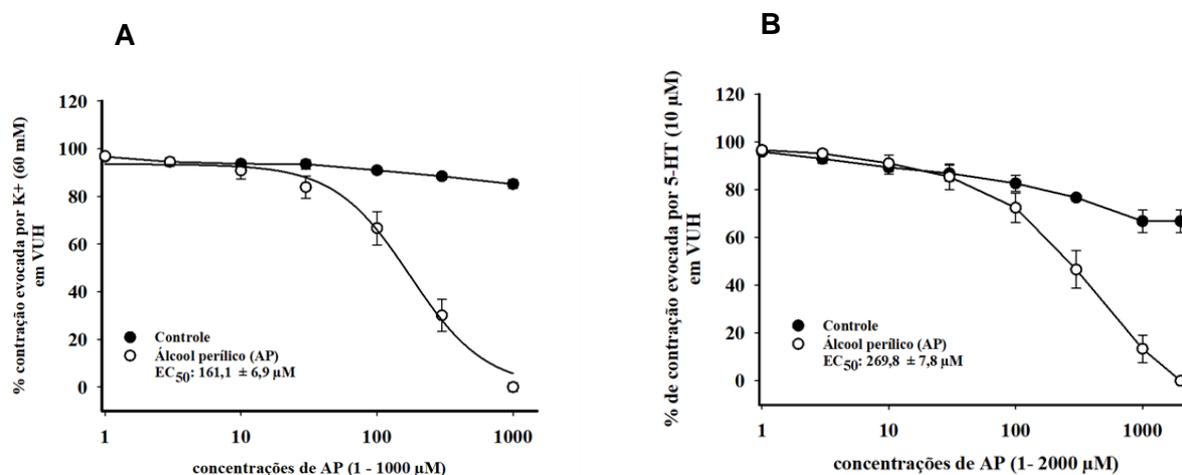


Fig. 1 A: Gráfico representativo do efeito do AP (1–1000 μ M) em presença de contrações evocadas por K⁺; **B:** Gráfico representativo do efeito do AP (1–2000 μ M) em presença de contrações evocadas por 5-Ht. n = 6 ($p < 0,05$, ANOVA *one way*)

Para avaliar o efeito do álcool perílico sob a via eletromecânica (Fig 1. A), foram induzidas contrações nos anéis de VUH com solução de Krebs Henseleit modificada com 60 mM de KCl, no qual o AP apresentou efeito relaxante de maneira dependente da concentração, sendo este relaxamento estatisticamente significativo a partir da concentração de 100 μ M apresentando valores de EC50 161, 1, \pm 6,9 μ M.

A via eletromecânica é ativada pela alteração do potencial transmembrana, enquanto a via farmacomecânica, pois, o aumento da [Ca²⁺] intracelular é promovido através dos canais de Ca²⁺ operados por receptores, que envolvem a interação de agonistas específicos com os seus receptores acoplados à proteína G situada na membrana (Putney, 1990; Meldrum; Parker; Carozzi, 1991; Jiang; Stephens, 1994).

Por sua vez, no acoplamento farmacomecânico (Fig 1. B) a fase tônica da contração inicia-se após formar um platô, onde foram adicionadas concentrações crescente e cumulativa do álcool perílico de 1-2000 μ M. Na EC50 os valores obtidos foram de 269,8 \pm 7,8 μ M.

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

Em VUH os polifenóis por outro lado, foram capazes de potencializar a vasoconstrição causada por bradicinina e histamina, contrações que resultam da sinalização de segundo mensageiros tais qual a evocada por 5-HT (Diebolt et al., 2005). Demonstrando assim que o AP apresentou uma maior potência no acoplamento eletromecânico quando comparado com o acoplamento farmacomecânico, sendo mais potente em VUH.

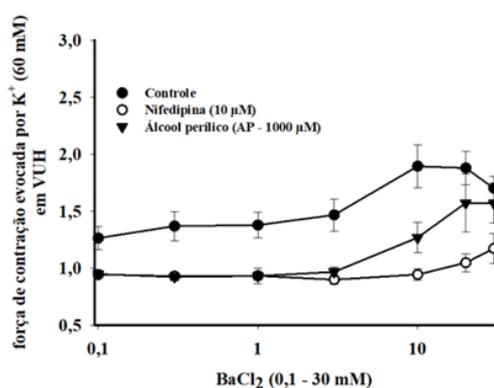


Fig. 2: Efeito do AP (1000 µM) na presença de contrações evocadas por BaCl₂ exógeno (0,1-30 mM), onde a nifedipina (10 µM) foi usada como controle positivo em VUH; Os valores são expressos como a média ± S.E.M; n = 6 (p < 0,05, ANOVA *one way*)

Na ausência do álcool perílico, a adição de concentrações cumulativas de BaCl₂ (0,1 – 30 mM) induziram contrações de forma concentração dependente, visto que na ausência de cálcio, o bário permeia melhor o canal de cálcio. Essas contrações atingiram valor máximo na concentração de 30 mM de Ba²⁺ na preparação controle.

