

Efeito do *Erythroxylum caatingae* sobre a Contratilidade in vitro de Vesícula Biliar de Humanos

Effect of *Erythroxylum caatingae* on Contractility in vitro of Human Gallbladder

Carlos Wagner de Souza Wanderley¹, Keidylânia da Costa Santos², Raimundo Campos Palheta Júnior³

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação do extrato bruto da *Erythroxylum caatingae* (EC) sobre a contratilidade in vitro da vesícula biliar de humanos. Para isso, o tecido foi imerso em solução de Krebs (pH 7.4, a 37 °C), por 45 minutos. Nesse período, foram induzidas contrações tônicas com KCl (15, 30, 60 90 e 120 mM). A seguir, o tecido foi lavado e submetido a uma nova contração seguida de adição de EC (1, 3, 9, 27, 81, 243, 500 e 729 µg/mL). As concentrações cumulativas de KCl aumentaram: tônus basal ($0,76 \pm 0,03$ vs. $1,8 \pm 0,3$ g), amplitude ($0,53 \pm 0,1$ vs. $0,90 \pm 0,26$ g) e contração máxima (1,91 vs. 2,50), contudo, não houve diferença entre 60, 90 e 120 mM de KCl. Dessa forma, foi escolhida a concentração de 60 mM. A resposta contrátil ao KCl 60 mM, seguido da adição de concentrações crescentes do EC não modificou o tônus basal ($1,00 \pm 0,12$ vs. $2,05 \pm 0,51$ g), pico de amplitude

¹Estudante de Medicina Veterinária, bolsista Facepe, Universidade Federal do Vale do São Francisco (Univasf), Petrolina, PE.

²Mestrando em Recursos Naturais do Semiárido, Univasf, Petrolina, PE.

³Médico-veterinário, D.Sc. em Farmacologia, professor Adjunto da Univasf, Petrolina, PE, palhetajunior@gmail.com.

($1,90 \pm 0,40$ vs. $2,03 \pm 0,5g$) e a força de contração ($2,52$ vs. $2,79g$). O EC nas concentrações testadas não alterou as contrações induzidas pela abertura de canais dependentes de voltagem.

Palavras-chave: *Erythroxylum caatingae*, vesícula biliar, contratilidade in vitro.

Introdução

Os distúrbios gastrintestinais funcionais (FGIDs) são frequentes na população em geral. Tais alterações motoras, caracterizadas como FGIDs, não são sítios-específicos (por exemplo, gástrica, intestinal, etc.). Neste sentido, tem sido investigada a atividade motora da vesícula biliar (VB) e sua relevância na patogênese dos FGIDs em pacientes com dispepsia funcional e distúrbios do trato gastrintestinal (TGI) (MISRA et al., 1991).

No entanto, apesar dos avanços na compreensão do mecanismo responsável pela disfunção motora da VB em pacientes dispépticos, eventos intracelulares ainda não estão completamente elucidados, o que facilitaria a terapêutica nesses pacientes.

Do ponto de vista terapêutico, há eminente expansão da fitoterapia, principalmente por causa da preferência dos pacientes por tratamentos considerados “naturais”, aliado à crescente validação científica das propriedades farmacológicas de espécies vegetais, o desenvolvimento e administração dos produtos de relativo baixo custo tem crescido exponencialmente (MELO et al., 2007).

Neste sentido, plantas da Família Erythroxylaceae, comuns na Região Nordeste, detêm registros de potencial terapêutico. Estudos preliminares realizados in vitro indicaram significativo efeito miorrelaxante sobre a musculatura lisa de íleo, uterina e de traqueia (SANTOS et al., 2009, 2010; SILVA et al., 2010).

Dessa forma, considerando-se o fato das possíveis aplicações farmacológicas, inclusive na medicina popular, e como estudos sobre o gênero *Erythroxylum* ainda são escassos, foi realizado este trabalho com o objetivo de avaliar o efeito do extrato bruto do *Erythroxylum caatingae* (EC) sobre a contratilidade in vitro induzida por cloreto de potássio na vesícula biliar de humanos.

Material e Métodos

A vesícula biliar foi adquirida de pacientes colecistectomizados, no Hospital Universitário da Universidade Federal do Vale do São Francisco (Hospital de Traumas de Petrolina, PE), após aprovação em Comitê de Ética em Experimentação em Humanos e Animais e assinatura de livre consentimento dos pacientes.

