

MERIANGELA PEREIRA COUTINHO

**Efeitos da CATUAMA sobre a função ventricular, a mecânica do
músculo cardíaco e os parâmetros hemodinâmicos de ratos**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Área de Concentração: Emergências Clínicas

Orientador: Prof. Dr. Augusto Scalabrini Neto

São Paulo

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Coutinho, Meri Angela Pereira

Efeitos da CATUAMA sobre a função ventricular, a mecânica do músculo cardíaco e os parâmetros hemodinâmicos de ratos / Meri Angela Pereira Coutinho. -- São Paulo, 2010.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Emergências Clínicas.

Orientador: Augusto Scalabrini Neto.

Descritores: 1.Medicamentos fitoterápicos 2.Contração miocárdica 3.Função ventricular 4.Hemodinâmica 5.Arteria carótida externa

USP/FM/SBD-007/10

*A evolução do homem
consiste no interesse próprio
em adquirir consciência e conhecimento
para alçar vôos mais altos.*

*Aos meus queridos pais Walmir e Sueli,
meus irmãos Marcelo, Márcio e Mauricio
e todas as crianças de minha vida*

Ao meu amor,

Aloysio

AGRADECIMENTOS

A minha mãe por ter me dado a oportunidade de estar aqui e ter me ensinado a ser forte. Por ser este exemplo de mulher correta, digna e justa. Por me amar incondicionalmente.

Ao meu pai, quanta saudade... De onde me assiste, sei que está orgulhoso.

A minha família por ser a âncora da minha vida, por me mostrar o valor da fraternidade e do respeito ao próximo, por me auxiliar na árdua jornada da existência humana.

Ao meu marido, meu companheiro, meu maior incentivador. Desde que o conheci minha vida se tornou mais leve. Sou grata por sua paciência nos momentos mais difíceis. Seu amor me fortalece.

A minha sogra, Sueli Perez de Oliveira, pelo acolhimento e suporte em São Paulo e, principalmente, pela amizade e carinho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Augusto Scalabrini Neto, professor e amigo, pela convivência, confiança e oportunidade de aprendizado.

Ao Prof. Irineu Tadeu Velasco, pelo privilégio de fazer parte de sua equipe de pesquisadores.

Aos companheiros do LIM 51 que tanto me ensinaram, viabilizando a conclusão de minha pesquisa. Especialmente, à Fátima, Suely e Kelli, pessoas pelas quais tenho muito carinho e que foram fundamentais neste processo.

À Angélica e Rose, secretárias da disciplina de Emergências Clínicas, pela boa vontade e paciência.

Ao Antonio, pelo auxílio e suporte com os animais no biotério durante todos estes 4 anos de pós-graduação.

A todos que, de alguma forma, contribuíram, contribuem ou contribuirão para meu processo evolutivo.

ÍNDICE

Lista de abreviaturas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. O fitoterápico CATUAMA.....	1
1.2. Fibrilação ventricular e disfunção cardíaca.....	4
2. HIPÓTESE.....	6
3. OBJETIVOS.....	7
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
4.1. Drogas e Grupos Experimentais.....	8
4.2. Estudo de contratilidade miocárdica – ensaio de músculo papilar isolado.....	10
4.2.1. Protocolo experimental.....	12
4.3. Estudo de função ventricular e parâmetros hemodinâmicos – canulação da artéria carótida direita.....	16
4.3.1. Protocolo experimental.....	17
4.4. Análise estatística.....	20
5. RESULTADOS.....	21
5.1. Estudo de contratilidade miocárdica.....	21
5.2. Estudo de função ventricular e parâmetros hemodinâmicos.....	35
6. DISCUSSÃO.....	45
7. CONCLUSÕES.....	49
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

Lista de Abreviaturas

Ach:	Acetilcolina
ANOVA:	Análise de variância
ATP:	Adenosina trifosfato
dP/dt max:	Índice de função sistólica do ventrículo esquerdo
dP/dt min:	Índice de função diastólica do ventrículo esquerdo
dT/dt max:	Velocidade de variação temporal da tensão desenvolvida
dT/dt min:	Velocidade de variação temporal da tensão de relaxamento
EPM:	Erro padrão da média
e.v.:	Endovenosa
FC:	Frequência cardíaca
FV:	Fibrilação ventricular
<i>i.p.</i> :	Intraperitonal
K _{ATP} :	Canais de potássio dependentes de ATP
K _{Ca} :	Canais de potássio sensíveis ao cálcio
Lmáx:	Comprimento máximo da fibra muscular
L-NOARG:	N ^ω -nitro-L-arginina
ON:	Óxido nítrico
PA:	Pressão arterial
PAD:	Pressão arterial diastólica
PAM:	Pressão arterial média
PAS:	Pressão arterial sistólica

PDFVE:	Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo
PPC:	Pressão de perfusão coronariana
PSVE:	Pressão sistólica do ventrículo esquerdo
RS:	Retículo sarcoplasmático
TD:	Tensão desenvolvida
TR:	Tensão de relaxamento
VE:	Ventrículo esquerdo

Resumo

Coutinho MP. *Efeitos da CATUAMA sobre a função ventricular, a mecânica do músculo cardíaco e os parâmetros hemodinâmicos de ratos* (tese). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009. 53p.

O fitoterápico CATUAMA, utilizado no Brasil há mais de 20 anos, e seu extrato isolado *T catigua* apresentam efeito de reversão e prevenção da fibrilação ventricular (FV). FV, em pacientes com disfunção cardíaca, representa uma importante causa de morte súbita no mundo ocidental. Neste contexto, os efeitos de CATUAMA sobre a função cardíaca e os parâmetros hemodinâmicos foram investigados em ratos normais. Várias concentrações (10 a 800 µg/mL) de CATUAMA (uma mistura dos extratos das plantas *Trichilia Catigua*, *Paullinia Cupana*, *Ptychopetalum Olacoide* e *Zingiber Officinale*) e de cada um de seus constituintes foram infundidas em preparações de músculos papilares isolados. A tensão desenvolvida (TD), tensão de relaxamento (TR) e as velocidades de aumento e redução da tensão (dT/dt_{max} e dT/dt_{min}) foram analisadas. Uma única dose de 200 µg/mL foi injetada na veia jugular direita *in situ*. Os índices (dP/dt_{max} e dP/dt_{min}) de função ventricular esquerda (VE), as pressões sistólica (PSVE) e diastólica final (PDFVE), de perfusão coronariana (PPC), arteriais sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) e a frequência cardíaca (FC) foram monitoradas por 10min via cateterização VE. CATUAMA afetou a contratilidade miocárdica na maior dose (dose tóxica), reduzindo 9% a TD e 16% a TR, aumentando 90% a dT/dt_{min} . CATUAMA também melhorou em até 16% as PAS, PAD, PAM e PPC. Seus extratos isolados apresentaram efeitos diferenciados. *T catigua* não interferiu nas variáveis. *P cupana* reduziu a contratilidade e a PDFVE e aumentou os parâmetros hemodinâmicos assim como CATUAMA. *P olacoide* reduziu a TD, a TR e a PDFVE. *Z officinale* também reduziu a TD e a TR. CATUAMA e *T catigua* não trazem prejuízo à função cardíaca.

Descritores: Medicamentos fitoterápicos; Contração miocárdica; Função ventricular; Hemodinâmica; Artéria carótida externa.

Summary

Coutinho MP. *Effects of herbal medicine CATUAMA on cardiac function and hemodynamic parameters in rats* (thesis). São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2009. 53p.

The Brazilian herbal medicine CATUAMA and its extract *T catigua* have shown reversion and prevention action on ventricular fibrillation (VF). VF, in patients with cardiac dysfunction, is an important cause of sudden death in Western world. In this regard, CATUAMA effects on cardiac function and hemodynamic parameters in normal rats were investigated. Various concentrations (10 to 800µg/mL) of CATUAMA (a mixture of *Trichilia Catigua*, *Paullinia Cupana*, *Ptychopetalum Olacoide* and *Zingiber Officinale*) and each herbal extract were infused into isolated papillary muscle bath. Developed tension (DT), tension at rest (RT) and velocities of increase and decrease tension (dT/dt_{max} and dT/dt_{min}) were analyzed. A single 200µg/mL dose was injected into jugular vein *in situ*. Left ventricular (LV) function index (dP/dt_{max} and dP/dt_{min}), LV systolic and end-diastolic pressures (LVSP and LVEDP), coronary driving pressure (CDP), systolic, diastolic and mean blood pressures (SBP, DBP and MBP) and heart rate (HR) were monitored during 10min by LV catheterization. CATUAMA affected myocardium contractility in the higher and toxic dose, decreasing 9% DT and 16% TR and increasing 90% dT/dt_{min} . CATUAMA also improved 16% SBP, DBP, MBP and CDP. Its isolated extracts showed different actions. *T catigua* demonstrated no interference in the variables. *P cupana* decreased contractility and LVEDP. It improved hemodynamic parameters as CATUAMA. *P olacoide* decreased DT, TR and LVEDP. *Z officinale* also decreased DT and TR. CATUAMA and *T catigua* did not affect cardiac function. These are important results for development of a new drug to prevent and to reverse VF without heart function impairment.

Descriptors: Phytotherapeutic drugs; Myocardial contraction; Ventricular function; Hemodynamics; Carotid artery external.

1. INTRODUÇÃO

1.1. O fitoterápico CATUAMA

A CATUAMA é uma solução fitoterápica produzida no Brasil há mais de 20 anos pelo Laboratório Catarinense S.A., sendo tradicionalmente utilizada para o tratamento de distúrbios como disfunção sexual masculina, estresse, fadiga física e mental. É composta por extratos de quatro plantas medicinais: Catuaba (*Trichilia catigua*, Meliaceae), Guaraná (*Paullinia cupana*, Sapindaceae), Muirapuama (*Ptychopetalum olcoides*, Olacaceae) e Gengibre (*Zingiber officinale*, Zingiberaceae). A proporção dos componentes no extrato seco da CATUAMA é de 28,23% de *T catigua*, 40,31% de *P cupana*, 28,23% de *P olcoides* e 3,26% de *Z officinale*. De acordo com Oliveira et al. (2005) a solução de CATUAMA pode ser administrada cronicamente sem nenhum efeito colateral importante.

As ações terapêuticas da CATUAMA e os seus mecanismos ainda não foram descritos. Por isso, este fitoterápico tem sido investigado em diversos centros de pesquisa no Brasil.

Cabrini e Calixto (1997), em um estudo comparativo entre a CATUAMA e a acetilcolina (ACh), demonstraram efeitos de vasodilatação dependente da liberação de óxido nítrico (ON) ou substâncias derivadas de

ON, em vasos isolados pré-contraídos com β agonistas (noradrenalina e fenilefrina). Este estudo mostrou que a vasodilatação induzida por CATUAMA foi antagonizada por N^ω-nitro-L-arginine (L-NOARG, 100 μ m), mas não foi afetada pela antagonização dos canais de K_{ATP} e K_{Ca}. (ao contrário, o bloqueio destes canais afetou a vasodilatação induzida por ACh).

A ação antinociceptiva (analgésica) da CATUAMA, semelhante à morfina, foi verificada por Vaz et al. (1997), em camundongos. Utilizando modelos de nocicepção química e térmica, esses efeitos foram antagonizados por naloxona (antagonista opióide não-seletivo), que também reverteu a tolerância progressiva que se observou no uso da CATUAMA (assim como no uso da morfina). Essas observações, bem como o achado de tolerância cruzada entre as duas drogas, levaram à conclusão de que os efeitos antinociceptivos da CATUAMA estão relacionados ao sistema opióide e à interação dos princípios ativos dos extratos. Recentemente, um estudo referente à ação antinociceptiva da CATUAMA em modelos de inflamação e neuropatia em ratos também foi publicado. Neste estudo, os efeitos da CATUAMA demonstraram ser independentes das vias serotoninérgicas e adrenérgicas (Quintão et al., 2008).