As preparações pré-incubadas com 1000 µM do álcool perílico, houve bloqueio das contrações, comportamento este, similar ao da nifedipina (10 µM), um bloqueador seletivo dos canais de Ca²⁺ tipo L, demonstrando o possível envolvimento do bloqueio dos VOCCs no seu efeito relaxante.

Outros estudos com VUH confirmam o possível envolvimento dos canais de K⁺ dependentes de ATP como o resveratrol que em análise farmacológica e Western blot sugere que canais KATP Kir 6.1 presentes no músculo liso estão envolvidos no relaxamento da VUH (Protic et al., 2014).

5. Conclusão

Conclui-se, portanto, que os resultados aqui apresentados demonstram claramente que o monoterpenóide álcool perílico possui efeito vasorrelaxante em veia umbilical humana, e esta atividade possui maior potência quando envolve a via eletromecânica. Dessa maneira, os dados também demonstram uma participação na modulação dos VOCC em VUH. Sendo assim, abrem caminhos para novas investigações, pois o álcool perílico comporta-se como um produto natural promissor na terapia vasorrelaxante das doenças que envolvem as VUH.

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

6. Agradecimentos

Agradeço a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelas bolsas de iniciação científica.

7. Referências

Batista, P.R.; Silva, A.A.; de Sena Bastos, C.M.; Rodrigues da Silva, R.E.; Calixto, G.L.; de Moraes, L.P.; Delmondes, G.A.; Kerntopf, M.R.; de Menezes, I.R.A.; Barbosa, R. Vasodilation promoted by (E,E)-farnesol involving ion channels in human umbilical arteries. **Heliyon**, 2023, 9(6), e17328

Bhatia, S. P.; McGinty, D.; Letizia, C. S.; Api, A. M. Fragrance material review on carveol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46 p. S85–S87, 2008.
Cardoso-Teixeira, Ana Carolina et al. Hydroxyl group and vasorelaxant effects of perillyl alcohol, carveol, limonene on aorta smooth muscle of rats. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1430, 2018.

Diebolt, Myriam et al. Mechanism of potentiation by polyphenols of contraction in human vein-engineered media. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 6, p. H2918-H2924, 2005.

Garcia, D. G.; Amorim, L. M. F.; Faria, M. V. De C.; Freire, A. S.; Santelli, R. E.; Fonseca, C. O. Da; Quirico-Santos, T.; Burth, P. The anticancer drug perillyl alcohol is a Na/K-ATPase inhibitor. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 345, p. 29–34, 2010.

Jiang, H.; Stephens, N.L. Calcium and smooth muscle contraction. **Mol. Cell. Biochem.**, 1994, 135(1).

Kennedy-Feitosa, E.; Maia, F.P.A.; Lima, C.M.G.; Bin Emran, T.; Coutinho, H.D.M.; Menezes, I.R.A.; Kerntopf, M.R.; Caruso, G.; Barbosa, R. Effect of Lippia alba (Mill.) N.E. Brown essential oil on the human umbilical artery. **Plants**, 2022

Leung, S.W.S.; Quan, A.; Lao, T.T.; Man, R.Y.K. Efficacy of different vasodilators on human umbilical arterial smooth muscle under normal and reduced oxygen conditions. **Early Hum. Dev.**, 2006, 82(7), 457-462. <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2005.11.009> PMID: 16443336

Meldrum, E.; Parker, P.J.; Carozzi, A. The PtdIns-PLC superfamily and signal transduction. **Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.**, 1991, 1092(1), 49-71.

Protić, D.; Radunović, N.; Spremović-Radenović, S.; Živanović, V.; Heinle, H.; Petrović, A.; Gojković-Bukarica, L. The role of potassium channels in the vasodilatation induced by resveratrol and naringenin in isolated human umbilical vein. **Drug Dev. Res.**, 2015, 76(1), 17-23.

Putney, J.W., Jr Capacitative calcium entry revisited. **Cell Calcium**, 1990, 11(10), 611-624.