Para a obtenção das respostas isométricas, o tecido foi inicialmente imerso em cubas (6 mL) contendo solução de Krebs (NaCl 120, KCl 5,9, NaH_2PO_4 1,2, MgCl_2 1,2, NaHCO_3 15,4, CaCl_2 2,5 e glicose 11,5 mmol/L), pH 7,4, a 37 °C, aerados com mistura carbogênica (95% de O_2 e 5% de CO_2) e submetido à tensão de 1 g através de fios de algodão conectados a transdutores de força. As tiras do tecido foram mantidas por um período de 45 minutos, para estabilização. Durante esse período, a solução de Krebs foi renovada a cada 15 minutos para prevenir o acúmulo de metabólitos.

Após o período de estabilização, para análise da integridade do tecido, foram obtidas contrações tônicas induzidas por KCl (15-120 mmol.L⁻¹). Em seguida, o tecido foi lavado com solução de Krebs e, após a estabilização do tônus basal, foi induzida uma nova contração com KCL, seguida da adição do EC em concentrações crescentes de 1, 3, 9, 27, 81, 243, 500 e 729 µg/mL, em intervalos de 5 minutos. Os resultados obtidos no tônus basal, amplitude e máximo valor das contrações, foram expressos (média ± E.P.M) e analisados empregando-se a ANOVA, seguidos do teste "t"-Student ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Durante a execução dos primeiros protocolos, observou-se que das oito amostras obtidas, apenas quatro foram viáveis, uma vez que essas demonstraram atividade contrátil espontânea, bem como respostas farmacológicas que estão de acordo com a literatura (GREAVES et al., 2000). Neste sentido, após a exposição de uma tensão inicial de 1 g e a estabilização ao longo de 30 minutos, obteve-se uma atividade fásica, cujo tônus basal obtido foi da ordem de (0,76 ± 0,03 g), com pico de contração (1,3 ± 0,11 g), refletindo em amplitude de contração de 0,53 ± 0,1 g, valores similares aos encontrados por AL-JIFFRY et al. (2002).

Além disso, como representado qualitativamente na Figura 1, houve aumento da contração biliar quando os tecidos foram submetidos a doses cumulativas crescentes de KCl 15, 30, 60, 90 e 120 mM (Tabela 1). Já a exposição das tiras ao extrato bruto de *E. caatingae* nas concentrações de 1, 3, 9, 27, 81, 243, 500 e 729 $\mu\text{g/mL}$ não interferiu no tônus contrátil induzido por KCl (Tabela 1). Apesar desse resultado, Silva et al. (2010) observaram efeito tolítico desse extrato em tiras isoladas de útero de roedores.

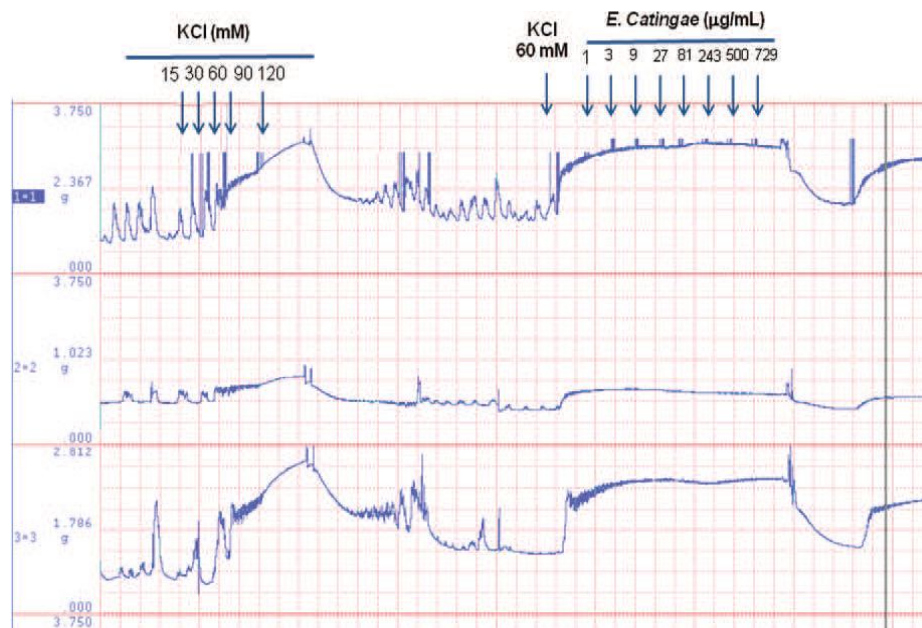


Figura 1. Representação qualitativa da contratilidade *in vitro* de vesícula biliar de humanos expostas a concentrações cumulativas de KCl submetidas a inserção de extrato bruto de *Erythroxylum caatingae*.

Tabela 1. Valores de contratilidade *in vitro* espontânea ou induzida por KCl obtidos em vesícula biliar de humanos e valores de contratilidade *in vitro* induzida por KCl seguidas da exposição a concentrações crescentes de extrato bruto de *Erythroxylum caatingae*.