Já foi demonstrada também a ação da CATUAMA no relaxamento dos corpos cavernosos de coelhos. Segundo os achados de Antunes et al. (2001) o relaxamento, de curta duração e dose-dependente, induzido por

CATUAMA não envolveu liberação de ON ou ativação do canal K_{ATP} . Os resultados indicaram *P cupana* como o extrato mais eficaz no efeito de relaxamento.

Outro estudo, desta vez de Campos et al. (2004), evidenciou ações antidepressivas, comparáveis à imipramina e fluoxetina, em ratos. Observou-se que a CATUAMA provoca inibição da recaptção de noradrenalina, serotonina e dopamina e aumenta a liberação de serotonina e dopamina no cérebro. A CATUAMA mostrou ser 9 a 18 vezes mais potente que a noradrenalina na inibição da recaptção de serotonina e dopamina, respectivamente.

Nosso grupo, interessado em investigar os efeitos da CATUAMA na fisiologia cardiovascular, iniciou um estudo experimental da ação deste fármaco sobre a função ventricular em corações isolados de coelhos com ligadura da artéria coronária descendente anterior. Durante a realização dos experimentos, vários corações apresentaram fibrilação ventricular (FV) espontânea, independentemente da existência de isquemia miocárdica. Nestes corações, a infusão de CATUAMA reverteu a FV em curto intervalo de tempo, criando assim um novo foco de interesse: estudar os efeitos do composto sobre a FV.

Assim, desenvolvemos um modelo estável de FV em coração isolado de coelho (Camargo et al., 2004) e observamos que o tratamento agudo com

CATUAMA (200 µg/mL) promoveu a reversão da FV a ritmo sinusal em 100% dos casos. Dos componentes da CATUAMA, *T catigua* mostrou a mesma eficiência na reversão da FV e pareceu estar associado à redução da velocidade de condução do estímulo através do miocárdio. Os resultados deste novo estudo foram publicados por Pontieri et al. (2007) e se tornaram um incentivo para a continuidade desta pesquisa.

1.2. Fibrilação ventricular e função cardíaca deprimida.

A FV é a mais grave de todas as arritmias cardíacas. Seu índice de mortalidade é elevadíssimo, principalmente, se estiver associada à função cardíaca deprimida.

A FV é resultante de impulsos cardíacos que circulam incessantemente por todas as direções pelo músculo ventricular, o que caracteriza o fenômeno de reentrada. Este fenômeno impede a ocorrência de contrações coordenadas e eficazes, fundamentais para o ciclo do bombeamento cardíaco.

A função cardíaca deprimida pode ser caracterizada pela a incapacidade do coração em manter o débito cardíaco necessário ao metabolismo, isto é, pela diminuição do bombeamento de sangue pelo coração. Dentre outros fatores, é comumente causada pela redução da contratilidade miocárdica decorrente de um menor fluxo coronariano.

Já que, padrões anormais de contração cardíaca estão intrinsecamente relacionados a estes estados patológicos e, considerando seu grau de incidência concomitante, tornou-se imprescindível investigar se a CATUAMA e seus extratos isolados são capazes de provocar qualquer alteração na função ventricular ou repercussão hemodinâmica em animais com coração normal.

2. HIPÓTESE

A FV associada à disfunção miocárdica é uma das principais causas de morte súbita no mundo ocidental. A CATUAMA e seu extrato *T catigua* apresentam efeito de prevenção e reversão da FV, constituindo real possibilidade de desenvolvimento de uma nova droga antiarrítmica e antifibrilatória. Diante disto, levantamos a hipótese e a necessidade de investigação sobre a atuação da CATUAMA e seus extratos na mecânica cardíaca, na função ventricular e na hemodinâmica de ratos normais, tratando-se de uma abordagem nunca antes utilizada na pesquisa sobre os efeitos terapêuticos desta droga fitoterápica.

3. OBJETIVOS

- Avaliar os efeitos agudos da CATUAMA e seus componentes sobre a mecânica miocárdica, estabelecendo uma curva dose-resposta, em preparações de músculo papilar isolado de rato.
- Monitorar agudamente e *in vivo* a atuação da CATUAMA e de cada um de seus extratos na função ventricular e nos parâmetros hemodinâmicos de ratos, via cateterização da artéria carótida externa direita.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – CAPPesq, sob o n° 313/06. Para tanto, foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando entre 300g a 400g, provenientes, originariamente, do Biotério Central da FMUSP. Nesse biotério, os animais foram mantidos em gaiolas moradia, em condições controladas de temperatura e luminosidade, recebendo dieta animal Nuvilab CR1® (Nuvital Nutrientes Ltda) e água, *ad libitum*, até o momento do início do experimento.

4.1. Drogas e grupos experimentais

Os extratos secos de CATUAMA, *T catigua*, *P cupana*, *P olacoide* e *Z officinale* foram diluídos em 10% de oleato de sorbitan etoxilado (Tween 80) e água destilada.

Os grupos experimentais foram constituídos, com 6 animais cada, conforme o tratamento administrado, isto é:

- CATUAMA;
- *T catigua* (catuaba);
- *P cupana* (guaraná);

- *P. olcaloide* (muirapuama);
- *Z. officinale* (gengibre).

Um estudo piloto, com corações isolados de coelhos, determinou a concentração mais eficaz na reversão e prevenção da FV: 200 µg/mL. Este dado nos levou a utilizar doses crescentes das soluções de cada extrato (10, 20, 40, 80, 100, 200, 400 e 800 µg/mL) no estudo de contratilidade miocárdica e uma única dose de 200 µg/mL de cada solução nos experimentos de função ventricular e avaliação hemodinâmica.

Experimentos controle foram realizados em paralelo para testar os efeitos do veículo Tween 80 (n = 06 e adição de solução de Tween 80 a 10% em água destilada, em volumes iguais aos utilizados nos experimentos com os extratos da CATUAMA). Para complementar, um grupo Lidocaína (n = 06 e injeção *e.v.* de lidocaína na concentração de 3 µg/mL) e um grupo Sham (n = 06 e injeção *e.v.* de 150 µL de água destilada) também foram estudados para avaliação dos efeitos de uma droga antiarrítmica, classicamente usada na reversão da FV, e do procedimento cirúrgico sobre a hemodinâmica e a função ventricular.

Experimentos de curva dose-resposta em corações isolados de ratos (em preparação de Langendorff) foram efetuados previamente para analisar a cardiotoxicidade da CATUAMA e do veículo Tween 80. Efeitos tóxicos,

porém reversíveis, foram identificados a partir de 400 µg/mL de ambas as soluções, com redução da atividade elétrica ventricular.

4.2. Estudo de contratilidade miocárdica - ensaio de músculo papilar isolado

Este estudo foi realizado com 6 animais em cada um dos grupos estabelecidos. Para avaliação da função contrátil utilizamos músculos papilares do ventrículo esquerdo (VE), de acordo com procedimentos descritos anteriormente (Taffet et al., 1996; Cicogna et al., 2000). Os animais foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (100 mg/mL) e cloridrato de xilazina (20 mg/mL), na dose de 0,2 mL/100 g peso corporal, por via intra-peritoneal. Foi realizada toracotomia para retirada rápida e cuidadosa dos corações que, em seguida, foram mergulhados em solução de Krebs-Henseleit (composição em milimolar: NaCl 120 mM; KCl 4,7 mM; CaCl₂ 1,8 mM; NaHCO₃ 25 mM; MgSO₄ 1,2 mM; KH₂PO₄ 1,2 mM; glicose 5,5 mM) aerada em 95% de oxigênio (O₂) 5% de dióxido de carbono (CO₂), com pH entre 7,30 e 7,40 e à temperatura constante de 28°C, na qual permaneceram por aproximadamente um minuto. Após este período, procedeu-se a retirada dos ventrículos direitos com o objetivo de expor os septos interventriculares, que foram divididos ao meio para uma visualização direta dos músculos papilares anterior e posterior. Realizou-se a dissecação dos músculos papilares em solução de Krebs-Henseleit oxigenada e à temperatura de 28°C. A seguir, os músculos foram presos em suas

extremidades a dois anéis de aço inoxidável, e posicionados verticalmente em uma câmara de vidro contendo 30 mL de solução de Krebs-Henseleit nas mesmas condições descritas anteriormente (Fig. 1). A extremidade superior dos músculos foi conectada, através de uma haste, também de aço inoxidável, a um transdutor de força (Grass Inc., modelo FT 03, EUA) e a um micromanipulador (Mitutoyo, modelo 2046F, EUA). A extremidade inferior foi conectada a outra haste de aço que atravessa a câmara de contração, mantendo os músculos papilares fixos. Paralelamente, dentro da câmara foram mantidos dois eletrodos de platina, acoplados a um estimulador elétrico (AVS Projetos Especiais, modelo AVS100, BR), que liberou estímulos em ondas de 5 milissegundos, com voltagem aproximadamente 10% maior que o mínimo necessário para provocar resposta mecânica máxima do músculo. A frequência de estímulos foi de 12 vezes por minuto (0,2 Hz). Os dados foram coletados pelo software Acknowledge III para o sistema analógico-digital MP100WSW (BIOPAC Systems, Inc., USA).

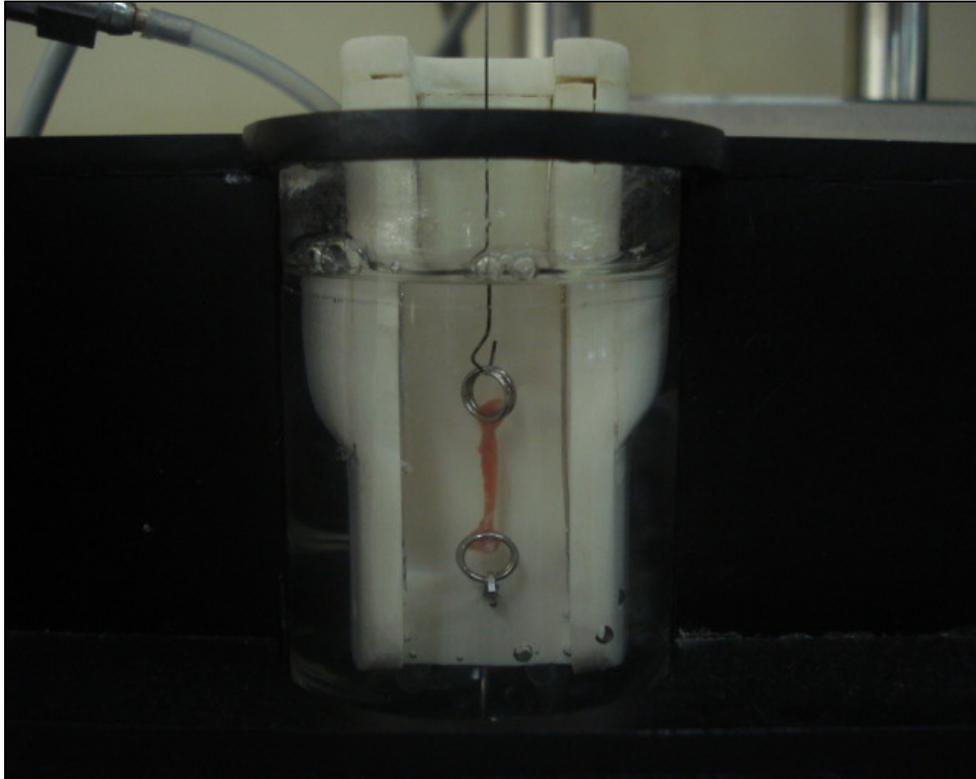


Fig. 1. Músculo papilar isolado do VE fixado em câmara de vidro contendo solução de Krebs-Henseleit aerada e aquecida à temperatura de 28°C.

