



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MEDICINA

VINÍCIUS DE NORONHA BARBOZA

**EFEITOS DO CORANTE NATURAL BETANINA NA CONTRATILIDADE DE
AORTA ISOLADA DE RATOS**

MOSSORÓ

2022

VINÍCIUS DE NORONHA BARBOZA

**EFEITOS DO CORANTE NATURAL BETANINA NA CONTRATILIDADE DA
AORTA ISOLADA DE RATOS**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Medicina.

Orientadora: Profa. Dra. Teresinha Silva de
Brito,

MOSSORÓ

2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

B239e Barboza, Vinícius de Noronha.
Efeitos do corante natural Betanina na
contratilidade de aorta isolada de ratos /
Vinícius de Noronha Barboza. - 2022.
38 f. : il.

Orientadora: Teresinha Silva de Brito.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Medicina, 2022.

1. Betanina. 2. Atividade antioxidante. 3.
Efeito contrátil. 4. Artéria aorta. I. Silva de
Brito, Teresinha, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

VINÍCIUS DE NORONHA BARBOZA

**EFEITOS DO CORANTE NATURAL BETANINA NA CONTRATILIDADE DE
AORTA ISOLADA DE RATOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Medicina.

Defendida em: 21 / 06 / 2022

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **TERESINHA SILVA DE BRITO**
Data: 20/12/2023 16:24:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Teresinha Silva de Brito (UFERSA)
Presidente

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIO SANTOS DA SILVA**
Data: 20/12/2023 22:05:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Flávio Santos da Silva (UFERSA)
Membro Examinador

Documento assinado digitalmente
 **CIBELE DOS SANTOS BORGES**
Data: 21/12/2023 11:01:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Cibele dos Santos Borges (UFERSA)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Dedico estes agradecimentos primeiramente à minha família, principalmente minha mãe, Lindomar Noronha, pelo apoio e suporte em todas as minhas decisões e meu pai, Lindomar Barboza de Moraes.

Agradeço a todos os professores que impactaram positivamente em minha formação e me ensinaram coisas que vão muito além das páginas de livro, como o profissionalismo e empatia necessários para exercer a profissão médica.

Agradeço, em especial, à minha orientadora Profa. Dra. Teresinha Silva de Brito por me abrir as portas da ciência e me permitir realizar o sonho de fazer parte do mundo encantador que é a pesquisa científica.

Ao Prof. Dr. Pedro Jorge Caldas Magalhães, coordenador do Laboratório de Farmacologia do Músculo Liso da Universidade Federal do Ceará, e às Pós-graduandas Kalinne Gadellha e Karine Lima pela colaboração e suporte para realização deste trabalho.

À Profa. Patrícia Lígia Dantas de Moraes, coordenadora do Laboratório de Fisiologia Pós-colheita da UFERSA e aos Pós-graduandos Eleneide Gurgel e Marlenildo Ferreira pela colaboração na idealização e realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Cibeles dos Santos Borges e Prof. Flávio Santos da Silva.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido pelo apoio financeiro através do Programa de Iniciação Científica Institucional (PICI).

A todos que colaboraram com a realização deste trabalho.

RESUMO

As principais doenças cardiovasculares possuem o estresse oxidativo como mecanismo subjacente em comum, sendo um dos responsáveis por causar disfunção endotelial, caracterizada por desbalanço na produção de fatores vasoconstritores e vasodilatadores. Nesse contexto, agentes antioxidantes são importantes alvos de estudo, tais como a betanina, um corante natural presente em espécies vegetais que possui conhecida atividade antioxidante. Assim, o presente estudo objetivou investigar os efeitos da betanina em artéria aorta isolada de ratos. Anéis de artéria aorta foram obtidos após eutanásia de ratos wistar e foram mantidos em solução de Krebs. Contrações foram registradas através de sistema de aquisição de dados. A betanina (1 – 3000 μ M) induziu vasoconstrição em anéis aórticos mantidos sob tônus basal ($p < 0,05$) com $E_{\max}$ de $100,30\% \pm 5,00\%$ em relação a contração de referência induzida por K^+ , enquanto que em anéis pré-contraídos com fenilefrina (1 μ M) induziu apenas leve contração ($p < 0,05$). Tal efeito contrátil foi inibido por prazosin ($p < 0,05$), bloqueador alfa1-adrenérgico, mas não sofreu alteração por ioimbina ($p > 0,05$) ou guanetidina ($p > 0,05$), bloqueadores alfa2-adrenérgico e de neurônios adrenérgicos, respectivamente. Ao mesmo tempo, a ciproheptadina e o verapamil, bloqueadores serotoninérgico e de canais de cálcio dependentes de voltagem, respectivamente, inibiram parcialmente a vasoconstrição induzida por betanina. Em meio desprovido de cálcio, o efeito contrátil foi completamente inibido, ao passo que, em anéis desprovidos de endotélio, foi exacerbado ($p < 0,05$). A betanina também foi capaz de melhorar a resposta relaxante induzida por acetilcolina ($p < 0,05$) na presença de baicalina, agente inibidor da via vasodilatadora NO/GMPc/PKG. Portanto, a betanina possui ação vasoconstritora em aorta isolada de rato, efeito potencializado pela ausência de endotélio e dependente do influxo de cálcio extracelular, provavelmente mediado por ativação de receptores alfa1-adrenérgicos, serotoninérgicos e canais de cálcio dependentes de voltagem. Além disso, melhorou a atividade vasorelaxante diante de prejuízo da via NO/GMPc/PKG, sugerindo provável ação moduladora da função endotelial.

Palavras-chave: Betanina. Atividade antioxidante. Efeito contrátil. Artéria aorta.

ABSTRACT

The main cardiovascular diseases have oxidative stress as an underlying mechanism in common, being one of the responsible for causing endothelial dysfunction, characterized by an imbalance in the production of vasoconstrictor and vasodilator factors. In this context, antioxidant agents are important to study targets, such as betanin, a natural dye present in plant species that has known antioxidant activity. Thus, the present study aimed to investigate the effects of betanin in isolated rat aorta. Aortic artery rings were obtained after euthanasia of Wistar rats and were kept in Krebs solution. A data acquisition system recorded the contractions. Betanin (1 – 3000 μ M) induced vasoconstriction in aortic rings maintained under basal tone ($p < 0.05$) with an E_{max} of $100.30\% \pm 5.00\%$ in relation to the reference contraction induced by K^+ , while in rings precontracted with phenylephrine (1 μ M) induced only slight contraction ($p < 0.05$). Such contractile effect was inhibited by prazosin ($p < 0.05$), α_1 -adrenergic blocker, but not altered by yohimbine ($p > 0.05$) or guanethidine ($p > 0.05$), α_2 -adrenergic and neuron blockers adrenergic, respectively. At the same time, cyproheptadine and verapamil, serotonergic and voltage-gated calcium channel blockers, respectively, partially inhibited betanin-induced vasoconstriction. In extracellular medium lacking calcium, the contractile effect was completely inhibited, whereas in rings without endothelium, it was exacerbated ($p < 0.05$). Betanin was also able to improve the relaxing response induced by acetylcholine ($p < 0.05$) in the presence of baicalin, an inhibitor of the vasodilator NO/cGMP/PKG pathway. Therefore, betanin has a vasoconstrictor action in isolated rat aorta, an effect potentiated by the absence of endothelium and dependent on the influx of extracellular calcium, probably mediated by activation of α_1 -adrenergic, serotonergic and voltage-gated calcium channels. In addition, it also improved vasorelaxant activity in the face of impairment of the NO/cGMP/PKG pathway, suggesting a probable modulating action of endothelial function.

Keywords: Betanin. Antioxidant activity. Contractile effect. Aorta artery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Estrutura da betanina	20
Figura 2	–	Representação esquemática do sistema de banho de órgão isolados.....	24
Figura 3		Representação esquemática do protocolo de contratilidade	25
Figura 4	–	Efeito contrátil da betanina em aorta isolada de rato.....	27
Figura 5	–	Efeito contrátil da betanina em meio sem cálcio extracelular e artérias desprovidas de endotélio.....	28
Figura 6	–	Efeitos da betanina na presença de antagonistas farmacológicos	29
Figura 7	–	Melhora da função endotelial induzida por betanina.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
ciclo-DOPA	ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina
DCV	Doenças cardiovasculares
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGTA	Etilenoglicol-bis (2 aminoácido-etílico-éter)
eNOS	Óxido nítrico sintetase endotelial
ROS	Espécies reativas de oxigênio
GC	Guanilato ciclase
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
IL-6	Interleucina-6
KCl	Cloreto de potássio
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NDEA	N-nitrosodimetilamina
NO	Óxido nítrico
PHE	Fenilefrina
PKG	Proteína quinase dependente de GMPc
TNF-alfa	Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Doenças cardiovasculares.....	13
2.2 Disfunção endotelial	14
2.3 Pigmentos naturais e betalaínas	15
2.4 Betanina	17
3 OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo geral	19
3.2 Objetivos específicos	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 Animais.....	20
4.2 Soluções e fármacos	20
4.4.1 Efeito contrátil da betanina em anéis de aorta isolada de ratos	22
4.4.2 Investigação dos mecanismos envolvidos no efeito contrátil da betanina em aorta de rato.	22
4.4.3 Efeito da betanina na disfunção endotelial induzida por baicalina em artéria aorta de ratos.	22
4.5 Análise estatística	23
5 RESULTADOS	24
5.1 Efeito contrátil da betanina em anéis de aorta isolada de ratos	24
5.1.1 Efeito contrátil da betanina em anéis pré-contraídos com fenilefrina	24
5.1.2 Efeito contrátil da betanina em tônus basal	24
5.2.1 Efeito da betanina em meio desprovido de cálcio extracelular	25
5.2.2 Efeito da betanina em anéis de aorta desprovidos de endotélio	25
5.3 Investigação dos mecanismos contráteis da betanina em anéis de aorta isolada de ratos ..	26
5.3.1 Efeitos da betanina na presença de guanetidina e ioimbina	26

5.3.2 Efeito da betanina na presença dos antagonistas farmacológicos verapamil, ciproheptadina e prazosin	26
5.4 Atividade moduladora da função endotelial da betanina	27
5.4.1 Efeito da betanina em anéis de aorta isolada de ratos após prejuízo da função endotelial induzido por baicalina	27
6 DISCUSSÃO	28
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
REFERÊNCIAS.....	33
ANEXO 1.....	38

1 INTRODUÇÃO

As patologias cardiovasculares são as que mais afetam a população em geral e estão relacionadas a um elevado número de óbitos no Brasil e no mundo (DE PINHO et al., 2010). Hoje, sabe-se que dentre os eventos característicos que iniciam o processo de aterosclerose, condição clínica diretamente relacionada à acidentes cardiovasculares, está a disfunção endotelial, caracterizada pela biodisponibilidade e atividade de óxido nítrico (NO) reduzida (POLANCZYK, 2020).