[KCl] (mM)	Tônus basal (g)	Pico Amplitude (g)	Média Amplitude (g)	Contração Máxima (g)
0	0,76 ± 0,03	1,3 ± 0,11	0,53 ± 0,1	1,91
15	0,80 ± 0,06	1,25 ± 0,20	0,45 ± 0,25	1,62
30	0,75 ± 0,12	0,95 ± 0,5	0,20 ± 0,6	1,70
60	0,97 ± 0,10	1,62 ± 0,20	0,65 ± 0,30	1,84
90	1,8 ± 0,3	2,05 ± 0,46	0,25 ± 0,20	2,90
120	1,00 ± 0,12	1,90 ± 0,39	0,90 ± 0,26	2,50

[] Substância	Tônus basal (g)	Pico Amplitude (g)	Média Amplitude (g)	Contração Máxima (g)
KCl 60 mM	1,00 ± 0,12	1,90 ± 0,40	0,90 ± 0,26	2,52
EC 1 mg/mL	1,84 ± 0,40	2,00 ± 0,43	0,16 ± 0,07	2,69
EC 3 mg/mL	1,99 ± 0,43	2,05 ± 0,45	0,06 ± 0,03	2,77
EC 9 mg/mL	2,06 ± 0,46	2,07 ± 0,47	0,01 ± 0,01	2,82
EC 27 mg/mL	2,06 ± 0,46	2,08 ± 0,47	0,01 ± 0,01	2,82
EC 81 mg/mL	2,06 ± 0,47	2,06 ± 0,50	-0,00 ± 0,03	2,88
EC 243 mg/mL	2,06 ± 0,50	2,05 ± 0,50	-0,01 ± 0,00	2,87
EC 500 mg/mL	2,05 ± 0,50	2,06 ± 0,50	0,00 ± 0,02	2,85
EC 729 mg/mL	2,05 ± 0,50	2,03 ± 0,50	-0,01 ± 0,02	2,79

Conclusões

A viabilidade do tecido biliar quanto à atividade contrátil espontânea, bem como sua responsividade ao KCl, dependem da integridade histológica.

As doses utilizadas de extrato bruto de *E. caatingae* não causaram efeito espasmolítico frente à contração induzida pelo KCl.

Agradecimentos

À Facepe, pela concessão da bolsa, e ao CNPq, pelo incentivo financeiro.

Referências

- AL-JIFFRY, B. O.; TOOULI, J.; SACCONI, G. T. P. Endothelin-3 induces both human and opossum gallbladder contraction mediated mainly by endothelin-B receptor subtype *in vitro*. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Carlton, v. 17, p. 324-331, 2002.
- GREAVES, R. R. S. H.; O'DONNELL, L. J. D.; FARTHING, M. J. G. Differential effect of prostaglandins on gallstone-free and gallstone-containing human gallbladder. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, v. 45, p. 2.376-2.381, 2000.
- MELO, J. G.; MARTINS, J. D. G. R.; AMORIN, E. L. C.; ALBUQUERQUE, U. P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: Castanha-da-Índia (*Aesculus hippocastanum* L), capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf e centela (*Centella asiatica* (L) Urban). **Acta Botânica Brasileira**, Brasília, DF, v. 21, n. 1, p. 27-36, 2007.
- MISRA, S. P.; DWIVEDI, M.; MITIAL, M.; MISRA, V. Gallbladder dynamics in patients with irritable bowel syndrome and essential dyspepsia. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 13, p. 658, 1991.
- SANTOS, E. B.; SILVA, M. V. R.; OLIVEIRA, S. L.; TAVARES, J. F.; RIBEIRO, L. A. A.; LIMA, J. T. *Erythroxylum revolutum* apresenta efeito espasmolítico em íleo isolado de cobaia. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2., 2009, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Univasf, 2009. 1 CD-ROM.
- SANTOS, H. A. S.; OLIVEIRA, S. L.; TAVARES, J. F.; RIBEIRO, L. A. A.; LIMA, J. T. Ethanol crude extract of *Erythroxylum catingae* induces relaxant effect in the guinea-pig trachea. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL, 42., 2010, Ribeirão Preto. **Resumos...** São Paulo: SBFTE, 2010. p. 39-40.
- SILVA, J. A.; OLIVEIRA, S. L.; TAVARES, J. F.; QUINTANS JÚNIOR, L. J.; CLAUDINO, F. S.; ALMEIDA, J. R. G. S.; RIBEIRO, L. A. A.; LIMA, J. T. *Erythroxylum caatingae* apresenta atividade tocolítica. In: REUNIÃO REGIONAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 25., 2010, Aracaju. **Resumos...** [São Paulo]: FeSBE, 2010.