4.2.1. Protocolo experimental

Inicialmente, os músculos papilares foram mantidos por 60 minutos sob contração isotônica contra uma mola (1g/cm²) com tensão de repouso de 0,4g. Em seguida, procedeu-se a fase de contração isométrica por 20 minutos com a mesma tensão de repouso. Após a estabilização da

preparação, com o auxílio do micromanipulador, os músculos foram lentamente estirados até atingir o ápice da curva comprimento-tensão ($L_{m\acute{a}x}$ – comprimento diastólico da fibra muscular associado com tensão isométrica máxima desenvolvida). Depois de atingido o $L_{m\acute{a}x}$, o sistema foi mantido em equilíbrio por mais 10 minutos, quando, então, os experimentos foram iniciados. Os valores basais foram determinados e doses crescentes (10 a 800 $\mu\text{g/mL}$) de solução de CATUAMA e de seus componentes foram adicionadas ao banho, em intervalos de 5 minutos, para obtenção de uma curva dose-resposta (Fig. 2). Nesse período, foram registradas as seguintes variáveis:

- Tensão desenvolvida (TD);
- Tensão de relaxamento (TR);
- Velocidade de variação temporal da tensão desenvolvida ($dT/dt \text{ max}$);
- Velocidade de variação temporal da tensão de relaxamento ($dT/dt \text{ min}$);

Para a avaliação funcional, as variáveis foram estudadas em condições basais. Excluímos manobras inotrópicas e utilizamos concentração basal de cálcio (1,25mM) para reproduzir ativação normal do processo contrátil. As conseqüências negativas de uma possível isquemia foram evitadas pelo controle da pressão parcial de O_2 (500-600 mmHg), descartando redução nos níveis de adenosina trifosfato – ATP (Kentish, 1986). Portanto, os efeitos da CATUAMA sobre a contratilidade miocárdica

foram analisados sem a interferência de outros parâmetros, independente de alterações na pré e pós-carga e na frequência cardíaca o que poderia modificar o desempenho miocárdico *in vivo* (Abbot e Mommaerts, 1959; Chapman e Wasserman, 1959; Yeatman et al., 1969; ParmLey e Chuck, 1973).

Os parâmetros morfológicos usados para caracterizar os músculos papilares foram os seguintes: comprimento do músculo (mm) e área seccional (mm²). O comprimento máximo dos músculos *in vitro* foi obtido com paquímetro (Mitutoyo Sul Americana S.A., BR). A área seccional foi calculada baseada na relação entre peso e Lmax (assumindo que o músculo possui forma cilíndrica e peso específico de 1.0).

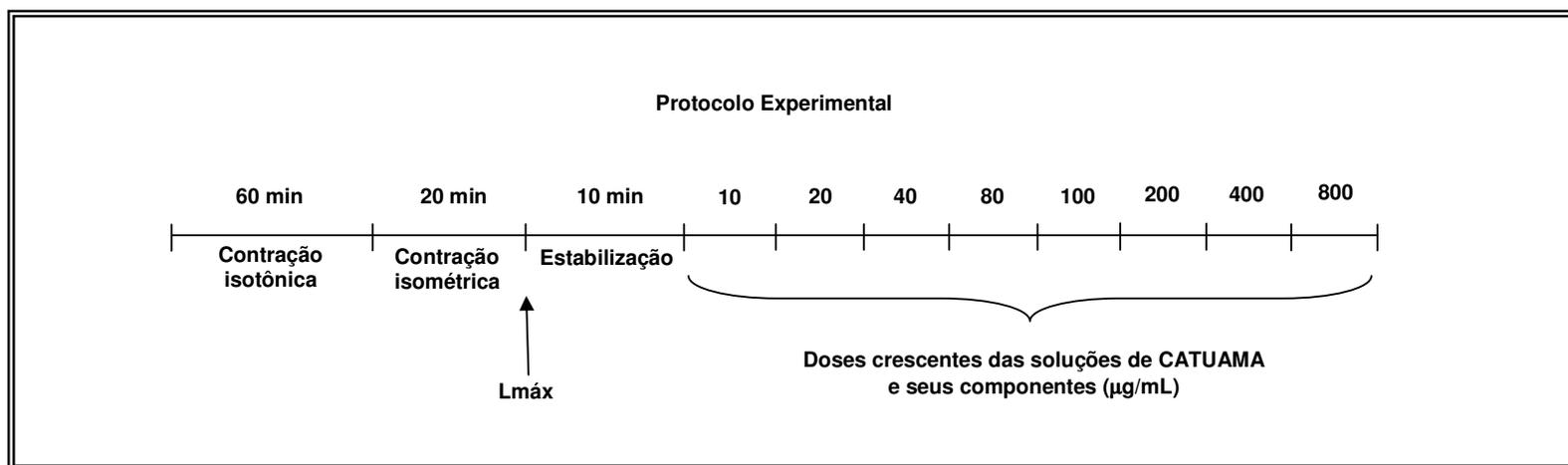


Fig. 2. Esquematização do protocolo experimental de músculo papilar isolado.

4.3. Estudo da função ventricular e avaliação hemodinâmica – cateterização da artéria carótida direita

Este estudo também foi realizado com 6 animais em cada um dos grupos. Os ratos foram anestesiados com hidrato de cloral (300mg/Kg de peso i.p.). Conforme demonstrado na Fig. 3, a veia jugular foi exposta e canulada com um cateter de polietileno P-50 para infusão das soluções. Em seguida, a artéria carótida externa direita foi também exposta e canulada com um cateter neonatal de polivinil conectado a um transdutor de pressão (BIOPAC Systems Inc., modelo TSD104A, EUA). Os registros foram obtidos continuamente com o mesmo software e sistema analógico-digital usado no estudo de contratilidade.

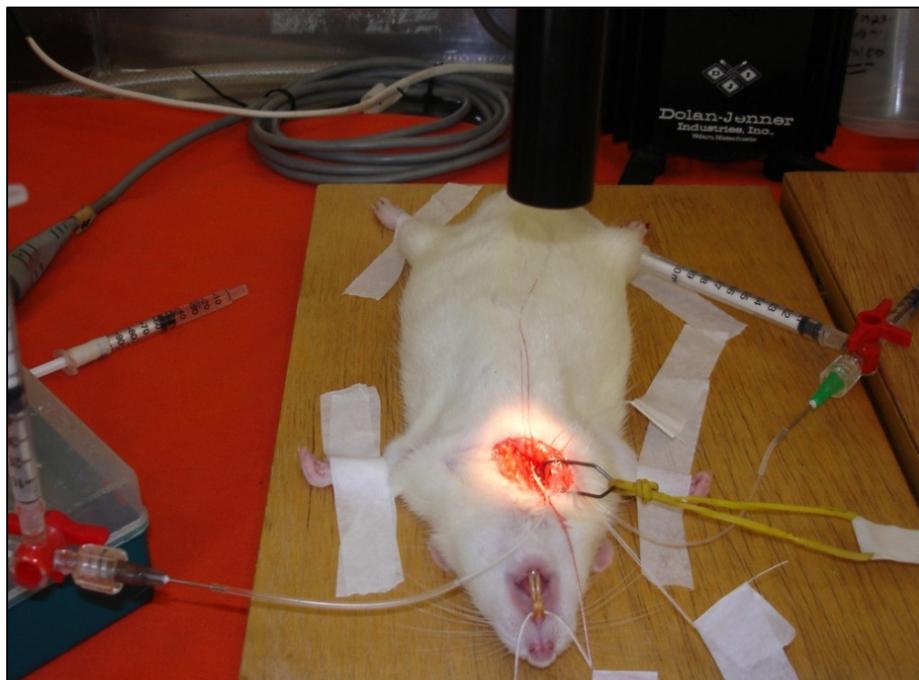


Fig. 3. Monitorização da função ventricular esquerda e dos parâmetros hemodinâmicos. O cateter, conectado a um transdutor de pressão, foi introduzido através da artéria carótida direita até o VE. Para infusão da droga, outro cateter foi introduzido na veia jugular direita.

4.3.1. Protocolo experimental

Com a introdução do cateter na artéria carótida direita, os valores basais sistêmicos de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) foram registrados. O cateter foi, então, avançado até o VE. Após 5 minutos de estabilização, os parâmetros basais de função cardíaca foram obtidos. Em seguida, uma única dose de 200 $\mu\text{g/mL}$ foi infundida através da veia jugular

direita e os dados foram monitorados e registrados ao longo de 10 minutos. No final de 10 minutos o cateter foi rapidamente removido do VE para a aquisição dos valores sistêmicos de PA e FC pós-droga. Este protocolo está esquematizado na Fig. 4.

Para realização deste estudo, as seguintes variáveis foram analisadas:

- Pressão arterial sistólica (PAS);
- Pressão arterial diastólica (PAD);
- Pressão arterial média (PAM);
- Freqüência cardíaca (FC);
- Pressão sistólica do VE (PSVE);
- Pressão diastólica final do VE (PDFVE);
- Índice de função sistólica do VE (dP/dt max);
- Índice de função diastólica do VE (dP/dt min);
- Pressão de perfusão coronariana (PPC).*

A determinação da PPC se deu pelo cálculo da diferença entre a pressão arterial diastólica e a pressão diastólica final do VE, isto é: $PPC = PAD - PDF$ (Tucci et al., 1980).

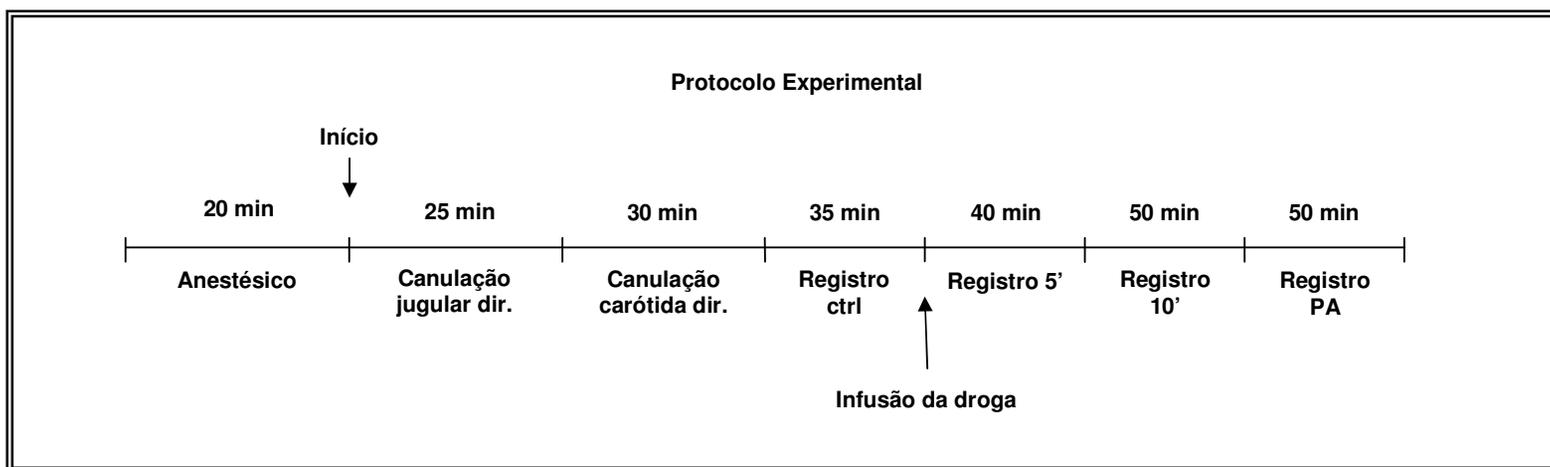


Fig. 4. Esquematização do protocolo experimental de avaliação da função ventricular e da hemodinâmica.

4.4. Análise estatística

Todos os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Para comparação de médias utilizaram-se Análise de Variância para Medidas Repetidas (ANOVA), Método Student-Newman-Keuls e Test t Não Pareado. O nível de significância considerado foi de 5% ($P < 0.05$).