A disfunção endotelial, por sua vez, ocorre pelo desequilíbrio entre a formação de NO e espécies reativas de oxigênio (EROs). Tal desequilíbrio reforça a oxidação da LDL (lipoproteína de baixa densidade), acarretando o acúmulo de lipídios nas paredes das artérias, dando início à formação de ateromas e, ao mesmo tempo, provocando resposta inflamatória no endotélio, o que compromete a função endotelial (GIRIBELA et al., 2011). Além disso, quantidades excessivas de ROS causam danos em macromoléculas como DNA, lipídios e proteínas, bem como interrupção das vias de sinalização redox-dependentes na vasculatura, levando à disfunção endotelial (SILVA et al., 2021).

O excesso de ROS ocorre quando há desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes no organismo, o que caracteriza o estresse oxidativo (MARÇAL; MARTINS-OLIVEIRA, 2011). No estresse oxidativo vascular tem-se uma superprodução de radicais livres, que diminui a atividade do NO (BOLZAN et al, 2017).

Nesse contexto, observa-se um crescente interesse na pesquisa por antioxidantes naturais, pois, além de manter as propriedades organolépticas e químicas dos alimentos, também são associados à manutenção de saúde e prevenção de doenças (GANDÍA-HERRERO; ESCRIBANO; GARCÍA-CARMONA, 2016).

Os metabólitos secundários de plantas, em particular os compostos fenólicos e flavonóides estão geralmente envolvidos na defesa contra distúrbios degenerativos relacionados ao estresse oxidativo. Portanto, plantas medicinais podem se tornar uma fonte útil de novos compostos antioxidantes, que podem ser usados para a prevenção e tratamento de doenças relacionadas aos radicais livres (CHANTHASRI et al., 2018).

Na última década, a beterraba (*Beta vulgaris* L.) tem atraído muita atenção como um alimento funcional, com um possível efeito promotor de saúde, devido a descoberta de que é um dos poucos vegetais que contêm um grupo de pigmentos altamente bioativos conhecidos como betalaínas (GANDÍA-HERRERO; ESCRIBANO; GARCÍA-CARMONA, 2016).

Por estabilizarem radicais livres, as betalaínas podem ser classificadas como antioxidantes naturais, havendo diversos relatos na literatura de tal propriedade (CHAVES et al., 2018). Entre as betalaínas, a betanina é o principal representante fitoquímico e tem sido base de estudos pré-clínicos quanto ao seu uso terapêutico em doenças vinculadas ao estresse oxidativo, especialmente as cardiovasculares (RAHIMI et al., 2019; SILVA et al., 2022; TAN et al., 2015; TESORIERE et al., 2003).

A betanina é descrita como um composto bioativo capaz de inibir membranas lipídicas e peroxidação de LDL, modulando a geração de ROS de modo a aumentar as atividades de enzimas antioxidantes (ESATBEYOGLU et al., 2014). Assim, a betanina apresenta potencial como terapia de suporte utilizada para melhorar os efeitos fisiopatológicos causados pelo estresse oxidativo e eventos inflamatórios que levam a doenças cardiovasculares (SILVA et al., 2022).

Tawa et al. (2020) examinaram o efeito regulador da betanina no tônus vascular de artérias suínas isoladas e sugeriram que a betanina não possui atividade vasorrelaxante, e que é improvável que ela seja o componente diretamente responsável pelo efeito agudo da redução da pressão arterial induzida pelo extrato de beterraba (rico em betanina). Portanto, o mecanismo pelo qual a betanina pode ser biologicamente ativa no sistema cardiovascular ainda é pouco compreendido. Neste contexto, nos propomos a investigar os efeitos vasculares da betanina em preparações isoladas de aorta de ratos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Doenças cardiovasculares

Doenças cardiovasculares (DCV) são doenças do coração e dos vasos sanguíneos, o que inclui uma variedade de entidades como doenças periféricas vasculares, doença coronariana, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio, cardiomiopatias, dislipidemias, hipertensão, entre outras (SHAUTO et al., 2020).

Apesar do sucesso de estratégias terapêuticas para dislipidemia e hipertensão, por exemplo, as DCVs contam como um terço de todas as mortes do mundo, e a prevalência é crescente (MANGGE et al., 2014). No mundo, tais doenças são responsáveis por aproximadamente 41 milhões de mortes por ano, equivalente a 71% das mortes totais (POLANCZYK, 2020).

Evidências sugerem que a maioria dos fatores de risco para DCV aumenta o risco de superprodução de EROs, estando o seu excesso relacionado com o desenvolvimento de tais doenças (AVELAR et al., 2015). Tais fatores incluem alta ingestão de gordura saturada e colesterol, estresse, tabagismo, sedentarismo e diabetes, aterosclerose e hipertensão (ADEGBOLA et al., 2017).

A patogênese das DCVs por meio desses fatores ocorre devido estresse oxidativo, disfunção endotelial ou alteração na vasculatura resultando na mobilização de marcadores inflamatórios, além de outros processos como a expressão de moléculas de adesão, a proliferação e migração de células musculares lisas, a apoptose de células endoteliais, a oxidação de lipídios e a alteração da atividade vasomotora (ADEGBOLA et al., 2017).

Somado a isso, condições inflamatórias crônicas atenuam as capacidades antioxidantes endógenas devido à produção contínua de altos níveis de ROS (MANGGE et al., 2014). O estresse oxidativo é então um desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade do organismo de neutralizar seus efeitos deletérios por meio da ação de antioxidantes (TONDOLO, 2019).

Como resultado, o estresse oxidativo contribui para inflamação e ruptura endotelial na aterogênese e outros impactos na função celular e tecidual como hipertrofia do músculo liso vascular, aumento na deposição de proteínas da matriz extracelular, aumento da contratilidade das células musculares lisas vasculares, migração de monócitos, peroxidação lipídica, disfunção endotelial e apoptose (MANGGE et al., 2014; MARÇAL; MARTINS-OLIVEIRA, 2011). Dessa forma, o aumento do estresse oxidativo associado à diminuição das defesas antioxidantes

podem levar a transtornos metabólicos e mudanças na sinalização celular, como o prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio (AVELAR et al., 2015).

Segundo Marçal e Martins-Oliveira (2011) qualquer situação em que haja prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio, causada por uma redução na produção ou biodisponibilidade de NO na parede do vaso, caracteriza um quadro de disfunção endotelial. É descrito na literatura que antioxidantes exógenos podem modular as respostas de vasodilatação dependente do endotélio (MANGGE et al., 2014).

2.2 Disfunção endotelial

As DCVs apresentam, em sua gênese e/ou em seus mecanismos fisiopatológicos, alterações na função endotelial (DE PINHO et al., 2010). É descrito na literatura o papel do dano endotelial e sua disfunção no desenvolvimento e progressão dessas doenças, sendo os eventos iniciais da aterosclerose e fatores importantes na síndrome coronariana aguda (DE PINHO et al., 2010; STORCH et al., 2017).

Em indivíduos sadios sob condições basais, há tônus vasodilatador moderado e constante, causado pelo NO endotelial se difundindo para as células da musculatura lisa vascular (DE PINHO et al., 2010). Na célula muscular, o NO interage com a enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), tornando-a ativa. A GCs leva à produção de guanosina monofosfato cíclica (GMPc), que ativa a proteína quinase dependente de GMPc (PKG), que então fosforila várias proteínas celulares que promovem relaxamento devido à diminuição do influxo de cálcio e inibição da liberação e/ou aumento do armazenamento de cálcio no retículo sarcoplasmático (MARTINELLI, 2019). Dessa forma, se a formação basal de NO cessa, aparecerá vasoconstrição (DE PINHO et al., 2010).

Alguns dados têm mostrado que o declínio na biodisponibilidade de NO pode ser causado por uma diminuída expressão da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), uma falta de substrato ou cofatores para eNOS, alterações na sinalização celular fazendo com que a eNOS não seja ativada apropriadamente, ou até mesmo seja o resultado de uma degradação acelerada do NO pelas ROS (MARÇAL; MARTINS-OLIVEIRA, 2011). A disfunção endotelial, portanto, é uma condição caracterizada por redução da biodisponibilidade de vasodilatadores derivados do endotélio, tais como o NO e um aumento, relativo ou absoluto, da biodisponibilidade de vasoconstritores (STORCH et al., 2017).

Como resultado, a alteração da função endotelial precede o desenvolvimento de alterações ateroscleróticas, bem como colabora para a hipertensão arterial, que está associada

ao prejuízo na vasodilatação dependente do endotélio. (GIRIBELA et al., 2011; MARÇAL; MARTINS-OLIVEIRA, 2011).

Sendo assim, a intervenção em mecanismos intracelulares que controlem tanto a síntese e/ou liberação de mediadores vasodilatadores, quanto em sistemas biológicos responsáveis pela produção e remoção das EROs, poderão ser promissores alvos terapêuticos (MARÇAL; MARTINS-OLIVEIRA, 2011).

