HESPERETINA: BIOFLAVONOIDE COM POTENCIAL TERAPÊUTICO PARA DESORDENS CARDIOVASCULARES

Eleine Renata Bidinha, Priscila de Souza, Rita Vilhena, Valdir Cechinel Filho

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Medicinais

Introdução: Com grande importância na medicina moderna, os produtos naturais e seus derivados representam mais de 30% dos fármacos aprovados no mundo entre 1982-2014 (1). No desenvolvimento de novos medicamentos, destacam-se os metabólitos secundários obtidos de frutos e plantas medicinais da classe dos flavonoides, cujas ações benéficas foram comprovadas em diferentes desordens clínicas, incluindo contra patologias que acometem os sistemas cardiovascular e renal (2; 3). Dentre esses, destaca-se a hesperidina, uma molécula glicosilada que, após administração por via oral, é degradada pelas enterobactérias presentes no intestino e absorvida na sua forma aglicona chamada hesperetina. A concentração máxima da hesperetina tem sido captada em média 6h após a ingestão de frutas cítricas (4; 5). Por outro lado, quando consumida na forma de aglicona, é absorvida no intestino delgado, local onde a absorção ocorre mais rapidamente, com concentração máxima para hesperetina após uma hora da ingestão (5). A literatura descreve uma série de efeitos biológicos para a hesperetina, como atividade anti-inflamatória, anti-hipertensiva e antitrombótica (6; 7). Além disso, a hesperetina também demonstrou propriedades vasorrelaxantes (8), efeito inibitório sobre a proliferação de células do músculo liso vascular aórtico de ratos (9), além da ação benéfica em reduzir a pressão sanguínea sistólica de ratos hipertensos (10). Apesar da ampla gama de propriedades farmacológicas descritas e a vasta aplicação prática dessas flavanonas, não há, até o momento, dados pré-clínicos ou clínicos que explorem de forma detalhada os possíveis benefícios desses compostos nas DCV.

Objetivos: Investigar o efeito e mecanismo vasorrelaxante do bioflavonoide hesperetina em modelo de aorta isolada de ratos.

Metodologia: Foram utilizados ratos Wistar machos normotensos (NTR) e hipertensos (SHR), com três a quatro meses de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade do Vale do Itajaí (CEUA/UNIVALI, número de aprovação n. 027/20). Os animais dos grupos NTR e SHR foram anestesiados e a aorta torácica descendente foi removida, limpa do seu tecido conjuntivo e seccionada em anéis. Os anéis foram colocados através de hastes de aço conectadas a transdutores em câmaras de vidro contendo solução nutritiva de Krebs, aerados constantemente com carbogênio, mantidos a uma temperatura de 37°C e sujeitas à tensão inicial de 1g. Os registros foram obtidos por meio de transdutores isométricos, acoplados a um hardware de aquisição de dados DATAQ Instruments conectado a um computador com integração de software específica, um amplificador de sinal e conectado a um computador contendo software de integração específico (software WinDaq, DATAQ Instruments, Akron, Ohio, EUA). Após o período de estabilização e verificação da integridade tecidual e endotelial, os anéis da aorta foram expostos a concentrações cumulativas de heperetina, no platô

das contrações induzidas por Fen. Em outro conjunto experimental, a pré-incubação de L-NAME (100 mM), ODQ (100 µM), Indometacina, Propranolol, TEA, Glibenclamida, e 4-AP, BaCl2 foi utilizada para determinar o mecanismo dependente de endotélio envolvido no efeito vasorrelaxante induzido pela hesperetina. Os resultados obtidos foram comparados entre os grupos e expressos em delta de contração (g) ou porcentagem de relaxamento.