5. RESULTADOS

5.1. Estudo de contratilidade miocárdica

O estudo de curva dose-resposta, em preparações de músculo papilar isolado sob tensão isométrica, demonstrou que o efeito da CATUAMA sobre a tensão desenvolvida (TD) foi estatisticamente significativa, redução de 9%, na dose de 800 µg/mL (Fig. 5). A ação deste fitoterápico sobre a tensão de relaxamento (TR) foi observada mais precocemente, totalizando uma redução de 16% (Figs. 6 e 7). A velocidade de variação temporal da tensão de relaxamento (dT/dt min), apresentou resposta contrária, isto é, aumento de até 90%, nas últimas doses. A velocidade de variação temporal da tensão desenvolvida (dT/dt max) não sofreu qualquer alteração.

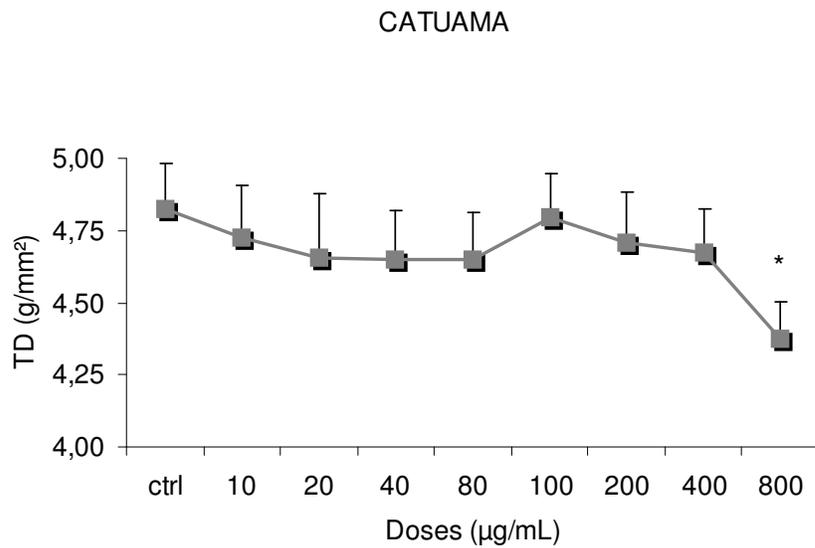


Fig. 5. Efeito da CATUAMA sobre a tensão desenvolvida (TD). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

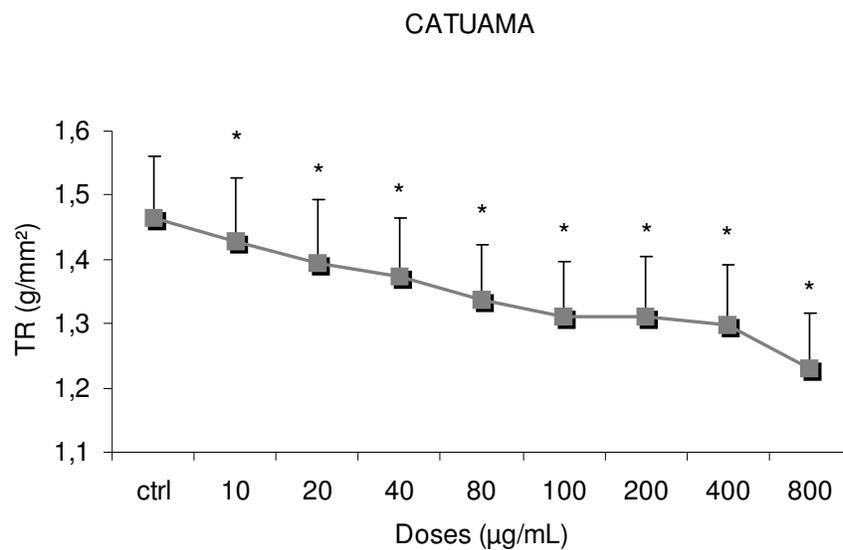


Fig. 6. Efeito da CATUAMA sobre a tensão de relaxamento (TR). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

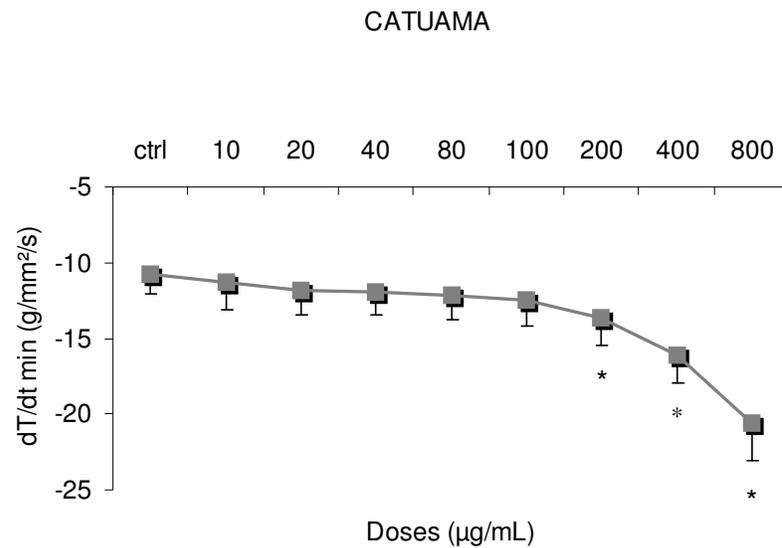


Fig. 7. Efeito da CATUAMA sobre a velocidade de variação temporal da tensão de relaxamento (dT/dt min). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

Os extratos isolados da CATUAMA afetaram o inotropismo e o lusitropismo do músculo cardíaco diferentemente.

T catigua não interferiu na contratilidade miocárdica em qualquer dose.

No grupo *P cupana*, foi possível observar redução de todas as variáveis mecânicas desde as primeiras doses. A TD foi reduzida em 33%, a TR em 30%, a dT/dt max em 45% e a dT/dt min em 43% (Figs. 8-11).

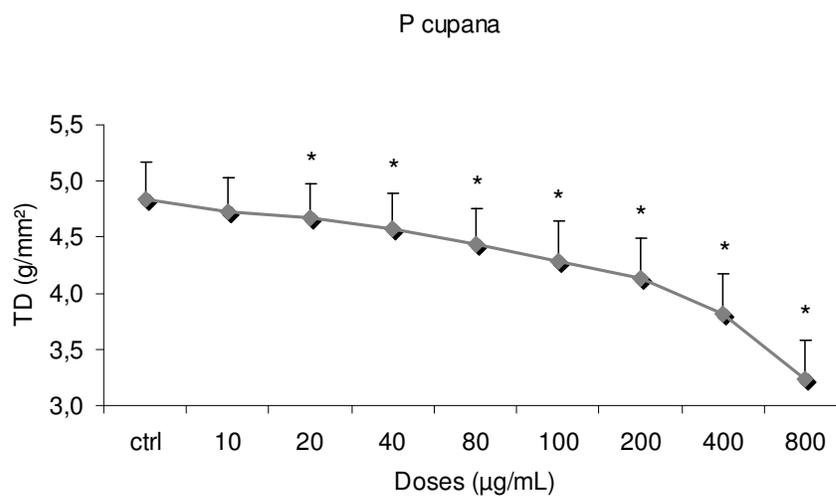


Fig. 8. Efeito do extrato *P cupana* sobre a tensão desenvolvida (TD). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

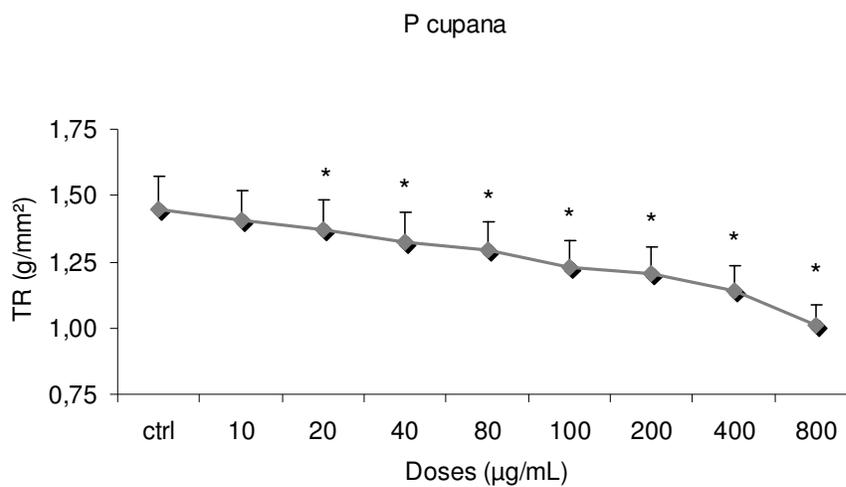


Fig. 9. Efeito do extrato *P cupana* sobre a tensão de relaxamento (TR). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

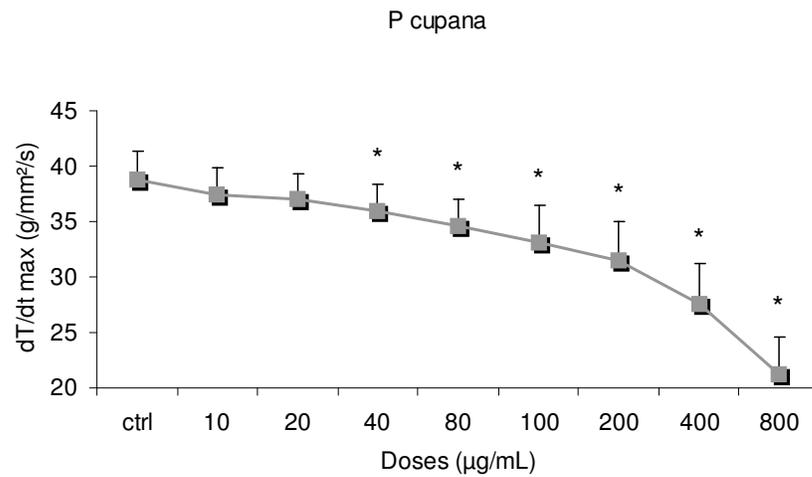


Fig. 10. Efeito do extrato *P cupana* sobre a velocidade de variação temporal da tensão desenvolvida ($dT/dt \text{ max}$). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

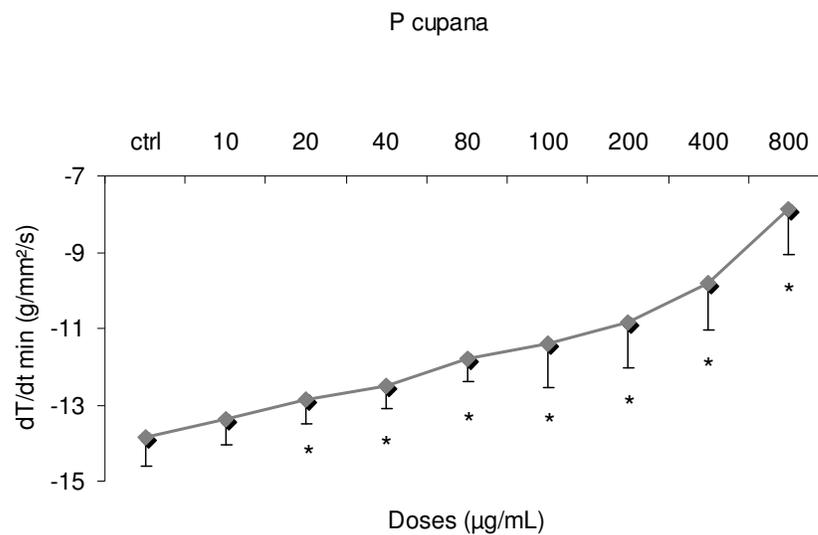


Fig. 11. Efeito do extrato *P cupana* sobre a velocidade de variação temporal da tensão de relaxamento ($dT/dt \text{ min}$). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

O grupo *P olacoide*, assim como *P cupana*, também demonstrou efeito de redução a partir das doses iniciais. A solução deste extrato reduziu a TD em 11% e a TR em 16% na dose máxima (Figs. 12 e 13), não afetando suas velocidades.