2.3 Pigmentos naturais e betalaínas

A cor é um dos atributos mais importantes dos alimentos já que é o primeiro aspecto que o consumidor associa à qualidade do produto. Em razão disso, os corantes alimentícios são extremamente importantes na indústria, para garantir a atratividade dos produtos alimentícios. No entanto, com base nas últimas descobertas relacionadas aos efeitos colaterais e problemas de toxicidade de alguns corantes sintéticos, os consumidores em todo o mundo têm mostrado crescente interesse em alternativas naturais (MELO, 2019).

Muitos pigmentos naturais em alimentos servem primariamente para propósitos de cor, mas também promovem saúde e bem estar por prevenir e, às vezes, até auxiliar na cura de doenças. Dentre as substâncias bioativas encontradas em alimentos que estão relacionadas à nutrição e saúde estão as clorofilas; cúrcuma e curcumina; carmim e betalaínas (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009).

Há evidências sugerindo que alguns corantes naturais podem ser antioxidantes nutricionalmente importantes e que sua presença na dieta pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares, câncer e outras doenças associadas ao envelhecimento (CAI; SUN; CORKE, 2003).

A maioria das pesquisas vem sendo focada em corantes naturais, como carotenóides, antocianinas (flavonóides) e curcuminóides, que exibem atividades antioxidantes, antiinflamatórias e antibacterianas, além de efeitos anticarcinogênicos e de promoção antitumoral (CAI; SUN; CORKE, 2003). Como exemplo, inúmeros estudos realizados com compostos fenólicos, especialmente os flavonóides (antoxantinas e antocianinas), demonstram a capacidade de captar radicais livres (atividade antioxidante) e seus efeitos na prevenção de enfermidades cardiovasculares e circulatórias (KUSKOSKI et al., 2006).

Já a beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.) é conhecida por possuir compostos nitrogenados chamados de betalaínas que apresentam a função de antioxidantes naturais, pois são compostos nitrogenados provenientes do metabolismo secundário (ZABOTTI,

CAROLINE; GENEMA, 2013). As betalaínas são compostos N-heterocíclicos solúveis em água, localizados nos vacúolos das plantas. Seu precursor comum é o ácido betalâmico (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009). As betalaínas não pertencem ao grupo dos alcalóides, pois na natureza se apresentam na forma ácida devido à presença de vários grupos carboxilas e produzem coloração vermelha, amarela, pink e laranja em flores e frutas, sendo que a beterraba constitui a principal fonte deste pigmento (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009).

A variação desses grupos é em função das diferentes fontes de onde podem ser obtidos esses pigmentos e determinam sua tonalidade e estabilidade (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009). Desta forma, as betalaínas são classificados em betacianinas, que conferem cor vermelho-violeta à beterraba, e as betaxantinas, um corante amarelo-laranja também presente na beterraba vermelha, mas em menor proporção que as betacianinas (ZABOTTI, CAROLINE; GENEMA, 2013).

As betaxantinas são caracterizadas por substituintes que não estendem o sistema de ressonância, os compostos exibem espectros ultravioleta visível com absorção máxima em torno de 480 nm. Já as betacianinas, possuem como substituintes anéis aromáticos, como, por exemplo, a ciclo-3,4-dihidroxifenilalanina (ciclo-DOPA), ou algum de seus derivados glicosilados, que estendem a ressonância e mudam o máximo de absorção de 480 nm para 540 nm (SASSONIA, 2021).

As betalaínas são identificadas como um antioxidante natural. A alta atividade antioxidante das betalaínas parece resultar de sua excepcional capacidade de doação de elétrons e de sua capacidade de desarmar radicais altamente reativos direcionados às membranas celulares (SILVA et al, 2021). De fato, estudos já mostram a beterraba como um dos dez mais potentes antioxidantes (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009). Após estudos de biodisponibilidade, alguns autores sugeriram que as betalaínas betanina e indicaxantina estão envolvidas na proteção da partícula de LDL-colesterol contra modificações oxidativas (GENTILE et al., 2004).

Além disso, Cai e colaboradores (2003) mostraram que as betalaínas de plantas da família Amaranthaceae, especialmente as betacianinas do tipo gomfrenina e as betaxantinas amarelas, demonstraram atividade antioxidante muito forte em comparação com antioxidantes típicos (ácido ascórbico, rutina e catequina), sugerindo que a betanina poderia se tornar uma fonte útil de antioxidantes naturais e corantes naturais.

Outros estudos já utilizaram as betalaínas obtidas a partir da beterraba em modelos humanos. Pietrzkowski e colaboradores (2010) observaram que a administração de extrato de

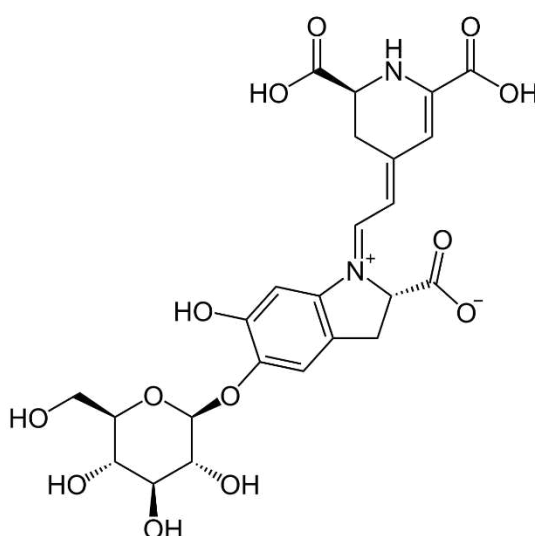
beterraba enriquecido em betalaínas aliviou a inflamação e a dor em pacientes que sofriam de osteoartrite, com doses que variaram de 35 mg a 100 mg por dia, após 10 dias de tratamento.

Em animais, a administração do suco de beterraba levou a redução de danos ao DNA, induzidos pelo carcinógeno NDEA (N-nitrosodimetilamina), em tecido hepático de ratos; enquanto em ratos submetidos à gentamicina conferiu proteção renal juntamente com redução dos mediadores pró-inflamatórios IL-6 e TNF-alfa e redução das concentrações de mieloperoxidase (que representa a infiltração de neutrófilos) e NO (indicador de dano causado por estresse oxidativo) (EL GAMAL et al., 2014). Além disso, El Gamal e colaboradores (2014) também demonstraram aumento da atividade antioxidante endógena nos ratos tratados com o extrato alcoólico de beterraba. Tais resultados são atribuídos às propriedades das betalaínas (SASSONIA, 2021).

2.4 Betanina

A betanina é um pigmento natural de cor vermelha, principal componente das betacianinas na beterraba (*Beta vulgaris* L.), cujo potencial antioxidante é devido à sua alta propriedade doadora de elétrons (HADIPOUR et al., 2020). Também pode ser encontrada em outras espécies vegetais como nas cactáceas mandacaru (*Cereus jamacaru*), opúntia (*Opuntia elatior*) e figueira-da-Índia (*Opuntia ficus-indica*) (LIMA, 2016). A sua estrutura está demonstrada na Figura 1.

Figura 1 – Estrutura da betanina



Comparativamente, a betanina tem mais atividade antioxidante do que outras betacianinas, assim como o suco de beterraba vermelha, principal fonte de betanina, também possui ação antioxidante maior do que os sucos de laranja, abacaxi e outras frutas e vegetais, como cenoura e tomate (HADIPOUR et al., 2020).

As atividades antioxidante e antiinflamatória da betanina podem atenuar os principais mecanismos envolvidos nas doenças vasculares, o que é evidenciado por meio de estudos que mostram o efeito da betanina nos principais fatores de risco envolvidos em tais patologias (SILVA et al., 2021).

Em estudos in-vitro, por exemplo, a betanina foi capaz de reduzir a oxidação do LDL, bem como a expressão de moléculas de adesão (GENTILE et al., 2004; TESORIERE et al., 2003). Além disso, diversos trabalhos evidenciam a ação direta da betanina no aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase e a glutathione peroxidase, bem como redução de marcadores de estresse oxidativo, como o malonaldeído (DA SILVA et al., 2019; TURAL et al., 2021).

Ademais tem sido demonstrado que a betanina possui efeitos inibitórios na oxidação de lipoproteínas de baixa densidade, óxido nítrico sintase induzível, atividades de ciclooxigenase e protease do lisossomo (AHMADI et al., 2017; DHANANJAYAN et al., 2017). A alta atividade antioxidante da betanina deve-se à sua maior capacidade de doar H⁺ e elétrons, o que está relacionado à sua estrutura molecular (SILVA et al., 2021).

Acerca de seu potencial anti-aterogênico, é observado que a betanina possui capacidade de se ligar ao LDL, impedindo sua peroxidação, evento que dá início ao processo de aterosclerose (ALLEGRA; TESORIERE; LIVREA, 2007).

Apesar de apresentar potencial terapêutico, trabalhos com pigmentos purificados ainda são escassos. O aumento desses estudos ajudaria a estabelecer o papel real desempenhado pelas betalaínas isoladamente ou com outros compostos (GANDÍA-HERRERO; ESCRIBANO; GARCÍA-CARMONA, 2016).

