



RELAXAMENTO INDEPENDENTE DE ENDOTÉLIO DO ALCALOIDE BOLDINA EM AORTAS ISOLADAS DE RATOS NORMOTENSOS E HIPERTENSOS: PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE CÁLCIO

Martina Odebrecht Cavichiolo, Rita Vilhena, Valdir Cechinel Filho, Priscila de Souza

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Mediciniais

Introdução: Doença cardiovascular (DCV) é um termo abrangente que se refere a várias patologias que afetam o sistema cardiovascular, como doença coronariana, infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico, aterosclerose, cardiomiopatia e muitas outras (1). As DCVs são a principal causa de morbimortalidade mundial, e sua carga global está aumentando continuamente em muitos países, conforme relatado pelo estudo Global Burden of Disease (2). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é o fator de risco reversível mais importante para DCV. Por se tratar de condição frequentemente assintomática, a HAS costuma evoluir com alterações estruturais e/ou funcionais em órgãos-alvo, como coração, cérebro, rins e vasos (3). Apesar de grandes avanços nas medidas de terapia anti-hipertensiva, a adesão ao tratamento ainda é baixa (4). Portanto a busca por novas opções terapêuticas que apresentem diferentes mecanismos de ação em combinações fixas de doses únicas e o menor número possível de comprimidos ao dia torna-se cada vez mais necessária. Com isso, as plantas medicinais representam um recurso extenso e renovável, seja para o uso in natura, ou para a descoberta de extratos com potenciais terapêuticos para a formulação de novas drogas (5). Sabe-se, ainda, que as plantas têm centenas de metabólitos secundários, entre os quais se destaca o alcaloide boldina, (5S)-2,9-dihidroxi-1,10-dimetoxi-apomorfina, encontrado abundantemente nas folhas e cascas do boldo (*Peumus boldus* Molina), o qual tem sido objeto de estudo de diversos trabalhos científicos, como ação antioxidante e anti-inflamatória em diferentes modelos experimentais (6; 7; 8). No entanto, apesar de todas as evidências científicas, não há, até o presente momento, estudos que mostrem os efeitos deste alcaloide sobre parâmetros cardiovasculares. Sendo assim, através da premissa de ações já descritas para a boldina, este estudo visou a estudar os efeitos vasorrelaxantes da boldina em aortas de ratos normotensos e hipertensos.

Objetivos: Avaliar o efeito e mecanismo vasorrelaxante do alcaloide boldina em aorta isolada de ratos normotensos e hipertensos.

Metodologia: Para remoção da aorta torácica, ratos machos da linhagem Wistar normotensos (NTR) e espontaneamente hipertensos (SHR) com três a quatro meses de idade (protocolo CEUA 01/23) foram anestesiados com uma mistura de cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), administrada pela via intraperitoneal. A artéria aorta torácica descendente foi removida e transferida para uma placa de Petri contendo solução nutritiva de Krebs previamente aquecida, para remoção do tecido conectivo. Em seguida, o vaso foi seccionado em anéis, estes inseridos em um sistema de banho de órgão contendo solução nutritiva de Krebs, constantemente aerada com carbogênio (95% O₂; 5% CO₂), mantidos a uma temperatura de 37°C e submetidos à tensão basal



de 1 g, conectada a um transdutor isométrico acoplados a um amplificador de sinais (DATAQ Instruments) e software específico (Software WinDaq, DATAQ Instruments, Akron, Ohio, EUA). Após as etapas de verificação de viabilidade tecidual e de presença de endotélio, os anéis de aorta foram expostos a concentrações crescentes cumulativas da boldina (1 nM – 0,3 mM) para investigação do possível efeito vasodilatador, frente a contração induzida previamente com fenilefrina (1 μ M). Para determinação dos mecanismos vasorrelaxantes, o efeito da boldina foi avaliado na presença de diferentes bloqueadores e inibidores e os resultados foram comparados entre os grupos.