Similarmente a *P olacoide*, *Z officinale* reduziu em 8% a TD e em 11% a TR, sem afetar os outros parâmetros (Figs. 14 e 15).

A solução de Tween 80 a 10% em água destilada afetou, já a partir da primeira dose (10 µg/mL), a TD e a TR, atingindo uma redução total de 17 e 20%, respectivamente. Esta solução também reduziu a dT/dt max em 12% nas doses mais altas e não atuou sobre a dT/dt min (Figs. 16-18).

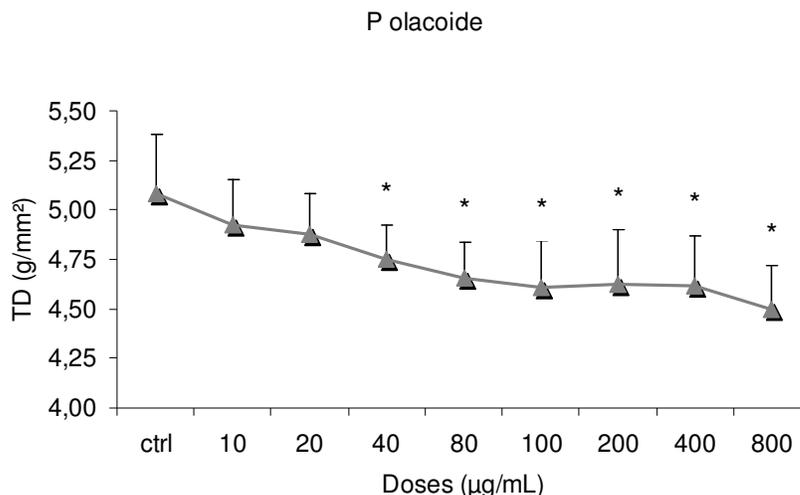


Fig. 12. Efeito do extrato *P olacoide* sobre a tensão desenvolvida (TD). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

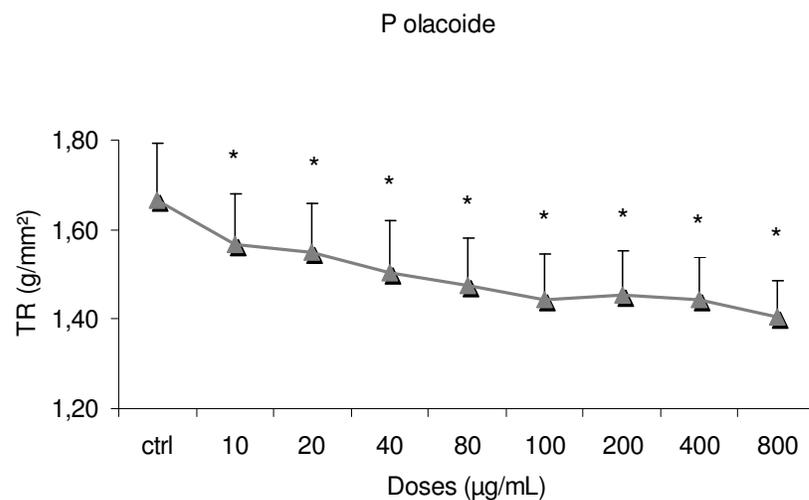


Fig. 13. Efeito do extrato *P olacoide* sobre a tensão de relaxamento (TR). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

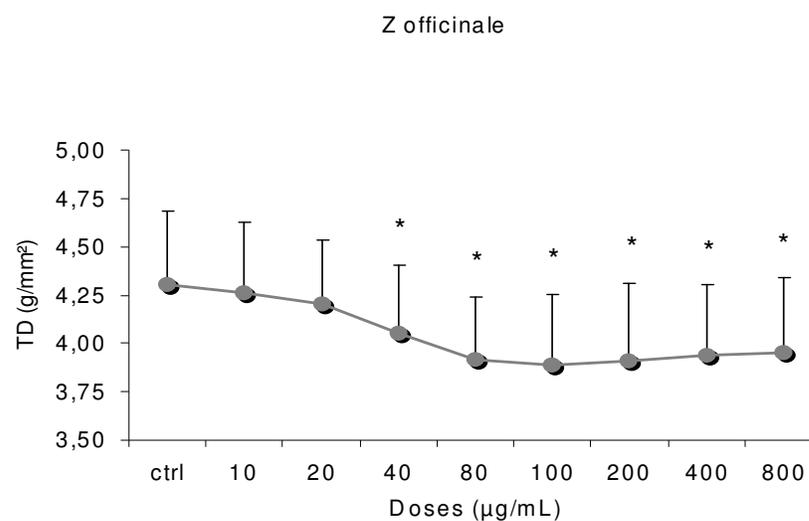


Fig. 14. Efeito do extrato *Z officinale* sobre a tensão desenvolvida (TD). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

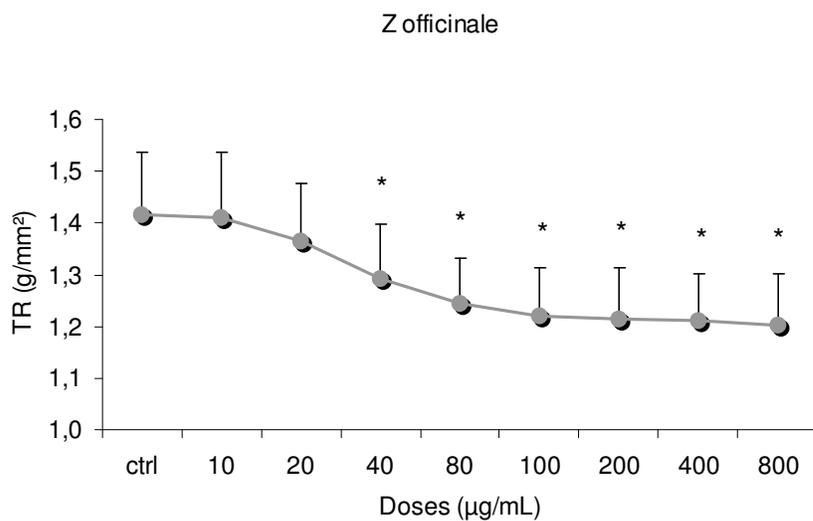


Fig. 15. Efeito do extrato *Z officinale* sobre a tensão de relaxamento (TR). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

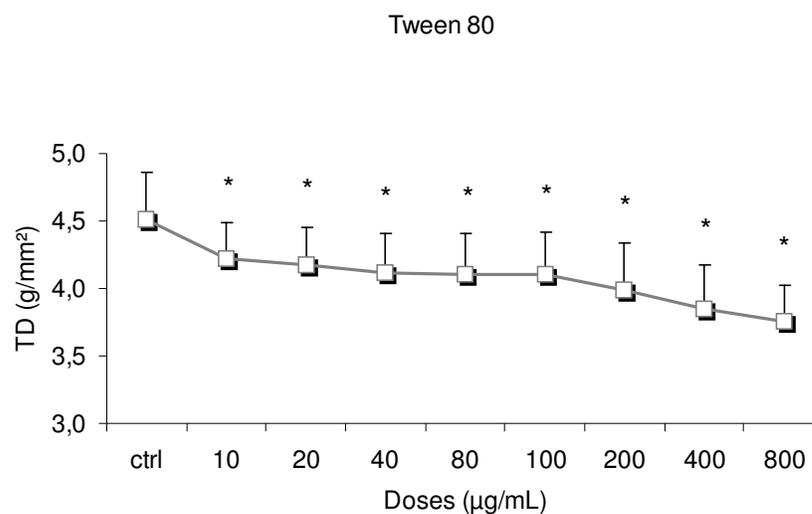


Fig. 16. Efeito do veículo Tween 80 sobre a tensão desenvolvida (TD). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

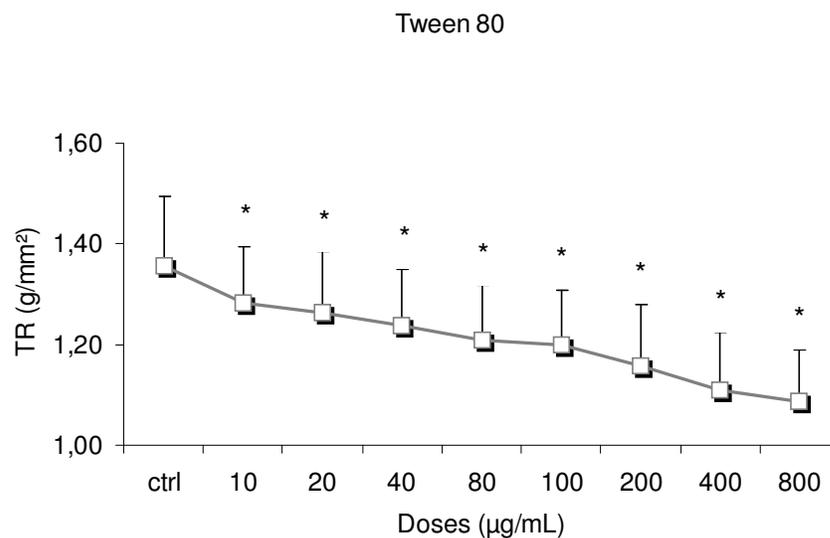


Fig. 17. Efeito do veículo Tween 80 sobre a tensão de relaxamento (TR). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

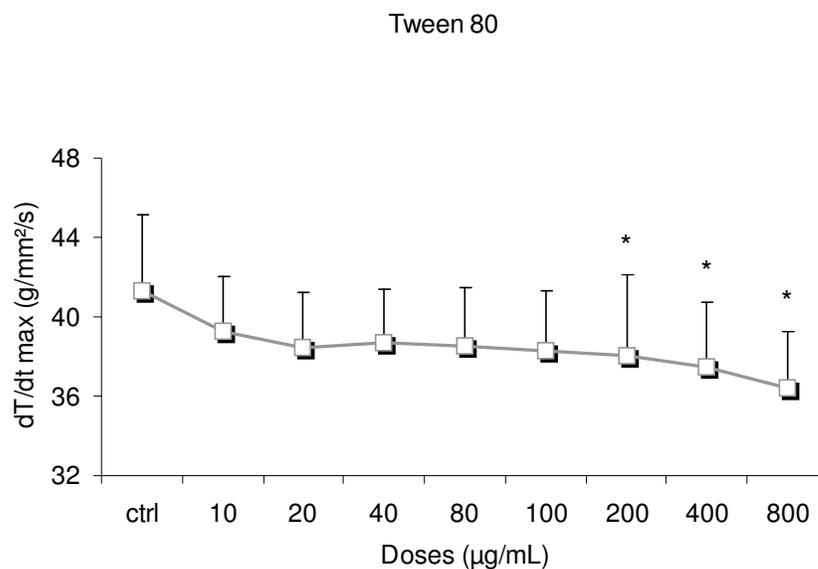


Fig. 18. Efeito do veículo Tween 80 sobre a velocidade de variação temporal da tensão desenvolvida (dT/dt max). Os valores representam a média \pm EPM de $n = 6$ experimentos. *, $P < 0,05$ vs. controle.

As tabelas 1 a 4 contém os valores de cada dose e os níveis de significância estatística (valores de P).

Não foram observadas diferenças entre comprimento, peso e área seccional dos músculos papilares utilizados.