Nessa perspectiva, Tawa e colaboradores (2020) investigaram o efeito da betanina no tônus vascular de artérias mesentéricas e pulmonares de porcos, demonstrando ação vasoconstritora do composto. Entretanto, os mecanismos subjacentes a esse efeito permanecem não esclarecidos. Dessa forma, o presente trabalho objetivo investigar os efeitos da betanina em artéria aorta de ratos, bem como investigar seus possíveis mecanismos de ação.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos vasculares da betanina em artéria aorta isolada de ratos wistar adultos

3.2 Objetivos específicos

- Investigar os efeitos da betanina no tônus basal do músculo liso vascular em preparações de artéria aorta isolada de ratos;
- Investigar os efeitos da betanina em preparações de artéria aorta pré-contraídas com fenilefrina;
- Investigar os mecanismos pelos quais a betanina modifica a contratilidade em preparações de artéria aorta isolada de ratos;
- Avaliar o efeito da betanina na disfunção endotelial induzida por baicalina em preparações de artéria aorta.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Neste estudo foram utilizados 30 ratos Wistar adultos (200 – 280 g). Estes foram mantidos em condições de temperatura constante ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), com um ciclo de 12 h claro/12 h escuro e livre acesso à comida e à água. Todos os animais foram tratados em conformidade com as normas de manipulação de animais de laboratório preconizadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com respeito às normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA, protocolo CEUA/UFERSA número #23091.010411/2019-08 (Anexo 1).

4.2 Soluções e fármacos

O meio de perfusão utilizado no estudo foi a solução fisiológica de Krebs com a seguinte composição (mM): NaCl 118, KCl 4,7, MgSO₄ 1,2, CaCl₂ 2,5, KH₂PO₄ 1,2, NaHCO₃ 25 e glicose 11,1. Os sais foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Betanina, acetilcolina (ACh), fenilefrina (PHE), baicalina, prazosin, guanetidina, ciproheptadina, ioimbina, verapamil, foram adquiridos da Sigma Co. (St. Louis, EUA). As soluções de ACh, PHE e outras substâncias foram preparadas pela dissolução das substâncias puras em água destilada ou seu respectivo diluente e armazenadas em freezer em concentrações 100 a 1000 vezes maiores que aquelas usadas na cuba de banho durante os experimentos.

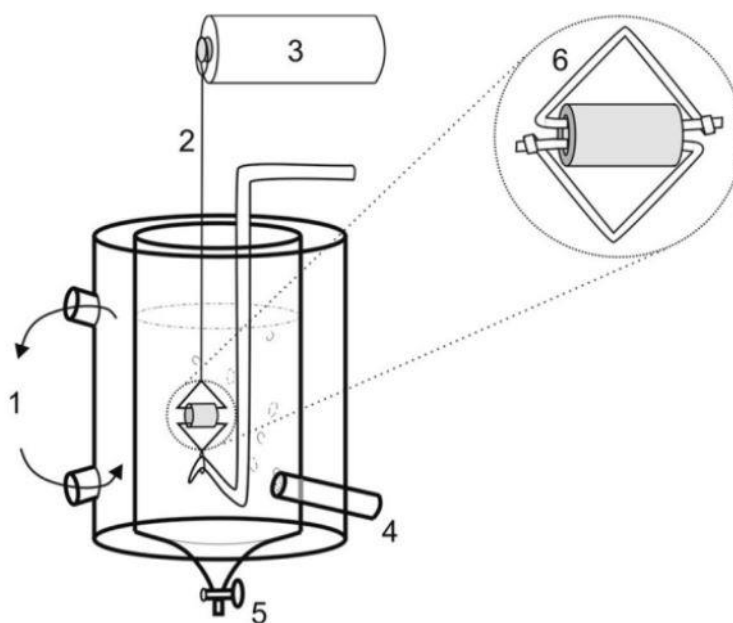
4.3 Estudos funcionais em aorta isolada de ratos

Os animais foram anestesiados com 2,2,2,tribromoetanol (250 mg/kg) por via intraperitoneal e sacrificados por exsanguinação imediatamente antes do início dos experimentos para obtenção dos tecidos. Após laparotomia, foi possível a retirada da artéria aorta torácica, a qual foi imersa imediatamente em solução fisiológica oxigenada para dissecação do tecido aderente. Após isso, a aorta foi cortada transversalmente em segmentos cilíndricos em forma de anel (1 × 5 mm) e estes foram ligados a peças triangulares de fio de aço (0,3 mm de diâmetro) e então suspensos em cuba para órgão isolado de 5 mL contendo solução de Krebs a 37 °C, continuamente aerada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂). Os anéis de aorta foram mantidos sob tensão basal de 1 g, que foi gravada utilizando-se transdutor de força isométrico (ML870B60/C-V, AD Instruments, Australia) conectado a um sistema de aquisição de dados (PowerLab™ 8/30, AD Instruments, Austrália), conforme

esquemático na Figura 2. Durante o período de estabilização, cerca de 1 hora, foi realizada a troca da solução nutritiva a cada 15 min para evitar a interferência de metabólitos.

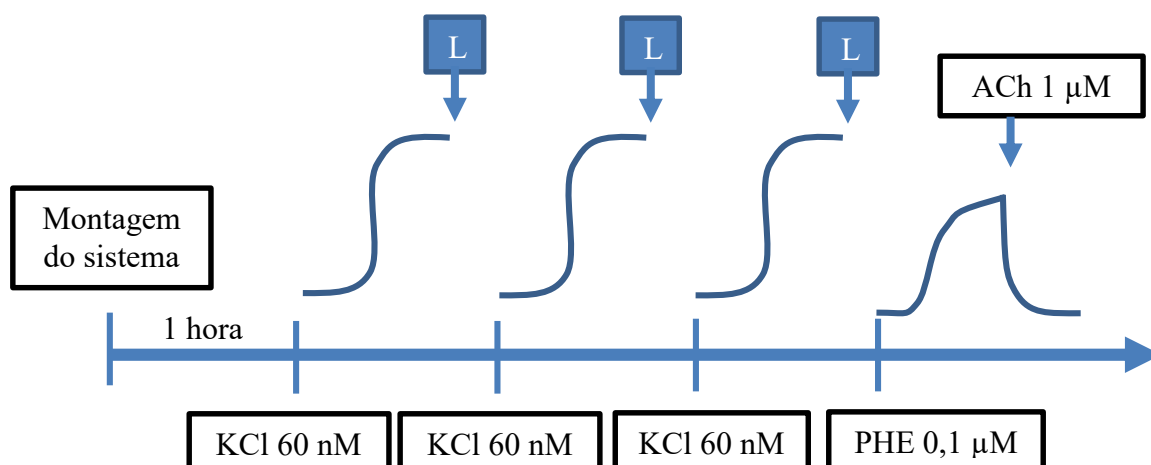
Em seguida, com o objetivo de verificar a viabilidade dos tecidos, foram realizadas contrações sucessivas através do estímulo com solução despolarizadas de K⁺ até a obtenção de três contrações de amplitudes semelhantes. Então, para confirmar a funcionalidade dos endotélios, todos os anéis foram contraídos com fenilefrina (0,1 μ M) e, após um platô, foram relaxados com acetilcolina (1 μ M). Quando a resposta vasorrelaxante foi superior a 70% da amplitude inicial, os endotélios foram considerados intactos, bem como a ausência de resposta vasorrelaxante foi tomada como evidência da retirada adequada do endotélio (Figura 3). Após essas etapas, foram realizados os experimentos com as especificidades de cada protocolo.

Figura 2 - Representação esquemática do sistema de banho de órgão isolado



Representação de uma câmara de banho para órgão isolado contendo um anel de artéria aorta imerso na solução fisiológica de Krebs-Henseleit. A câmara de banho possui um compartimento externo, conectado a uma bomba de circulação térmica (1). Os anéis suspensos em peças triangulares de aço inoxidável através de fios de algodão (2) são conectados ao transdutor de força (3). A câmara de banho permite o borbulhamento de mistura carbogênica (4) em seu compartimento interno, drenado através de descarte (5) para troca de solução. Durante a montagem do tecido com as pequenas peças triangulares (6), deve-se estar atento à disposição paralela dos dispositivos de aço para evitar o cruzamento das alças metálicas no lúmen do vaso. Fonte: Ribeiro-Filho HV et al., 2012.

Figura 3 - Representação esquemática do protocolo de contratilidade.



Protocolo utilizado para avaliar a viabilidade das preparações dos anéis de aorta isolados. Após a montagem do sistema e 1 hora para estabilização dos canais, realiza-se três curvas de contração com KCl seguida de uma contração com fenilefrina e vasodilatação com ACh, para verificar integridade do endotélio. L = Lavagem.

4.4 Protocolos experimentais de contratilidade

4.4.1 Efeito contrátil da betanina em anéis de aorta isolada de ratos

Para avaliar o efeito da betanina em anéis de aorta foi realizada uma curva concentração-efeito para a betanina (1 – 3000 μ M) em anéis aórticos com endotélio intacto no tônus basal e após pré-contracção com fenilefrina (1 μ M).

4.4.2 Investigação dos mecanismos envolvidos no efeito contrátil da betanina em aorta de rato.

Para investigação do efeito contrátil da betanina foram realizadas as seguintes estratégias experimentais: retirada do cálcio extracelular do meio de perfusão, retirada do endotélio vascular das preparações, pré-tratamento com os antagonistas farmacológicos prazosin, guanetidina, ciproheptadina, ioimbina e verapamil. Os mecanismos de ação de cada fármaco estão descritos de acordo com o Quadro 1.

4.4.3 Efeito da betanina na disfunção endotelial induzida por baicalina em artéria aorta de ratos.

Para investigação do efeito protetor endotelial da betanina, os tecidos foram expostos à baicalina (100 μ M) e contraídos com fenilefrina (0,3 μ M) e, após atingir o platô, foram realizadas curvas concentração-efeito para acetilcolina (0,01–10 μ M) na ausência ou na presença de betanina.

Quadro 1 – Fármacos utilizados para investigação dos efeitos vasculares da betanina.