Resultados: A boldina promoveu relaxamento em anéis de aorta de NTR (n=6) e SHR (n=6) com e sem endotélio, previamente contraídos com fenilefrina. Foi possível notar também que o relaxamento expresso em porcentagem atingiu 100% em ambos os grupos experimentais independente de endotélio. Quando adicionamos previamente L-NAME (100 μ M), inibidor não-seletivo da enzima NOS, assim como a adição prévia de ODQ (10 μ M), inibidor da enzima GCs, em concentrações já elucidadas para impedir o relaxamento induzido pela ACh, estas não foram capazes de interferir de forma significativa no relaxamento observado pela adição da boldina em anéis aórticos previamente contraídos com fenilefrina. Apesar dos dados obtidos na curva de relaxamento mostrar um deslocamento para a direita entre os grupos, sua resposta final não foi diferente, permitindo sugerir que a via NO/GCs/GMPc parece não ter interferência para os efeitos relaxantes da boldina. O efeito vasorrelaxante proporcionado pela boldina também não foi modificado na presença dos bloqueadores de receptores acoplados a proteína G (atropina e propranolol) sugerindo que o efeito do composto não depende da ativação destas vias. E ainda não sofreu qualquer alteração na presença da indometacina, sugerindo que a participação dos prostanoídes relaxantes não parece ser essencial para as ações da boldina. Ao investigarmos o envolvimento dos canais de K⁺, incubamos TEA nas concentrações de 1 e 10 mM, que atuam como bloqueador de canais de K⁺ ativados por Ca²⁺ e bloqueador não-seletivo dos canais de K⁺, respectivamente. Observamos que houve deslocamento significativo da curva para a direita, sugerindo redução do efeito relaxante do composto, sem interferência no efeito máximo. Já nas presenças de glibenclamida (Glib) – bloqueador de canais de K⁺ sensíveis ao ATP -; cloreto de bário (BaCl₂) – bloqueador de canais de K⁺ retificadores de influxo – estes não foram capazes de alterar de forma relevante a atividade vasorrelaxante do composto. Por outro lado, observamos um deslocamento da curva de relaxamento para a direita da boldina na presença de 4-aminopiridina (4-AP) – bloqueador dos canais de K⁺ dependentes de voltagem, sugerindo que, ao menos em parte, estes canais podem contribuir para os efeitos relaxantes da boldina. A adição prévia da boldina nas concentrações de 1, 3 e 10 μ g/mL, em solução nutritiva livre de Ca²⁺, foram capazes de inibir a resposta contrátil induzida pela fenilefrina. Já quando a contração aórtica foi induzida pela cafeína, a inibição da resposta contrátil ocorreu apenas com a concentração de 10 μ g/mL de boldina, sugerindo que os receptores para IP₃ e os receptores RyRs localizados na membrana reticular participam das ações moduladoras do tônus vascular promovida pela boldina. Ainda relacionando o envolvimento dos canais de Ca²⁺ transmembranares, a boldina, quando incubada nas



concentrações de 1, 3 e 10 $\mu\text{g/mL}$, em meio a solução nutritiva de Krebs despolarizante livre de cálcio, reduziu de forma significativa a resposta contrátil ao CaCl_2 em aortas de ratos normotensos, indicando que o influxo de Ca^{2+} do meio extracelular para o meio citosólico é reduzido na presença do composto.

Considerações finais: A boldina apresentou efeito vasorrelaxante em anéis aórticos, com ação independente de endotélio, sugerindo que a boldina pode contribuir para o controle do tônus vascular. Ao investigarmos o mecanismo de ação, a boldina apresentou primordialmente ação relacionada à participação dos canais de cálcio tanto reticulares como transmembranares. Apesar dos resultados relevantes aqui descritos, mais estudos são necessários para aprofundar os mecanismos responsáveis pelo efeito vasorrelaxante bem como a atuação do composto sobre outros sistemas e órgãos que contribuem para o controle do tônus vascular.

Financiamento ou apoio: CAPES, CNPq e FAPESC.

Referências

1) STANNER, S.; COE, S; FRAYN, K. The Aetiology and Epidemiology of Cardiovascular Disease. Wiley: Hoboken, USA, p. 1-28, 2018. 2) ROTH, G. A. et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. J. Am. Coll. Cardiol, v. 76, p. 2982-3021, 2020. 3) CAREY, R. M. et al. Prevention and Control of Hypertension: JACC Health Promotion Series. J. Am. Coll. Cardiol, v. 72, n. 11, p. 1278-1293, 2018. 4) AGGARWAL, M.; AGGARWAL, B.; RAO, J. Integrative medicine for cardiovascular disease and prevention. Med Clin North Am, v. 101, n. 5, p. 895-923, 2017. 5) SEN, T.; SAMANTA, S. K. Medicinal plants, human health and biodiversity: a broad review. Adv Biochem Eng Biotechnol, v. 147, p. 59-110, 2015. 6) O'BRIEN, P.; CARRASCO-POZO, C.; SPEISKY, H. Boldine and its antioxidant or health-promoting properties. Chem Biol Interact, v. 159, n.1, p.1-17, 2006. 7) DE LIMA, N. M. R. et al. Neuroinflammatory response to experimental stroke is inhibited by boldine. Behav Pharmacol, v. 28, p. 223-237, 2017. 8) PANDURANGAN, A. K. et al. Boldine suppresses dextran sulfate sodium-induced mouse experimental colitis: NF- κ B and IL-6/STAT3 as potential targets. Biofactors, v. 42, n. 3, p. 247-258, 2016.