Tabela 1 - Tensão Desenvolvida: TD (g/mm²)

Grupos (n = 6, cada)	Doses (µg/mL)									P
	controle	10	20	40	80	100	200	400	800	
CATUAMA	4,8 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,2	4,8 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,7 ± 0,2	4,4 ± 0,1*	<0,001
<i>T catigua</i>	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,7 ± 0,3	0,555
<i>P cupana</i>	4,8 ± 0,3	4,7 ± 0,3	4,7 ± 0,3*	4,6 ± 0,3*	4,4 ± 0,3*	4,3 ± 0,4*	4,1 ± 0,4*	3,8 ± 0,4*	3,2 ± 0,3*	<0,05
<i>P olacoide</i>	5,1 ± 0,3	4,9 ± 0,2	4,9 ± 0,2	4,8 ± 0,2*	4,7 ± 0,2*	4,6 ± 0,2*	4,6 ± 0,3*	4,6 ± 0,2*	4,5 ± 0,2*	<0,05
<i>Z officinale</i>	4,3 ± 0,4	4,3 ± 0,4	4,2 ± 0,3	4,1 ± 0,4*	3,9 ± 0,3*	3,9 ± 0,4*	3,9 ± 0,4*	3,9 ± 0,4*	4,0 ± 0,4*	<0,01
Tween 80	4,5 ± 0,4	4,2 ± 0,3*	4,2 ± 0,3*	4,1 ± 0,3*	4,1 ± 0,3*	4,1 ± 0,3*	4,0 ± 0,4*	3,8 ± 0,3*	3,8 ± 0,3*	<0,05

* P<0,05 vs. controle.

Tabela 2 - Tensão de Relaxamento: TR (g/mm²)

Grupos (n = 6, cada)	Doses (µg/mL)									P
	controle	10	20	40	80	100	200	400	800	
CATUAMA	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1*	1,4 ± 0,1*	1,4 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	<0,05
<i>T catigua</i>	1,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	0,130
<i>P cupana</i>	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,1 ± 0,1*	1,0 ± 0,1*	<0,01
<i>P olacoide</i>	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,1*	1,5 ± 0,1*	1,5 ± 0,1*	1,5 ± 0,1*	1,4 ± 0,1*	1,5 ± 0,1*	1,4 ± 0,1*	1,4 ± 0,1*	<0,01
<i>Z officinale</i>	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	<0,01
Tween 80	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,1*	1,3 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,2 ± 0,1*	1,1 ± 0,1*	1,1 ± 0,1*	<0,05

* P < 0,05 vs. controle.

Tabela 3 - Velocidade de Variação Temporal da Tensão Desenvolvida: dT/dt max (g/mm²/s)

Grupos (n = 6, cada)	Doses (µg/mL)									P
	controle	10	20	40	80	100	200	400	800	
CATUAMA	41,4 ± 2,2	40,8 ± 2,3	41,2 ± 2,3	41,5 ± 1,7	42,0 ± 1,5	42,2 ± 1,4	43,9 ± 1,6	45,1 ± 1,7	44,6 ± 2,1	0,101
<i>T catigua</i>	38,3 ± 2,5	40,2 ± 2,0	41,9 ± 3,4	41,6 ± 2,8	42,3 ± 2,4	42,6 ± 2,3	43,1 ± 2,2	44,0 ± 2,5	47,4 ± 3,1	0,129
<i>P cupana</i>	38,8 ± 2,7	37,4 ± 2,4	37,0 ± 2,4	36,0 ± 2,4*	34,6 ± 2,4*	33,1 ± 3,4*	31,5 ± 3,5*	27,6 ± 3,7*	21,3 ± 3,4*	<0,01
<i>P olacoide</i>	42,0 ± 3,0	41,6 ± 3,1	40,9 ± 3,1	39,9 ± 2,7	39,6 ± 2,6	40,7 ± 3,3	40,4 ± 3,7	41,8 ± 3,7	41,4 ± 3,8	0,067
<i>Z officinale</i>	36,2 ± 3,7	35,7 ± 3,5	35,6 ± 3,3	35,8 ± 3,0	36,1 ± 3,3	35,9 ± 3,9	37,1 ± 3,9	37,2 ± 3,8	38,0 ± 4,1	0,609
Tween 80	41,3 ± 3,8	39,2 ± 2,8	38,5 ± 2,8	38,7 ± 2,7	38,6 ± 2,9	38,2 ± 3,1	38,1 ± 4,1*	37,4 ± 3,3*	36,4 ± 2,8*	<0,05

* P<0,05 vs. controle.

Tabela 4 - Velocidade de Variação Temporal da Tensão de Relaxamento: dT/dt min (g/mm²/s)

Grupos (n = 6, cada)	Doses (µg/mL)									P
	controle	10	20	40	80	100	200	400	800	
CATUAMA	-10,8 ± 1,3	-11,4 ± 1,8	-11,8 ± 1,6	-11,9 ± 1,5	-12,2 ± 1,6	-12,5 ± 1,6	-13,7 ± 1,8*	-16,1 ± 1,8*	-20,6 ± 2,5*	<0,05
<i>T catigua</i>	-12,6 ± 0,7	-13,8 ± 0,7	-15,2 ± 0,8	-15,3 ± 0,7	-15,8 ± 0,6	-16,1 ± 0,7	-16,3 ± 0,8	-17,1 ± 1,3	-19,2 ± 2,1	0,071
<i>P cupana</i>	-13,9 ± 0,7	-13,4 ± 0,7	-12,9 ± 0,6*	-12,5 ± 0,6*	-11,8 ± 0,6*	-11,4 ± 1,1*	-10,8 ± 1,2*	-9,8 ± 1,2*	-7,9 ± 1,2*	<0,05
<i>P olacoide</i>	-14,5 ± 1,1	-14,7 ± 1,0	-14,8 ± 1,1	-14,5 ± 1,1	-14,4 ± 1,0	-13,7 ± 1,8	-13,5 ± 1,7	-14,2 ± 1,7	-14,6 ± 1,9	0,985
<i>Z officinale</i>	-11,6 ± 0,8	-11,6 ± 0,8	-11,5 ± 0,7	-12,4 ± 1,0	-13,3 ± 1,0	-12,8 ± 1,0	-13,5 ± 0,9	-13,2 ± 0,9	-13,8 ± 0,7	0,085
Tween 80	-16,7 ± 1,6	-16,3 ± 1,3	-15,8 ± 1,2	-15,9 ± 1,4	-16,0 ± 1,4	-15,5 ± 1,2	-15,9 ± 1,0	-16,4 ± 1,1	-16,1 ± 1,2	0,612

* P<0,05 vs. controle.

5.2. Estudo de função ventricular e avaliação hemodinâmica

De acordo com as observações durante os experimentos *in vivo*, a dose de 200 µg/mL de solução de CATUAMA melhorou em até 16% as pressões sistêmicas e a pressão de perfusão coronariana (PPC) dos animais avaliados (Fig. 19). Os demais parâmetros de função ventricular e frequência cardíaca (FC) não foram afetados por este fitoterápico.

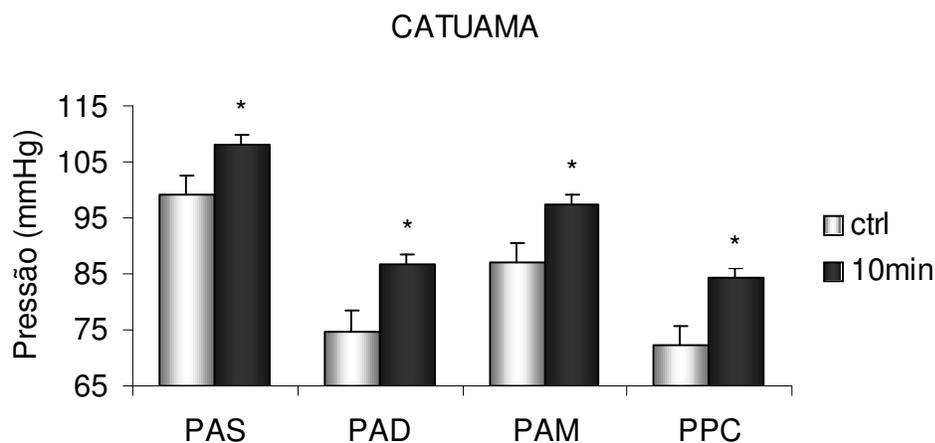


Fig. 19. Ação da solução de CATUAMA sobre a hemodinâmica. PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média; PPC: pressão de perfusão coronariana. *, $P < 0,05$ vs. controle.

Os extratos isolados da CATUAMA, assim como nos experimentos *in vitro*, apresentaram efeitos diferentes do composto.

T catigua, confirmando os resultados demonstrados nas preparações de músculo papilar isolado, não interferiu na função ventricular e na hemodinâmica.

A infusão de solução de *P cupana* também incrementou em até 20% as pressões sistêmicas e PPC, semelhantemente à solução de CATUAMA (Fig. 20). Este extrato, contudo, interferiu no relaxamento ventricular, reduzindo em 55% a pressão diastólica final do VE (Fig. 21).

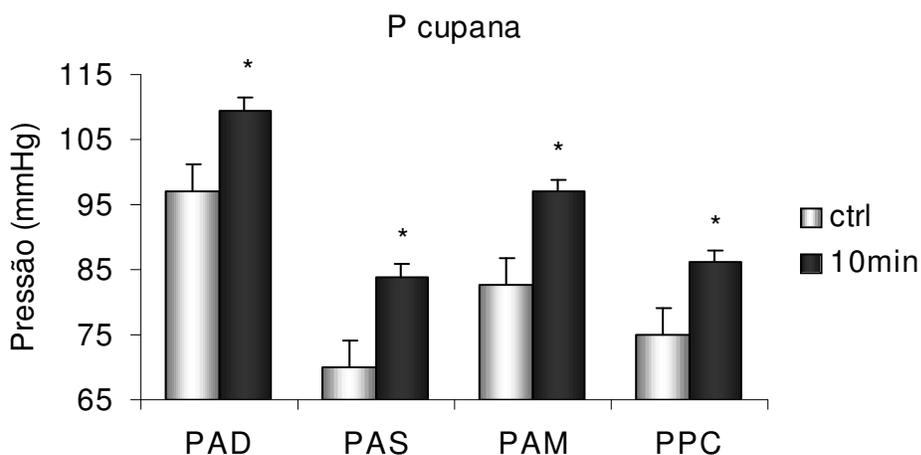


Fig. 20. Ação do extrato de *P cupana* sobre a hemodinâmica. PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média; PPC: pressão de perfusão coronariana. *, $P < 0,05$ vs. controle.

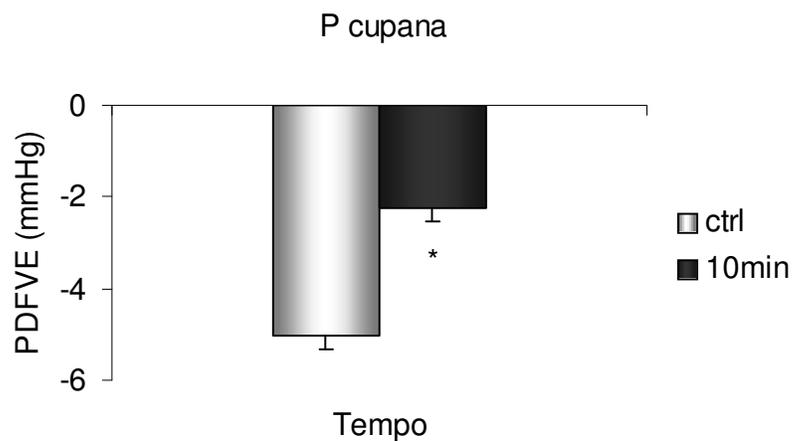


Fig. 21. Efeito do extrato *P cupana* sobre a pressão diastólica final do VE (PDFVE). *, $P < 0,05$ vs. controle.

A solução de *P olacoide* interferiu somente no relaxamento ventricular, reduzindo a PDFVE em 75% após 10 minutos de infusão (Fig. 22).