Fármaco	Mecanismo de ação
KCl	Ativador de canais de cálcio dependentes de voltagem
Fenilefrina	Agonista $\alpha 1$ -adrenérgico
Acetilcolina	Indutor de vasodilatação mediada por receptores muscarínicos
Guanetidina	Bloqueador de neurônios adrenérgicos
Ioimbina	Antagonista $\alpha 2$ -adrenérgico
Prazosin	Antagonista $\alpha 1$ -adrenérgico
Ciproheptadina	Bloqueador dos receptores para serotonina
Verapamil	Bloqueador de canais para Ca^{2+} dependente de voltagem
Baicalina	Agente inibidor do relaxamento mediado pela via NO/GMPc/PKG.
Etilenoglicol-bis (2 aminoácido-etílico-éter) (EGTA)	Agente quelante de cálcio

4.5 Análise estatística

A maior parte dos valores será dada pelas médias aritméticas $\pm$ erro padrão da média (E.P.M). com a representação do número de observações experimentais (n). A significância estatística será considerada quando a probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade for menor que 5% ($p < 0,05$), o que será avaliado através de análise de variância (ANOVA) seguida de um teste de múltipla comparação, conforme apropriado. Os testes serão aplicados com a utilização do programa SigmaStat (Systat Software Inc, USA) e os gráficos confeccionados com o programa SigmaPlot (Systat Software Inc, USA).

5 RESULTADOS

5.1 Efeito contrátil da betanina em anéis de aorta isolada de ratos

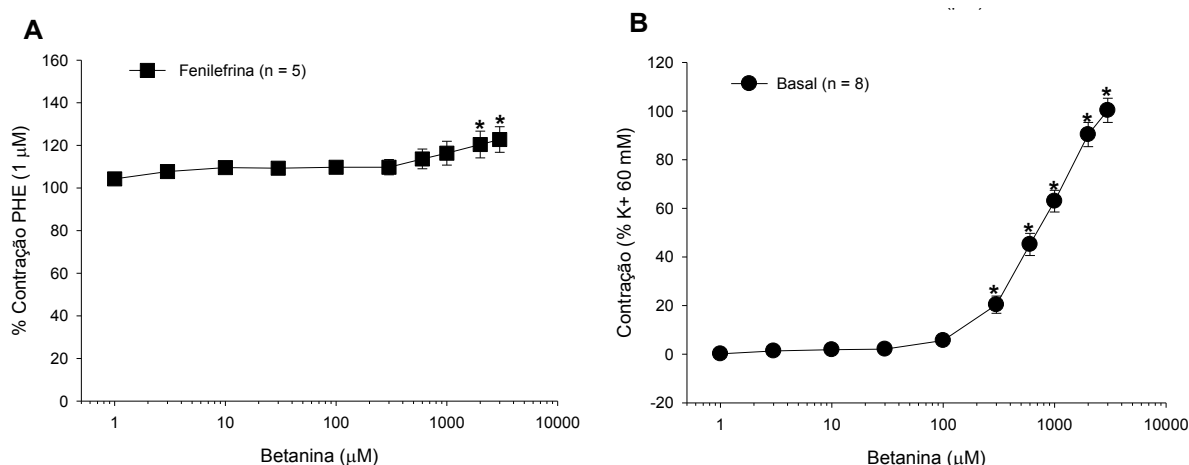
5.1.1 Efeito contrátil da betanina em anéis pré-contraídos com fenilefrina

Em anéis de aorta com endotélio intacto pré-contraídos com fenilefrina (1 μM), a adição cumulativa de betanina (1 – 3000 μM ; n = 5) foi capaz de induzir uma leve contração ($p < 0,05$, ANOVA de uma via, teste de Holm-Sidak, Figura 4A), aumentando a tensão para $122,8 \pm 6,0\%$ em relação à contração controle induzido pela fenilefrina (contração máxima imediatamente antes da adição de betanina).

5.1.2 Efeito contrátil da betanina em tônus basal

A adição cumulativa de betanina (1 – 3000 μM) em anéis de artéria aorta com endotélio intacto induziu efeito contrátil dependente de concentração ($p < 0,05$, ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Dunnett, n = 8, Figura 4B) com valor de CE50 de 687,28 [499,80-944,93] μM e $E_{\text{máx}}$ de $100,30\% \pm 5,00\%$ em relação à contração controle induzida por K^+ (60 mM), efeito que se tornou significativo na concentração de 300 μM .

Figura 4 – Efeito contrátil da betanina em aorta isolada de rato.



(A) Gráfico mostrando que a adição de betanina (1 - 3000 μM ; n = 5) contraiu de forma adicional os anéis de aorta pré-contraídos com fenilefrina (PHE). (B) Gráfico mostrando que a adição de betanina (1 - 3000 μM ; n = 8) induziu contração no tônus basal de artéria aorta. O (n) representa o número de observações experimentais. Os dados estão expressos como percentual da contração inicial induzida por PHE (1 μM) ou por K^+ (60 mM) nos painéis A e B,

respectivamente. * $p < 0,05$ em comparação com o valor de tensão registrado imediatamente antes da adição de betanina.

5.2 Efeitos da betanina em anéis de aorta isolada de ratos mantidos em meio sem cálcio ou em preparações desprovidas de endotélio

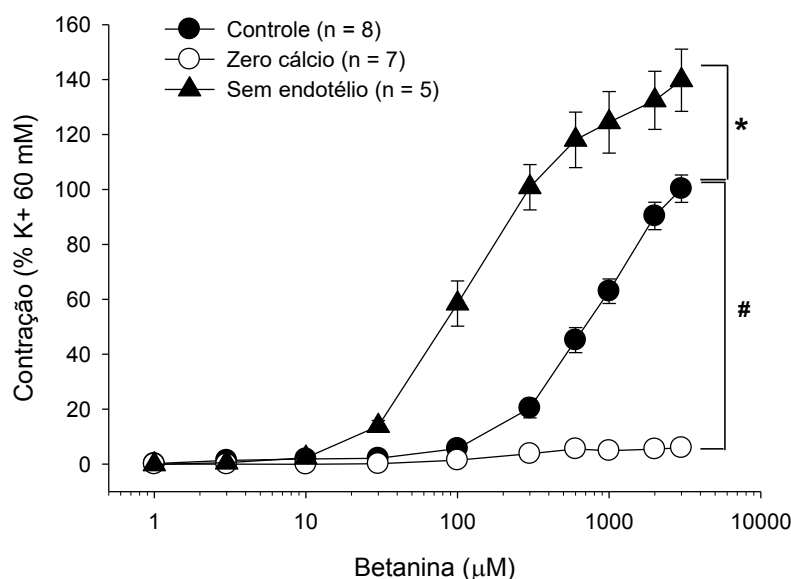
5.2.1 Efeito da betanina em meio desprovido de cálcio extracelular

A retirada do cálcio do meio extracelular inibiu o efeito contrátil da betanina ($p < 0,05$, ANOVA de duas vias, teste de Holm-Sidak, $n = 7$, Figura 5) em relação à curva controle na presença de cálcio extracelular.

5.2.2 Efeito da betanina em anéis de aorta desprovidos de endotélio

A retirada do endotélio potencializou o efeito contrátil da betanina, deslocando a curva concentração-efeito da betanina para a esquerda ($p = 0,002$, teste de Mann-Whitney; $n = 5$, Figura 5) com valor de CE50 de 85,74 [54,99-133,69] μM em comparação a curva controle que apresentou CE50 de 687,28 [499,80-944,93] μM .

Figura 5 – Efeito contrátil da betanina em meio sem cálcio extracelular e artérias desprovidas de endotélio



Curvas concentração-efeito foram construídas pela adição cumulativa de betanina (1 - 3000 μM) na presença (controle; $n = 8$) ou ausência de cálcio extracelular (zero cálcio; $n = 7$) ou em meio desprovido de endotélio (sem endotélio; $n = 5$). A retirada do cálcio extracelular inibiu o efeito contrátil, enquanto a retirada do endotélio potencializou a contração induzida por betanina. O (n) representa o número de observações experimentais. Os

dados estão expressos como percentual da contração inicial induzida por K^+ (60 mM). * $p < 0,05$, curva controle versus anéis sem endotélio intacto. # $p < 0,05$, curva controle versus meio desprovido de cálcio.

5.3 Investigação dos mecanismos contráteis da betanina em anéis de aorta isolada de ratos

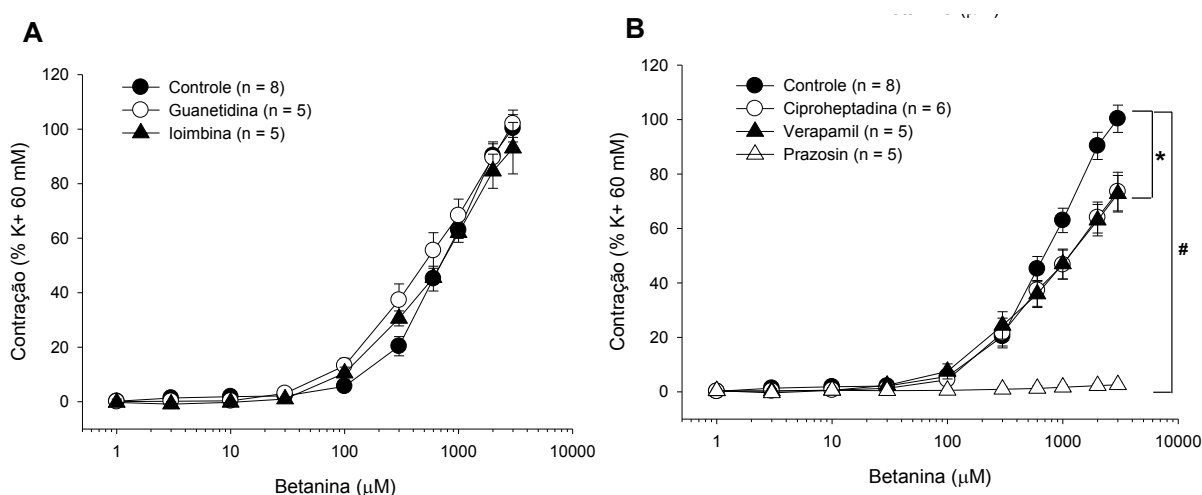
5.3.1 Efeitos da betanina na presença de guanetidina e ioimbina

O pré-tratamento com guanetidina (1 μ M, $n = 5$) ou ioimbina (30 nM, $n = 5$) não alterou o efeito contrátil induzido pela betanina (1 - 3000 mM) ($p > 0,05$, ANOVA de duas vias, Figura 6A).

