

Efeito Vasodilatador Independente do Endotélio Induzido pela Jabuticaba (*M. cauliflora*) em Artérias Isoladas

Jabuticaba-Induced Endothelium-Independent Vasodilating Effect on Isolated Arteries

Daniela Medeiros Lobo de Andrade¹, Leonardo Luis Borges², Ieda Maria Sapateiro Torres¹, Edemilson Cardoso da Conceição², Matheus Lavorenti Rocha¹

Laboratório de Farmacologia Cardiovascular – Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Goiás (UFG)¹; Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás (UFG)²; Goiânia, GO – Brasil

Resumo

Fundamentos: Embora a jabuticaba apresente importantes efeitos biológicos, suas ações sobre o sistema cardiovascular ainda não foram esclarecidas.

Objetivos: Determinar os efeitos do extrato de jabuticaba (EHJ) sobre o músculo liso vascular (MLV) em artérias isoladas.

Métodos: Aortas (sem endotélio) de ratos foram montadas em banho de órgãos isolados para registro de tensão isométrica. Foram verificados o efeito relaxante, a influência dos canais de K⁺ e das fontes de Ca²⁺ intra- e extracelular sob a resposta estimulada pelo EHJ.

Resultados: Artérias pré-contraídas com fenilefrina apresentaram relaxamento concentração-dependente (0,380 a 1,92 mg/mL). O tratamento com bloqueadores de canais de K⁺ (tetraetilamônio, glibenclamida, 4-aminopiridina) prejudicaram o relaxamento pelo EHJ. A contração estimulada com fenilefrina também foi prejudicada pelo tratamento prévio com EHJ. A inibição da Ca²⁺-ATPase do retículo sarcoplasmático não alterou o relaxamento pelo EHJ. Além disso, o EHJ inibiu a contração causada pelo influxo de Ca²⁺ estimulado por fenilefrina e KCl (75 mM).

Conclusão: O EHJ induz vasodilatação independente do endotélio. Ativação dos canais de K⁺ e inibição do influxo de Ca²⁺ através da membrana estão envolvidas no efeito relaxante do EHJ. (Arq Bras Cardiol. 2016; 107(3):223-229)

Palavras-chave: Jabuticaba-Myrciaria Cauliflora; Árvores; Vasodilatação; Canais de Cálcio; Músculo Liso Vascular.

Abstract

Background: Despite the important biological effects of jabuticaba, its actions on the cardiovascular system have not been clarified.

Objectives: To determine the effects of jabuticaba hydroalcoholic extract (JHE) on vascular smooth muscle (VSM) of isolated arteries.

Methods: Endothelium-denuded aortic rings of rats were mounted in isolated organ bath to record isometric tension. The relaxant effect of JHE and the influence of K⁺ channels and Ca²⁺ intra- and extracellular sources on JHE-stimulated response were assessed.

Results: Arteries pre-contracted with phenylephrine showed concentration-dependent relaxation (0.380 to 1.92 mg/mL). Treatment with K⁺ channel blockers (tetraethyl-ammonium, glibenclamide, 4-aminopyridine) hindered relaxation due to JHE. In addition, phenylephrine-stimulated contraction was hindered by previous treatment with JHE. Inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase did not change relaxation due to JHE. In addition, JHE inhibited the contraction caused by Ca²⁺ influx stimulated by phenylephrine and KCl (75 mM).

Conclusion: JHE induces endothelium-independent vasodilation. Activation of K⁺ channels and inhibition of Ca²⁺ influx through the membrane are involved in the JHE relaxant effect. (Arq Bras Cardiol. 2016; 107(3):223-229)

Keywords: Jabuticaba (*Myrciaria Cauliflora*); Trees; Vasodilatation; Calcium Channels; Muscle, Smooth Vascular.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Matheus Lavorenti Rocha •

UFG – Faculdade de Farmácia. Rua 240, esquina com 5ª Avenida, s/n, Setor Leste Universitário. CEP 74605-170, Goiânia, Goiás – Brasil.

E-mail: matheusroch@yahoo.com.br, rochaml@ufg.br

Artigo recebido em 25/11/15; revisado em 04/03/16; aceito em 07/03/16.

DOI: 10.5935/abc.20160118

Introdução

Doenças cardiovasculares são as maiores causas de morte no mundo e, dentre elas, a hipertensão é responsável por 9,4 milhões de mortes por ano.¹ Perto de 1 bilhão de adultos no mundo sofrem de hipertensão e este número aumentará 25% em 10 anos.²

A regulação do tônus vascular é fundamental para o apropriado controle da pressão arterial. A contração e a dilatação dos vasos sanguíneos em resposta às demandas fisiológicas são controladas por mudanças na concentração intracelular de Ca^{2+} nas células do músculo liso vascular (MLV). O aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} ocorre através do influxo desse íon pela membrana plasmática e por liberação de fontes internas de Ca^{2+} , como o retículo sarcoplasmático.^{3,4} Fármacos efetivos para controle da pressão arterial como nifedipina, verapamil e diltiazem, os quais atuam como bloqueadores de canais de Ca^{2+} induzem vasodilatação e reduzem a pressão arterial.⁵