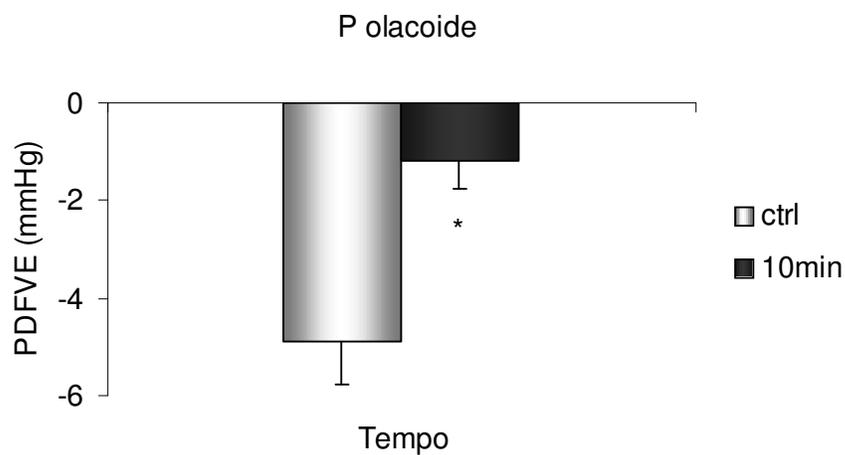


Fig. 22. Efeito do extrato *P olacoide* sobre a pressão diastólica final do VE (PDFVE). *, $P < 0,05$ vs. controle.

As soluções de *Z officinale*, Tween 80 e Lidocaína não afetaram os parâmetros hemodinâmicos e a função ventricular.

No grupo Sham foram observados efeitos opostos à CATUAMA sobre as pressões sistêmicas e PPC. Neste caso, houve uma redução de até 26% destas variáveis (Fig. 23). Foram notadas, também, reduções de 22% no índice de função diastólica do VE (dP/dt min) e de 109% na PDFVE (Figs. 24 e 25).

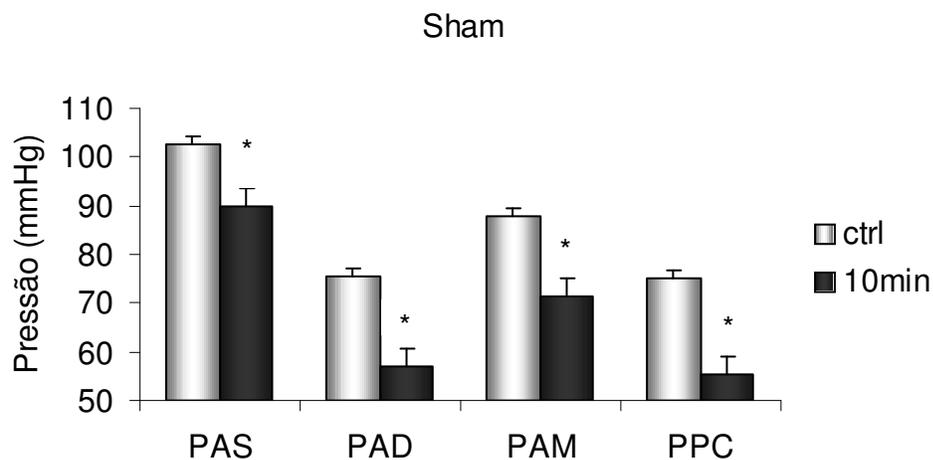


Fig. 23. Efeitos do grupo Sham sobre a hemodinâmica. PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média; PPC: pressão de perfusão coronariana. *, $P < 0,05$ vs. controle.

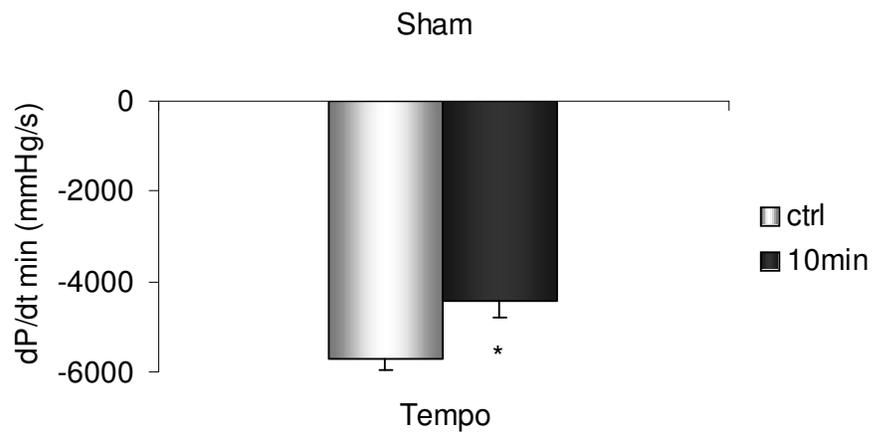


Fig. 24. Efeito do grupo Sham sobre o índice de função diastólica do VE (dP/dt min). *, $P < 0,05$ vs. controle.

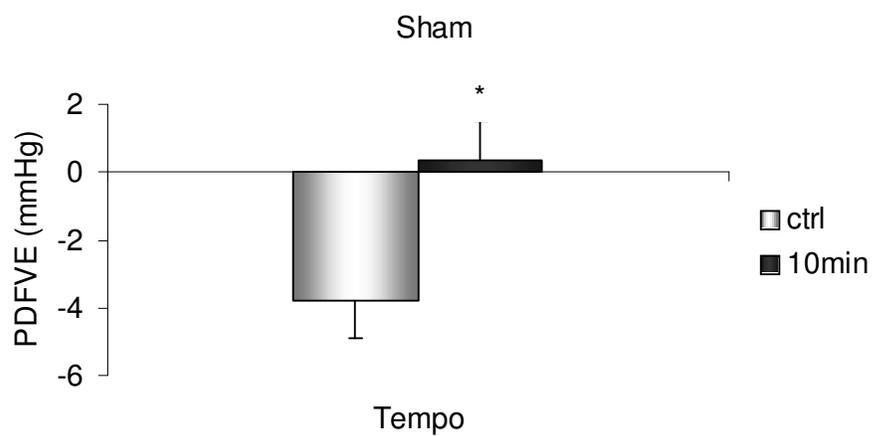


Fig. 25. Efeito do grupo Sham sobre a pressão diastólica final do VE (PDFVE). *, $P < 0,05$ vs. controle.

O detalhamento dos valores controle e após 10 minutos de infusão de cada solução, bem como, a variação percentual e os valores de P estão demonstrados nas Tabelas 5 a 13.

Tabela 5 - Índice de função sistólica do VE - dP/dt_{max}

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			P
	Controle	10min	$\Delta\%$	
CATUAMA	4584 ± 278	4540 ± 355	-0,9	0.9249
<i>T catigua</i>	5379 ± 382	5298 ± 477	-1,5	0.8976
<i>P cupana</i>	4552 ± 128	4500 ± 197	-1,1	0.8306
<i>P olacoide</i>	4825 ± 369	4770 ± 504	-1,1	0.9318
<i>Z officinale</i>	4430 ± 411	4468 ± 451	0,9	0.9517
Tween 80	5492 ± 643	5677 ± 645	3,4	0.8437
Lidocaina	4560 ± 382	4666 ± 516	2,3	0.8722
Sham	5484 ± 204	5304 ± 397	-3,3	0.6974

Tabela 6 - Índice de função diastólica do VE - dP/dt_{min}

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			P
	Controle	10min	$\Delta\%$	
CATUAMA	-5116 ± 406	- 5515 ± 575	7,8	0.5829
<i>T catigua</i>	- 4984 ± 320	- 4929 ± 439	-1,1	0.9199
<i>P cupana</i>	- 4484 ± 323	- 4553 ± 221	1,5	0.8628
<i>P olacoide</i>	- 4606 ± 626	- 4312 ± 486	-6,4	0.9318
<i>Z officinale</i>	- 2979 ± 222	- 3085 ± 301	3,5	0.7831
Tween 80	- 4381 ± 234	- 4681 ± 254	6,9	0.4056
Lidocaina	- 4163 ± 399	- 4365 ± 561	4,8	0.7759
Sham	- 5724 ± 230	- 4419 ± 381*	-22,8	0.0149

* $P < 0,05$ vs. controle.

Tabela 7 - Pressão sistólica do VE - PSVE

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			
	Controle	10min	$\Delta\%$	<i>P</i>
CATUAMA	97 ± 1	100 ± 2	3,7	0.1348
<i>T catigua</i>	106 ± 3	104 ± 2	-1,5	0.7207
<i>P cupana</i>	101 ± 3	108 ± 2	6,4	0.1057
<i>P olacoide</i>	97 ± 4	100 ± 4	3,0	0.6187
<i>Z officinale</i>	96 ± 1	94 ± 4	-2,2	0.5794
Tween 80	98 ± 3	100 ± 2	1,6	0.6605
Lidocaina	102 ± 6	103 ± 6	1,0	0.9095
Sham	102 ± 3	95 ± 4	-7,1	0.1781

Tabela 8 - Pressão diastólica final do VE - PDFVE

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			
	Controle	10min	$\Delta\%$	<i>P</i>
CATUAMA	2,53 ± 0,74	2,70 ± 0,69	6,4	0.8764
<i>T catigua</i>	-4,28 ± 0,84	-4,41 ± 0,40	3,3	0.8776
<i>P cupana</i>	-5,04 ± 0,29	-2,25 ± 0,27*	-55,2	<0.0001
<i>P olacoide</i>	-4,88 ± 0,89	1,20 ± 0,55*	-75,0	0.0056
<i>Z officinale</i>	3,76 ± 0,71	3,56 ± 0,67	-5,1	0.8481
Tween 80	2,94 ± 0,41	3,12 ± 0,68	-6,3	0.8342
Lidocaina	5,08 ± 1,48	5,36 ± 1,00	5,5	0.8783
Sham	-3,79 ± 1,10	0,35 ± 1,13*	-109,3	0.0308

* $P < 0,05$ vs. controle.

Tabela 9 - Frequência cardíaca - FC

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			
	Controle	10min	$\Delta\%$	<i>P</i>
CATUAMA	387 ± 13	406 ± 18	4,7	0.4247
<i>T catigua</i>	387 ± 22	387 ± 23	-0,1	0.9929
<i>P cupana</i>	400 ± 07	419 ± 14	4,8	0.2538
<i>P olacoide</i>	381 ± 22	383 ± 18	0,8	0.9190
<i>Z officinale</i>	356 ± 11	348 ± 18	-2,4	0.6920
Tween 80	370 ± 16	381 ± 11	2,8	0.5943
Lidocaina	366 ± 21	367 ± 22	0,4	0.9651
Sham	391 ± 07	375 ± 10	-4,1	0.2273

Tabela 10 - Pressão arterial sistólica - PAS

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			
	Controle	10min	$\Delta\%$	<i>P</i>
CATUAMA	99 ± 3	108 ± 2*	9,2	0.0407
<i>T catigua</i>	106 ± 4	102 ± 5	-3,0	0.7472
<i>P cupana</i>	97 ± 4	109 ± 2*	12,7	0.0225
<i>P olacoide</i>	95 ± 2	96 ± 4	1,4	0.7978
<i>Z officinale</i>	96 ± 3	93 ± 4	-2,8	0.5974
Tween 80	97 ± 3	97 ± 4	-0,6	0.9166
Lidocaina	103 ± 5	99 ± 6	-3,3	0.6618
Sham	103 ± 2	90 ± 4*	-12,5	0.0083

* $P < 0,05$ vs. controle.

Tabela 11 - Pressão arterial diastólica - PAD

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			
	Controle	10min	$\Delta\%$	<i>P</i>
CATUAMA	75 \pm 3	87 \pm 1*	16,1	0.0024
<i>T catigua</i>	76 \pm 6	72 \pm 4	-4,3	0.7032
<i>P cupana</i>	70 \pm 4	84 \pm 2*	19,8	0.0109
<i>P olacoide</i>	67 \pm 5	64 \pm 5	-5,0	0.6232
<i>Z officinale</i>	70 \pm 4	65 \pm 5	-6,7	0.4712
Tween 80	72 \pm 4	69 \pm 6	-4,1	0.6948
Lidocaina	74 \pm 7	66 \pm 7	-10,0	0.4864
Sham	75 \pm 4	57 \pm 5*	-24,5	0.0143

* *P* < 0,05 vs. controle.