5.3.2 Efeito da betanina na presença dos antagonistas farmacológicos verapamil, ciproheptadina e prazosin

O efeito contrátil induzido pela betanina (1 - 3000 μ M) foi inibido na presença de prazosin (10 μ M, $p < 0,05$, teste de Holm-Sidak, $n = 5$, Figura 6B). Já o pré-tratamento com ciproheptadina (100 nM, $n = 6$) e verapamil (1 μ M, $n = 5$) diminuiu parcialmente a contração induzida por betanina ($p < 0,05$, teste de Holm-Sidak, Figura 6B), reduzindo a tensão para $73,54\% \pm 7,09\%$ e $72,75\% \pm 6,72\%$, respectivamente, em relação à contração de referência induzida por K^+ (60 mM), efeito que foi significativo a partir da concentração de 1000 μ M de betanina.

Figura 6 – Efeitos da betanina na presença de antagonistas farmacológicos



(A) Gráfico mostrando que guanetidina (1 μ M, $n = 5$) e ioimbina (30 nM, $n = 5$) não interferiram no efeito contrátil da betanina (1 - 3000 μ M). (B) Gráfico mostrando que o pré-tratamento com prazosin (10 μ M, $n = 5$) inibiu o efeito contrátil da betanina, enquanto a ciproheptadina (100 nM, $n = 5$) e o verapamil (1 μ M, $n = 5$) foram capazes de reduzir a contração induzida por betanina. O (n) representa o número de observações

experimentais. Os dados estão expressos como percentual da contração inicial induzida por K^+ (60 mM). #, * $p < 0,05$, em comparação com a curva controle (sem pré-tratamento com inibidor; ANOVA de duas vias).

5.4 Atividade moduladora da função endotelial da betanina

5.4.1 Efeito da betanina em anéis de aorta isolada de ratos após prejuízo da função endotelial induzido por baicalina

Em anéis de aorta com endotélio intacto, acetilcolina (0,01– 30 μM) relaxou as contrações induzidas por fenilefrina (0,3 μM) para $12,1\% \pm 2,8\%$ ($n = 7$) em relação à contração de referência (contração antes da adição de acetilcolina). A exposição prévia à baicalina (100 μM) diminuiu a resposta vasodilatadora da acetilcolina (0,01– 30 μM) para $51,7\% \pm 7,2\%$ ($n = 8$) em relação à contração de referência ($p < 0,05$, ANOVA de duas vias, teste de Holm-Sidak, Figura 7), evidenciando prejuízo da função endotelial provocada pela baicalina. Em preparações expostas à baicalina (100 μM), o pré-tratamento com betanina (1000 μM) melhorou a ação vasorelaxante da acetilcolina para $30,9\% \pm 4,7\%$ em relação ao controle ($p < 0,05$, ANOVA de duas vias, teste de Holm-Sidak, $n = 7$, Figura 7).

Figura 7 – Melhora da função endotelial induzida por betanina

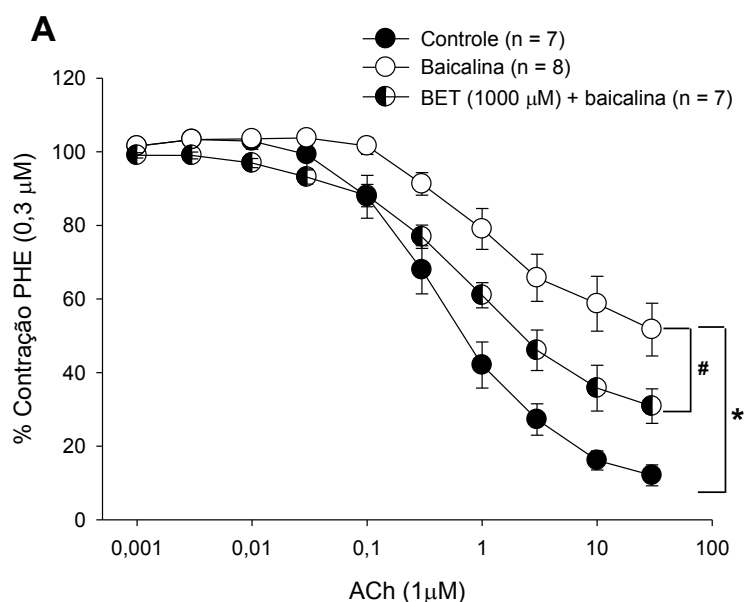


Gráfico mostrando que a baicalina (100 μM , $n = 8$) interferiu na vasodilatação induzida por acetilcolina, ao passo que o pré-tratamento com betanina (1000 μM , $n = 7$) foi capaz de melhorar o efeito vasodilatador da acetilcolina no meio exposto à baicalina (100 μM). O (n) representa o número de observações experimentais. Os dados estão expressos como percentual da contração inicial induzida por PHE (0,3 μM). * $p < 0,05$, exposição à baicalina versus curva controle. # $p < 0,05$, exposição à baicalina versus pré-tratamento com betanina.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de investigar os efeitos da betanina em preparações de artéria aorta. Nossos resultados demonstram que a betanina apresenta atividade vasoconstritora em artéria aorta, com prováveis mecanismos de ação envolvendo a participação de receptores alfa-1 adrenérgicos e recrutamento de cálcio extracelular.

O efeito vasoconstritor da betanina foi evidenciado no tônus basal e em preparações de aorta pré-contraídas com PHE. Tais achados corroboram com o estudo de Tawa et al. (2020) que demonstraram ausência de efeito vasorelaxante da betanina.

Visando a elucidação de seu efeito contrátil, foram realizados experimentos utilizando antagonistas específicos. O prazosin, bloqueador de receptores alfa1-adrenérgicos (CAVERO et al., 1978), foi capaz de inibir o efeito da betanina, enquanto ciproheptadina, bloqueador dos receptores para serotonina (TAKEMOTO et al., 2016) e o verapamil, bloqueador dos canais para Ca^{2+} dependentes de voltagem (ZHANG et al., 1999) reduziram parcialmente a resposta contrátil, demonstrando a participação de receptores alfa1-adrenérgicos e serotoninérgicos nos seus efeitos, bem como o recrutamento de cálcio através dos canais para cálcio sensíveis à voltagem. Por outro lado, a guanetidina (KOCH-WESER; WOOSLEY; NIES, 1976) e a ioimbina (TAM; WORCEL; WYLLIE, 2001) não alteraram o efeito contrátil da betanina, indicando, respectivamente, que receptores alfa-2 adrenérgicos, bem como a liberação de neurotransmissores adrenérgicos não estão envolvidos no seu mecanismo contrátil.

Krantz, Monier e Wahlström (1980) observaram que a betanina, por via intravenosa, elevou transitoriamente a pressão arterial em ratos, mas teve tal efeito levemente revertido por fenolamina, um bloqueador dos receptores alfa-adrenérgicos não seletivos. Ao mesmo tempo, sugeriram que o provável efeito adrenérgico da betanina seria por ação indireta sobre a liberação de catecolaminas. Nossos achados confirmam a participação dos receptores alfa-adrenérgicos no efeito vasoconstritor da betanina, especificamente dos receptores alfa-1 adrenérgicos. Todavia, sugerem que seu efeito é de forma direta.

A retirada do cálcio do meio extracelular inibiu por completo a contração induzida por betanina, mostrando que seu efeito depende exclusivamente do recrutamento de cálcio do meio extracelular. Sabe-se que existem dois mecanismos que permitem a contração da célula muscular lisa, um eletromecânico, mediado por canais dependentes de voltagem que permitem o influxo do cálcio extracelular para o citoplasma, e outro farmacomecânico, mediado por

agonistas de receptores acoplados à proteína G que, além do recrutamento do cálcio extracelular, levam à liberação de cálcio intracelular pelo retículo sarcoplasmático (BROZOVICH et al., 2016; NIGRO; FORTES, 2005).

A inibição do efeito vasoconstritor da betanina a partir da depleção de cálcio extracelular demonstra que tal efeito não depende da liberação dos estoques de cálcio intracelular, ao mesmo tempo que sugere provável recrutamento de cálcio do meio extracelular tanto por canais para cálcio dependentes de voltagem como por canais para cálcio dependentes de receptor. Assim, observou-se que o bloqueio dos canais para cálcio dependentes de voltagem pelo verapamil levou apenas à diminuição parcial do efeito contrátil, sugerindo participação concomitante de outros mecanismos, como a ativação de canais para cálcio dependentes de receptor mediada pela estimulação de receptores adrenérgicos e/ou serotoninérgicos, como foi demonstrado pelos efeitos inibitórios da ciproheptadina e do prazosin.

Curiosamente, a retirada do endotélio vascular potencializou o efeito contrátil da betanina, demonstrando que o endotélio exerce influência sobre seu efeito. Sabe-se que o endotélio é modulador do tônus vascular através da liberação de fatores vasodilatadores, como óxido nítrico e prostaciclina, e vasoconstritores, como a endotelina-1 (MARÇAL; MARTINS-OLIVEIRA, 2011). Por esse motivo, a lesão ao endotélio pode provocar redução da resposta vasodilatadora, induzida por exemplo por acetilcolina, como já demonstrado por estudos em humanos com hipertensão arterial (COLLINS et al., 1993; DENG; LI; SCHIFFRIN, 1995; YUGAR-TOLEDO et al., 2015)

Assim, foram realizados experimentos utilizando a baicalina, agente inibidor da produção de óxido nítrico, que prejudicou a resposta vasorelaxante à acetilcolina. Sabe-se que a difusão do NO para o músculo liso vascular ativa a enzima GCs, responsável por produzir GMP cíclico que por sua vez estimula a proteína quinase dependente de GMPc (PKG). A PKG inicia uma cascata de fosforilação que culmina com a redução do cálcio citoplasmático e consequente relaxamento da célula muscular (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002).