Resultados: As aortas obtidas de SHR apresentaram uma resposta de relaxamento de aproximadamente 92% após a adição de hesperetina (concentrações de 3 a 100 µM), enquanto as aortas obtidas de NTR apresentaram um relaxamento de aproximadamente 42%, em preparações previamente contraídas pela adição de Fen 1 µM. No tecido aórtico do grupo NTR, com a presença de L-NAME, houve relaxamento, demostrando que a hesperetina não depende da ativação da enzima oxido nítrico sintase (NOS) para a promoção do seu efeito relaxante. O mesmo ocorreu na presença de ODQ, que é um inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel, não havendo, portanto, redução da ação vasorrelaxante da hesperetina na presença deste inibidor. De maneira interessante, na presença de atropina, que é um antagonista de receptor muscarínico (M3), houve um incremento no efeito relaxante da hesperetina. No tecido aórtico do grupo SHR, com a presença de L-NAME, ocorreu uma diminuição do relaxamento da hesperetina, demonstrando que, para esse grupo, o relaxamento depende, pelo menos em parte, da ativação do NOS. Já na presença de ODQ e atropina, o relaxamento não foi significativamente alterado. Como o efeito da hesperetina teve uma melhor resposta vasorrelaxante em vasos de SHR, aprofundamos os estudos de mecanismo de ação neste modelo experimental. Quando a indometacina (inibidor não-seletivo da enzima cicloxigenase) ou o propranolol (antagonista não-seletivo de receptores ß-adrenérgicos) foram incubados, o relaxamento induzido pela hesperetina não foi modificado. Quando os seguintes bloqueadores de canais de potássio foram incubados TEA (1 mM ou 10 mM), glibenclamida (10 µM), cloreto de bário (BaCl2, 10 µM) ou 4-aminopiridina (4-AP, 1 mM) os efeitos vasorrelaxantes da hesperetina na presença e na ausência desses bloqueadores/inibidores não foram alterados.

Considerações finais: Este estudo mostra o efeito vasorrelaxante da hesperetina em anéis aórticos de NTR e SHR. Os resultados indicam que o relaxamento depende, pelo menos em parte, da ativação da via NO/GCs. Outros estudos serão conduzidos para aprofundamento dos mecanismos responsáveis pela ação relaxante do composto na vasculatura.

Financiamento ou apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina - Fapesc.

Referências

1) NEWMAN, D. J., CRAAG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. Journal of Natural Products. v. 79, p. 629-661, 2016. 2) ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. Am. J. Clin. Nutr., v. 81, p. 317s-325s, 2005. 3) HOLLMAN, P. C.; GEELEN, A.; KROMHOUT, D. Dietary flavonol intake may lower stroke risk in men and women. J. Nutr., v. 140, p. 600-604, 2010. 4) MANACH, C.; MORAND, C.; GIL-IZQUIERDO, A.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; REMESY, C. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of

orange juice. European Journal of Clinical Nutrition, v. 57, p. 235-242, 2003. 5) NIELSEN, I. L.; CHEE, W. S.; POULSEN, L.; OFFORD-CAVIN, E.; RASMUSSEN, S. E.; FREDERIKSEN, H.; ENSLEN, M.; BARRON, D.; HORCAJADA, M. N.; WILLIAMSON, G. Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, double-blind, crossover trial. Journal of Nutrition, v. 136, n. 2, p. 404-408, 2006. 6) GALATI E. M., et al. Biological effects of hesperidin, a Citrus flavonoid (Note III): Antihypertensive and diuretic activity in rat. Farmaco v. 51, p. 219-221, 1996. 7) GARG A., et al. Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. Phytother Res 15:655-669, 2001. 8) ORALLO, F., et al. 2004. Comparative study of the vasorelaxant activity, superoxide-scavenging ability and cyclic nucleotide phosphodiesterase-inhibitory effects of hesperetin and hesperidin. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. v. 370, n. 6, p. 452-463, 2004 9) JIN, Y. R., et al. 2008. Hesperetin, a bioflavonoid, inhibits rat aortic vascular smooth muscle cells proliferation by arresting cell cycle. J Cell Biochem. v. 104, n. 1, p. 1-14. 10) YAMAMOTO, M.; SUZUKI, A.; HASE, T. Short-term effects of glucosyl hesperidin and hesperetin on blood pressure and vascular endothelial function in spontaneously hypertensive rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), v. 54, n. 1, p. 95-98, 2008.