Tabela 12 - Pressão arterial média - PAM

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			
	Controle	10min	$\Delta\%$	<i>P</i>
CATUAMA	87 \pm 3	98 \pm 1*	12,2	0.0117
<i>T catigua</i>	90 \pm 5	87 \pm 5	-3,3	0.7386
<i>P cupana</i>	83 \pm 5	97 \pm 2*	17,2	0.0161
<i>P olacoide</i>	80 \pm 4	78 \pm 5	-2,0	0.8037
<i>Z officinale</i>	81 \pm 4	77 \pm 4	-5,4	0.4656
Tween 80	84 \pm 4	81 \pm 5	-2,7	0.7437
Lidocaina	86 \pm 7	81 \pm 7	-6,6	0.5745
Sham	88 \pm 3	71 \pm 5*	-18,8	0.0174

* *P* < 0,05 vs. controle.

Tabela 13 - Pressão de perfusão coronariana - PPC

Grupos (n = 6, cada)	Tempo			
	Controle	10min	$\Delta\%$	<i>P</i>
CATUAMA	72 \pm 3	84 \pm 1*	16,5	0.0046
<i>T catigua</i>	79 \pm 6	77 \pm 4	-3,0	0.7429
<i>P cupana</i>	75 \pm 3	86 \pm 2*	14,8	0.0117
<i>P olacoide</i>	72 \pm 4	65 \pm 5	-9,8	0.3060
<i>Z officinale</i>	69 \pm 4	64 \pm 4	-6,9	0.4266
Tween 80	74 \pm 4	66 \pm 6	-3,8	0.7287
Lidocaina	68 \pm 6	61 \pm 7	-11,1	0.4244
Sham	75 \pm 5	56 \pm 5*	-25,9	0.0139

* $P < 0,05$ vs. controle.

6. DISCUSSÃO

Está bem estabelecido que a fibrilação ventricular é uma das principais causas de morte súbita no Ocidente. Até o momento, as drogas antiarrítmicas disponíveis e amplamente utilizadas não demonstram eficácia na prevenção de morte súbita.

Nosso grupo, investigando as ações terapêuticas do fitoterápico CATUAMA sobre a fisiologia cardíaca, demonstrou, em estudo previamente publicado, a capacidade desta solução fitoterápica e de seu extrato isolado *T catigua* de reverterem e prevenirem a fibrilação ventricular, combinando efeitos antitaquicárdicos e antifibrilatórios (Pontieri et al., 2007). Este achado cria a possibilidade de desenvolvimento de uma nova droga, de baixo custo, capaz de reverter e de prevenir a fibrilação ventricular.

A fibrilação ventricular, quando associada a um quadro de função cardíaca deprimida, apresenta maior gravidade e incidência de óbito. Por este motivo, tornou-se imprescindível a investigação dos efeitos da CATUAMA e de cada extrato que a compõe sobre a função mecânica do miocárdio, isoladamente *in vitro*, e a função ventricular, além dos parâmetros hemodinâmicos, *in vivo*.

No presente estudo de contratilidade miocárdica, a ação oposta da CATUAMA sobre o inotropismo e o lusitropismo da fibra muscular se deu,

provavelmente, pela relação inversa de força-velocidade observada na função mecânica do músculo cardíaco (Sonnenblick, 1962). O efeito contrário da CATUAMA sobre as variáveis de força contrátil (TD e TR) e a variável de velocidade (dT/dt min) também podem ser explicado, simplesmente, por algum grau de toxicidade, já que esta ação foi evidenciada na dose mais alta (800 $\mu\text{g/mL}$). Este dado pode ser confirmado através de observações feitas durante o estudo de cardiotoxicidade da CATUAMA e do veículo Tween 80, realizado previamente em nosso laboratório. Em preparações de Langendorff com corações isolados de ratos, foram notados efeitos tóxicos de redução da atividade elétrica ventricular esquerda, a partir da dose 400 $\mu\text{g/mL}$. Tais efeitos foram revertidos após alguns minutos de lavagem, isto é, perfusão com solução de Krebs Henseleit.

O efeito observado durante a adição da solução de *P cupana* nas preparações de músculo papilar isolado pode ser atribuído à cafeína. O extrato *P cupana* contém ao menos 10% de cafeína em sua composição. Trata-se de um potente bloqueador de canais rianodínicos do retículo sarcoplasmático (RS). Ao competir pelos canais rianodínicos, a cafeína impede ou reduz a liberação do cálcio armazenado no RS, acarretando, conseqüentemente, contrações menos potentes (Marban et al., 1986; O'Neill and Eisner, 1990).

As variáveis de TD e TR foram levemente afetadas pelos extratos *P olacoide* e *Z officinale*. O cálcio desempenha efeito direto sobre a contratilidade miocárdica. Está bem documentado que os íons cálcio livres no interior celular são os agentes que iniciam e sustentam o estado contrátil do músculo cardíaco. Em concentrações controladas de cálcio extracelular (Caroni and Carafoli, 1981; Fleckenstein, 1983; Hryshko and Bers, 1990). A redução da TD e da TR sugere alguma interferência na permeabilidade do cálcio através da membrana celular ou na captação e liberação de cálcio pelo RS.

É importante enfatizar que o cálcio (complexo cálcio/calmodulina) desempenha papel significativo na liberação do óxido nítrico (ON). (Forstermann et al., 1994). ON é uma substância que promove vasodilatação. Baixas concentrações de cálcio intracelular podem levar a uma redução na síntese de ON e, conseqüentemente, à vasoconstrição. No estudo *in vivo*, o incremento das pressões arterial sistêmica e de perfusão coronariana causado pela infusão de CATUAMA sugere alguma atuação sobre os canais de cálcio. Este resultado também pode ter ocorrido devido ao extrato *P cupana*, que apresentou efeito semelhante sobre as variáveis hemodinâmicas. A ação de *P cupana* sobre os parâmetros hemodinâmicos *in vivo* não está descrita na literatura. Esses achados são, entretanto, diferentes do estudo publicado por Calixto e Cabrini (1997) onde foram demonstrados efeitos relaxantes, isto é, vasodilatadores da CATUAMA e seus extratos em vasos isolados.

Ainda sobre a avaliação hemodinâmica, notou-se interessante efeito oposto da infusão de CATUAMA com relação ao grupo Sham. O que não ocorreu com as soluções de *P cupana* e *P olacoide* que não foram capazes de suprimir o efeito de redução do grupo Sham sobre o relaxamento ventricular.

O extrato da planta *T catigua*, tanto nos experimentos *in vitro* quanto nos *in vivo*, não demonstrou qualquer interferência sobre a função cardíaca e a hemodinâmica. Este dado é muito significativo, pois, *T catigua* demonstrou ser o principal extrato da CATUAMA na prevenção e reversão da fibrilação ventricular.

Uma das principais limitações deste estudo foi a insolubilidade em água da CATUAMA e seus extratos. Seus componentes são extremamente lipofílicos e não diluem em soluções fisiológicas salinas, tais como, solução de Krebs. Para solucionar este problema os extratos foram diluídos em uma mistura de Tween 80 a 10% e água destilada. O solvente Tween 80 demonstrou efeito inotrópico e lusitrópico negativo no estudo *in vitro*. Este dado indica que os efeitos observados em cada extrato da CATUAMA sobre músculos papilares isolados não podem ser separados do veículo Tween 80, exceto para *T catigua*. Por outro lado, Tween 80 não apresentou efeitos sobre a função ventricular e os parâmetros hemodinâmicos durante a realização dos experimentos *in vivo*.

7. CONCLUSÕES

A presente investigação indica que, agudamente, CATUAMA, como uma associação de fitoterápicos, interfere na contratilidade miocárdica somente em doses tóxicas *in vitro* e melhora os parâmetros hemodinâmicos *in situ*. Contudo, cada constituinte isolado de CATUAMA afeta estas variáveis diferentemente.

A inobservância de efeitos da *T catigua* sobre a função cardíaca normal e a hemodinâmica representa um importante resultado para o desenvolvimento de uma nova droga para prevenção e reversão da fibrilação ventricular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbot BC, Mommaerts WFHM. A study of inotropic mechanisms in the papillary muscle preparation. **J. Gen. Physiol.** 42: 533-51, 1959.

Antunes E, Gordo WM, de Oliveira JF, Teixeira CE, Hyslop S, De Nucci G. The relaxation of isolated rabbit corpus cavernosum by the herbal medicine CATUAMA and its constituents. **Phytother. Res.** 15: 416-421, 2001.

Cabrini DA, Calixto JB. Herbal CATUAMA induces endothelium-dependent and independent vasorelaxation action on isolated vessels from rats, guinea pigs and rabbits. **Phytother. Res.** 11: 32-38, 1997.

Camargo AFF, Celis ACR, Velasco IT, Pontieri V, Scalabrini-Neto A. A new model of ventricular fibrillation. **J. Electrocardiol.** 38: 226-229, 2004.

Campos MM, Fernandes ES, Ferreira J, Bortolanza LB, Santos ARS, Calixto JB. Pharmacological and neurochemical evidence for antidepressant-like effects of the herbal product CATUAMA. **Pharmacol. Biochem. Beh.** 78: 757-764, 2004.

Caroni P, Carafoli E. The Ca^{2+} -pumping ATPase of heart sarcolemma. **J. Biol. Chem.** 32: 63-70, 1981.

Chapman CB, Wasserman E. On the dynamics of cardiac muscle. **Am. Heart J.** 58: 282-317, 467-78, 1959.

Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K et al. Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. **Am. J. Med. Sci.** 320: 244-8, 2000.

Fleckenstein A. History of calcium antagonists. **Circulation** 52: 1-3, 1983.

Forstermann U, Closs EI, Pollock JS et al. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. **Hypertension** 23: 1121-1131, 1994.

Hryshko LV, Bers DM. Calcium current facilitation during postrest recovery depends on Calcium entry. **Am. J. Physiol.** 259: H951-61, 1990.

Kentish JC. The effects of inorganic phosphate and creatine phosphate on force production in skinned muscles from rat ventricle. **J. Physiol.** 370: 585-604, 1986.

Oliveira CH, Moraes MEA, Moraes MO et al. Clinical Toxicology Study of an Herbal Medicinal Extract of *Paullinia cupana*, *Trichilia catigua*, *Ptychopetalum olacoide* and *Zingiber officinale* (CATUAMA) in Healthy Volunteers. **Phytother. Res.** 19: 54–57, 2005.

O'Neill SC, Eisner DA. A mechanism for the effects of caffeine on Ca^{2+} release during diastole and systole in isolated rat ventricular myocytes. **J. Physiol.** 430: 519-36, 1983.

Parmley WW, Chuck L. Length-dependent changes in myocardial contractile state. **Am. J. Physiol.** 224: 1195-99, 1973.

Pontieri V, Scalabrini-Neto A, Camargo AFF et al. The herbal drug CATUAMA reverts and prevents ventricular fibrillation in the isolated rabbit heart. **J. Electrocardiol.** 40: 534e1–e8, 2007.

Quintão NLM, Ferreira J, Beirith A et al. Evaluation of the effects of the herbal product CATUAMA in inflammatory and neuropathic models of nociception in rats. **Phytomedicine.** 15: 245–252, 2008.

Sonnenblick EH. Force-velocity relations in mammalian heart muscle. **Am. J. Physiol.** 202: 931-9, 1962.

Taffet GE. Exercise training improves lusitropy by isoproterenol in papillary muscles from aged rats. **J. Appl. Physiol.** 81: 1488-95, 1996.

Tucci PJF, Spadaro J, Cicogna AC et al. Coronary perfusion pressure as a determinant of ventricular performance. **Experientia,** 36: 974-975, 1980.

Vaz RV, Mata LV, Calixto JB. Analgesic effect of the herbal medicine CATUAMA in thermal and chemical models of nociception in mice. **Phytother. Res.** 11: 101-106, 1997.

Yeatman LA, Parmley WW, Sonnenblick EH. Effects of temperature on series elasticity and contractile element motion in heart muscle. **Am. J. Physiol.** 217: 1030-34, 1969.