Nesse contexto, a baicalina é um agente capaz de potencializar a contração induzida por fenilefrina, através de inibição da produção endotelial de NO. Entretanto, observou-se que a betanina foi capaz de melhorar a resposta dos vasos previamente expostos à baicalina, demonstrando efeito protetor do endotélio, que provavelmente está relacionado à modulação da formação e/ou liberação de fatores relaxantes endoteliais, como o NO, bem como devido à sua capacidade antioxidante já previamente descrita na literatura (TSANG et al., 2000).

Tawa e colaboradores (2020), por sua vez, não encontraram diferenças no vasorelaxamento dependente e independente de endotélio na presença ou não de betanina.

Entretanto, os protocolos foram realizados em condições basais, enquanto que o presente estudo demonstrou que a betanina possui a capacidade de melhorar a resposta vasodilatadora dependente de endotélio diante de uma situação de prejuízo da função endotelial, tais quais condições patológicas. Assim, somada a sua ação vasoconstritora direta, evidencia-se efeito dual da betanina sobre o tônus vascular.

O estresse oxidativo é um fenômeno diretamente ligado a doenças cardiovasculares e envolve o excesso de espécies reativas de oxigênio (AVELAR et al., 2015) que afetam a função endotelial por se ligarem rapidamente ao NO, diminuindo sua disponibilidade (SCHULZ; GORI; MÜNZEL, 2011)

Nesse contexto, vários estudos já demonstraram o potencial antioxidante da betanina e outras betalaínas, que está relacionado às suas estruturas moleculares, principalmente devido à presença de grupos hidroxila e amina (ESATBEYOGLU et al., 2014; HADIPOUR et al., 2020; LU et al., 2018). Em vista disso, estudos sugerem que a betanina é capaz de proteger a função endotelial devido mecanismos como a inibição da oxidação de lipoproteínas e expressão de ICAM-1 e Endotelina-1 (CHEOK et al., 2018; GENTILE et al., 2004; TESORIERE et al., 2003). Esses achados corroboram com a potencialização do efeito contrátil da betanina após a retirada do endotélio das preparações, indicando um possível papel de modulação exercido pelo endotélio no seu efeito vasoconstritor.

Outros agentes fitoquímicos também já demonstraram capacidade de melhorar a função endotelial. Agentes como a quercetina, miricetina, leucocianidol e proantocianidinas, por exemplo, são capazes de estimular a síntese de NO (TAUBERT et al., 2002). Além disso, fitoterápicos combinados da medicina tradicional chinesa vêm demonstrando melhora de parâmetros hemodinâmicos em pacientes hipertensos (REN et al., 2020).

Estudos clínicos já demonstraram que a ingestão de suco de beterraba pode ser uma forma acessível e eficaz de reduzir a pressão arterial (ASGARY et al., 2016; OCAMPO et al., 2018). A partir disso, surge o interesse em saber se a betanina está envolvida nesse efeito, uma vez que é um dos principais compostos presentes na beterraba (MADADI et al., 2020) e sua atividade antioxidante vem sendo demonstrada, como previamente descrito (ESATBEYOGLU et al., 2014; SUTARIYA; SARAF, 2017). Além disso, em estudo com células, a betanina se mostrou capaz de suprimir a expressão gênica de Endotelina-1, potente agente vasoconstritor (CHEOK et al., 2018).

Entretanto, corroborando nossos achados, Tawa e colaboradores (2020) avaliaram o efeito da betanina em artérias mesentéricas e pulmonares isoladas de porcos, demonstrando

efeito vasoconstritor da betanina. Embora também tenham observado efeito vasorrelaxante em artérias carótidas, este ocorreu em concentrações suprafisiológicas (3 mM e 10 mM).

Os resultados de Tawa e colaboradores (2020) demonstram que a betanina não causa efeito vasodilatador direto, indo de acordo com Krantz e colaboradores (1980), que observaram aumento transitório da pressão arterial e frequência cardíaca após a injeção de betanina intravenosa em ratos anestesiados, sugerindo efeito mediado por receptores adrenérgicos e/ou muscarínicos. Assim, provavelmente, a betanina não está envolvida diretamente no efeito hipotensor do extrato da beterraba. Outros mecanismos descritos na literatura como alta concentração de nitratos no seu extrato possam ser os responsáveis diretos da hipotensão (SIERVO et al., 2013).

Portanto, nossos achados contribuem para a caracterização do efeito vasoconstritor direto da betanina. Além disso, sugere-se que o seu efeito modulador da função endotelial possa estar envolvido nos seus efeitos protetores cardiovasculares descritos na literatura (SILVA et al., 2021).

Embora mais estudos sejam necessários para caracterização dos efeitos vasculares da betanina, os resultados do presente estudo contribuem para uma melhor compreensão do seu efeito vasoconstritor direto, evidenciando seus prováveis mecanismos. Destaca-se, portanto, que a betanina é um composto com potencial farmacológico para ir além de suas propriedades de corante natural.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O corante natural betanina possui efeito contrátil em artéria aorta isolada de ratos. Tal efeito foi encontrado tanto em tônus basal como de forma adicional em artérias pré-contraídas com fenilefrina. Seu efeito contrátil depende exclusivamente do recrutamento do cálcio do meio extracelular, provavelmente mediado pela ativação de receptores adrenérgicos alfa-1, de receptores serotoninérgicos e pela abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem.

O efeito vasoconstritor da betanina foi intensificado na ausência do endotélio. Ao mesmo tempo, a betanina foi capaz de melhorar o vasorrelaxamento dependente de endotélio em vasos com função endotelial prejudicada, sugerindo uma provável ação moduladora da via NO/GMPc/PKG.

REFERÊNCIAS

ADEGBOLA, Peter et al. Antioxidant and anti-inflammatory medicinal plants have potential role in the treatment of cardiovascular disease: a review. **American journal of cardiovascular disease**, v. 7, n. 2, p. 19–32, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28533927>>. Acesso em: 24 out. 2020.

AHMADI, Motahareh et al. Effect of Valerian in Preventing Neuropsychiatric Adverse Effects of Efavirenz in HIV-Positive Patients: A Pilot Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 51, n. 6, p. 457–464, 1 jun. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28478716/>>. Acesso em: 2 out. 2020.

ALLEGRA, Mario; TESORIERE, Luisa; LIVREA, Maria. Betanin inhibits the myeloperoxidase/nitrite-induced oxidation of human low-density lipoproteins. **Free Radical Research**, v. 41, n. 3, p. 335–341, 2007.

ASGARY, S. et al. Improvement of hypertension, endothelial function and systemic inflammation following short-term supplementation with red beet (*Beta vulgaris* L.) juice: A randomized crossover pilot study. **Journal of Human Hypertension**, v. 30, n. 10, p. 627–632, 2016.

AVELAR, Thalia M.T. et al. Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome: Which mechanisms are involved? **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 51, n. 4, p. 231–239, 2015.

BOLZAN, Aline Gurski. Relação entre estresse oxidativo e síndrome metabólica 1. p. 529–538, 2017.

BROZOVICH, F. V. et al. Mechanisms of vascular smooth muscle contraction and the basis for pharmacologic treatment of smooth muscle disorders. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 2, p. 476–532, 2016.

CAI, Yizhong; SUN, Mei; CORKE, Harold. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2288–2294, 2003.

CAVERO, Icilio et al. Prazosin has been shown to lower the blood pressure in a considerable proportion of hypertensive patients when used alone or as *. v. 49, 1978.

CERQUEIRA, Nereide Freire; YOSHIDA, Winston Bonetti. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 417–423, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/acb/a/MQrjXffSZQTpGZy3fqrSLNH/?lang=pt>>. Acesso em: 18 jun. 2022.

CHANTHASRI, Wipawee et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 20 polyherbal remedies used as tonics by folk healers in Phatthalung and Songkhla provinces, Thailand. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 1, 21 fev. 2018.

CHAVES, Caroline Magna Pessoa et al. Assessment of the preparation and administration of

oral medications to institutionalized children. **Revista brasileira de enfermagem**, v. 71, p. 1388–1394, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2017-0197>>. Acesso em: 23 mar. 2021.

CHEOK, A.K.F. et al. Effect of betalain (betanin) supplementation on endothelial dysfunction and vascular tone in human umbilical vascular endothelial cells. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 77, n. OCE4, p. 2022, 2018.

COLLINS, P. et al. **Hemoglobin inhibits endothelium-dependent relaxation to acetylcholine in human coronary arteries in vivo**. **Circulation**. [S.l.: s.n.], 1993

DA SILVA, Davi Vieira Teixeira et al. Betanin, a natural food additive: Stability, bioavailability, antioxidant and preservative ability assessments. **Molecules**, v. 24, n. 3, 2019.

DE PINHO, Ricardo Aurino et al. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 549–555, 2010.

DENG, L. Y.; LI, J. S.; SCHIFFRIN, E. L. Endothelium-dependent relaxation of small arteries from essential hypertensive patients: Mechanisms and comparison with normotensive subjects and with responses of vessels from spontaneously hypertensive rats. **Clinical Science**, v. 88, n. 6, p. 611–622, 1995.

DHANANJAYAN, Indumathi et al. Ameliorating effect of betanin, a natural chromoalkaloid by modulating hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities and glycogen content in streptozotocin – nicotinamide induced experimental rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 88, p. 1069–1079, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.146>>.

EL GAMAL, Ali A. et al. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity associated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rodent model. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25400335/>>. Acesso em: 29 abr. 2021.

ESATBEYOGLU, Tuba et al. Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: Electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 73, p. 119–126, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.08.007>>.

GANDÍA-HERRERO, Fernando; ESCRIBANO, Josefa; GARCÍA-CARMONA, Francisco. Biological Activities of Plant Pigments Betalains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 6, p. 937–945, 2016.

GENTILE, C. et al. Antioxidant betalains from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endothelial ICAM-1 expression. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1028, p. 481–486, 2004.

GIRIBELA, Cassiana R G et al. **Função e disfunção endotelial: da fisiopatologia às perspectivas de uso em pesquisa e na prática clínica Endothelial function and dysfunction: pathophysiology and perspectives for use in research and clinical practice**. **Rev Bras Hipertens**. [S.l.: s.n.], 2011.

HADIPOUR, Elham et al. Biological effects of red beetroot and betalains: A review. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 8, p. 1847–1867, 2020.

KOCH-WESER, Jan; WOOSLEY, Raymond L.; NIES, Alan S. Guanethidine. **New England Journal of Medicine**, v. 295, n. 19, p. 1053–1057, 4 nov. 1976. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM197611042951906>>. Acesso em: 18 jun. 2022.

KRANTZ, C.; MONIER, M.; WAHLSTRÖM, B. Absorption, excretion, metabolism and cardiovascular effects of beetroot extract in the rat. **Food and Cosmetics Toxicology**, v. 18, n. 4, p. 363–366, 1980.

KUSKOSKI, Eugenia Marta et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: Atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciencia Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283–1287, 2006.

LIMA, Klapayron Ridley Bezerra. **UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA MESTRADO EM FITOTECNIA**. 2016. 2016.

LU, Yunxia et al. Protective effects of Danzhi jiangtang capsule on vascular endothelial damages induced by high-fat diet and palmitic acid. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 107, p. 1631–1640, 1 nov. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30257381/>>. Acesso em: 28 set. 2020.

MADADI, Elaheh et al. Therapeutic application of betalains: A review. **Plants**, v. 9, n. 9, p. 1–27, 2020.

MANGGE, Harald et al. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. **World J Cardiol**, v. 6, n. 6, p. 462–477, 2014. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/esps/HelpDesk:http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx>>. Acesso em: 29 abr. 2021.

MARÇAL, D.M.O; MARTINS-OLIVEIRA, A. Hipertensão e disfunção endotelial: papel do estresse oxidativo. **Infarma**, v. 23, n. 3/4, p. 8–13, 2011.

MARTINELLI, Ariane Migliato. Ativação da GCs no endotélio como estratégia para reverter e / ou prevenir a disfunção endotelial Ariane Migliato Martinelli Ativação da GCs no endotélio como estratégia para reverter e / ou prevenir a disfunção endotelial. 2019.

MELO, Monnykhe Lorena de Oliveira. **Avaliação da atividade antioxidante do extrato de beterraba (beta vulgaris) na forma alcoólica e microencapsulada com maltodextrina**. . [S.l: s.n.], 2019.

NIGRO, Dorothy; FORTES, Zuleica Bruno. Efeitos farmacológicos dos diuréticos e dos bloqueadores dos canais de cálcio. **Revista Brasileira de Hipertensão**, PAIVA, Therezinha Bandiera; FARIAS, Nelson Carvalho. Mecanismos da contração do músculo liso vascular. 075 Measuring blood pressure: the importance of understanding variation, v. 12, n. 2, p. 89-92, 2005., v. 12, p. 103–107, 2005. Disponível em: <www.segmentofarma.com.br>.

OCAMPO, Diego A. Bonilla et al. Dietary nitrate from beetroot juice for hypertension: A systematic review. **Biomolecules**, v. 8, n. 4, p. 1–12, 2018.

PIETRZKOWSKI, Zbigniew et al. Influence of betalain rich extract on reduction of discomfort associated with osteoarthritis. **New Medicine**, v. 1, n. January, p. 12–17, 2010. Disponível em: <<http://www.evolvoxygen.com/documents/limitlessbetalainstudy.pdf>>.

POLANCZYK, Carisi Anne. Epidemiologia das Doenças Cardiovasculares no Brasil: A Verdade Escondida nos Números. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 2, p. 161–162, 2020.

RAHIMI, Parisa et al. Betalains, the nature-inspired pigments, in health and diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 18, p. 2949–2978, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1479830>>.

REN, Weiquan et al. The Effect of Chinese Herbal Medicine Combined With Western Medicine on Vascular Endothelial Function in Patients With Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. June, p. 1–22, 2020.

SASSONIA, Rogério Côrte. BETANINA, PARA ALÉM DE UM CORANTE ALIMENTÍCIO. **Ensino e Pesqui. no Campo da Eng. e da Tecnol. Aliment.** [S.l.]: Atena Editora, 2021. p. 37–47. Disponível em: <www.atenaeditora.com.br>. Acesso em: 29 abr. 2021.

SCHULZ, Eberhard; GORI, Tommaso; MÜNZEL, Thomas. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. **Hypertension Research**, v. 34, n. 6, p. 665–673, 2011.

SHAITO, Abdullah et al. Herbal Medicine for Cardiovascular Diseases: Efficacy, Mechanisms, and Safety. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, n. April, p. 1–32, 2020.

SIERVO, Mario et al. The Journal of Nutrition Nutrition and Disease Inorganic Nitrate and Beetroot Juice Supplementation Reduces Blood Pressure in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis 1-3. **J. Nutr.**, v. 143, p. 818–826, 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/143/6/818/4571708>>. Acesso em: 18 jun. 2022.

SILVA, Davi Vieira Teixeira da et al. Betanin as a multipath oxidative stress and inflammation modulator: a beetroot pigment with protective effects on cardiovascular disease pathogenesis. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 2, p. 539–554, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1822277>>.

STORCH, Amanda Sampaio et al. Métodos de Investigação da Função Endotelial : Descrição e suas Aplicações. v. 30, n. 3, p. 262–273, 2017.

SUTARIYA, Brijesh; SARAF, Madhusudan. Betanin, isolated from fruits of *Opuntia elatior* Mill attenuates renal fibrosis in diabetic rats through regulating oxidative stress and TGF- β pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 198, p. 432–443, 2017.

TAKEMOTO, Yasushi et al. Identification of Cyproheptadine as an Inhibitor of SET Domain Containing Lysine Methyltransferase 7/9 (Set7/9) That Regulates Estrogen-Dependent Transcription. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 8, p. 3650–3660, 2016.

TAM, S. William; WORCEL, Manuel; WYLLIE, Michael. Yohimbine: A clinical review. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 91, n. 3, p. 215–243, 2001.

TAN, Dehong et al. Betanin attenuates oxidative stress and inflammatory reaction in kidney of paraquat-treated rat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 78, p. 141–146, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.01.018>>.

TAUBERT, Dirk et al. Nitric oxide formation and corresponding relaxation of porcine coronary arteries induced by plant phenols: Essential structural features. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 40, n. 5, p. 701–713, 2002.

TAWA, Masashi et al. Effect of Betanin, a Beetroot Component, on Vascular Tone in Isolated Porcine Arteries. **American Journal of Hypertension**, v. 33, n. 4, p. 305–309, 1 abr. 2020. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ajh/article/33/4/305/5698285>>. Acesso em: 29 abr. 2021.

TESORIERE, L. et al. Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. **Free Radical Research**, v. 37, n. 6, p. 689–696, 2003.

TONDOLO, Amanda Sagrilo. **CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIBIÓTICA DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS**. 2019. 55 f. 2019.

TSANG, S Y et al. Potentiating Effects on Contractions by Purified Baicalin and Baicalein in the Rat Mesenteric Artery. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 36, n. 2, 2000. Disponível em: <https://journals.lww.com/cardiovascularpharm/Fulltext/2000/08000/Potentiating_Effects_on_Contractions_by_Purified.18.aspx>.

TURAL, Kevser et al. Protective Effects of Betanin against Oxidative Stress in a Peripheral Artery Vasospasm Model in Rat. **Journal of Investigative Surgery**, v. 34, n. 2, p. 208–213, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/08941939.2019.1587555>>.

VOLP, Ana Carolina Pinheiro; RENHE, Isis Rodrigues Toledo; STRINGUETA, Paulo César. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 1, p. 157–166, 2009.

YUGAR-TOLEDO, Juan Carlos et al. Disfunção Endotelial e Hipertensão Arterial. **Rev. bras. hipertens**, v. 22, n. 3, p. 84–92, 2015.

ZABOTTI, CAROLINE; GENEMA, Aziza Kamal. Avaliação do potencial antioxidante do extrato obtido a partir da beterraba vermelha (. p. 195–200, 2013.

ZHANG, Shetuan et al. Mechanism of block and identification of the verapamil binding domain to HERG potassium channels. **Circulation Research**, v. 84, n. 9, p. 989–998, 1999.

ANEXO 1 –Declaração da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Mossoró, 20 de novembro de 2019.

PARECER 38/2019

*Certificamos que o projeto intitulado "ESTUDO DOS EFEITOS DA POLPA DO FRUTO MANDACARU (*Cereus jamacaru*) EM AORTA ISOLADA DE RATOS" protocolo n. 23091.010411/2019-08 sob a responsabilidade de Teresinha Silva de Brito, o qual envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da lei 11.794 de 8 de outubro de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido –UFERSA em reunião de 19/11/2019, mediante resposta satisfatória ao memorando CEUA 07/2019.*

<i>Vigência do projeto</i>	<i>Dezembro de 2019 a março de 2020</i>
<i>Espécie/linhagem</i>	<i>Rattus norvegicus/Wistar</i>
<i>N. de Animais</i>	<i>30</i>
<i>Peso/idade</i>	<i>Adultos</i>
<i>Sexo</i>	<i>Machos</i>
<i>Origem</i>	<i>Biotério da UFC</i>


Emanuelle Fontenele Rabelo

Coordenadora CEUA-UFERSA