O uso de produtos naturais como possível alternativa para o tratamento da hipertensão tem sido extensivamente estudado, sendo conhecidos por induzir hipotensão com mínimos efeitos colaterais.^{6,7} A jabuticaba é um fruto da família Myrtaceae, amplamente distribuído no Brasil. Ela é consumida in natura, na forma de licores, vinhos, geleias e doces, cujo consumo tem aumentado no Brasil e no exterior.^{8,9} Em adição ao uso da fruta como alimentos e bebidas, a medicina popular usa a jabuticaba para tratar algumas doenças como asma, inflamações, problemas gastrintestinais e distúrbios cardiovasculares.¹⁰ Recentes achados mostram a capacidade da jabuticaba em reduzir o processo oxidativo,¹¹ a hiperglicemia associada à resistência a insulina¹² e a dislipidemia.¹³ Além disso, a espécie tem comprovado efeito hipotensor e vasodilatador dependentes do endotélio vascular, efeitos estes mediados pela via do óxido nítrico.¹⁴

Considerando que a espécie apresenta importantes efeitos biológicos e suas ações sobre o sistema cardiovascular têm sido muito pouco estudadas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a possível ação do extrato de jabuticaba diretamente sobre o MLV, examinando principalmente o efeito da espécie sobre o influxo de Ca^{2+} através da membrana e ativação de canais de K^+ .

Métodos

Preparação do extrato de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*)

As frutas foram doadas pela adegas "Jabuticabal" na cidade de Hidrolândia, GO, Brasil. Uma amostra da espécie foi depositada no herbário do departamento de botânica da Universidade Federal de Goiás (UFG) (n. 21140). As frutas sem as sementes foram secas em estufa de ar circulante, pulverizadas em moinho de facas e passadas por um tamis de malha 60 no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, Faculdade de Farmácia/UFG. O pó obtido foi estocado em $-20^{\circ}C$. Para preparação do extrato, o material seco foi extraído exaustivamente por percolação em solução etanol:água (55:45 v/v) e o extrato obtido foi filtrado e rota-evaporado sob pressão reduzida a $40^{\circ}C$, resultando

no extrato hidroalcoólico de jabuticaba (EHJ) isento de etanol. Após este processo, o EHJ foi mantido em freezer ($-20^{\circ}C$) protegido da luz. No dia dos experimentos, o EHJ foi solubilizado em água destilada numa concentração de 120 mg/mL.

A caracterização e padronização fitoquímica do EHJ mostrou 17,89% de compostos fenólicos, quantificados por método de Hagerman & Butler, adaptado por Mole e Watermen.¹⁵ O EHJ apresentou ácido elágico (marcador fitoquímico, determinado por HPLC-PDA) numa concentração de 0,222%.¹⁴ De acordo com Abe et al.,⁹ o conteúdo total de ácido elágico em frutos de *M. cauliflora* varia de 0,021% a 0,311%. Portanto, a concentração deste marcador fitoquímico no EHJ está de acordo com o conteúdo das frutas.

Animais e preparação das artérias isoladas

Ratos Wistar machos (200-230 g) cedidos pelo biotério central da UFG foram usados neste estudo. Todos os protocolos experimentais foram realizados em conformidade com o Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFG, Goiânia, GO, Brasil (protocolo: 015/2014). Esta investigação está em conformidade com a diretiva da União Europeia para o Cuidado e Uso de Animais de Experimentação (2010/63/UE).

Os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical sob anestesia inalatória. A aorta torácica foi isolada, limpa dos tecidos conjuntivos e gordurosos e cortada em anéis (± 4 mm), que foram montados entre dois ganchos de metal, sendo um deles conectado a um transdutor de força para registro da tensão isométrica (DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA) e o outro fixo à cuba para órgão isolado. Os anéis foram colocados em câmaras para órgãos isolados contendo solução de Krebs modificada com a seguinte composição (em mM): NaCl 130,0; KCl 4,7; KH_2PO_4 1,2; $CaCl_2$ 1,6; $MgSO_4$ 1,2; $NaHCO_3$ 14,9; glicose 5,5; em pH 7,4 sob gaseificação com mistura carbogênica (95% O_2 e 5% CO_2), a $37^{\circ}C$, e mantidas a uma tensão basal de 1 g (tensão de repouso ideal, previamente padronizada em nosso laboratório). Para evitar influência dos fatores derivados do endotélio vascular, as células endoteliais foram removidas mecanicamente pelo atrito da luz do vaso com uma haste fina de metal e a efetividade da remoção foi demonstrada pela ausência de relaxamento à acetilcolina (ACh, 1 μM) em anéis de aorta pré-contraídas com a EC_{50} da fenilefrina (0,1 μM).

Protocolos experimentais

Após 60 min de estabilização em tensão basal (1 g), as artérias foram pré-contraídas com fenilefrina (0,1 μM) e curvas de efeito de relaxamento-concentração cumulativas foram realizadas para o EHJ (0 a 1,92 mg/mL) e para o verapamil, usado como controle interno (10 nM a 100 μM).

Para verificar as vias celulares responsáveis pelo efeito relaxante do EHJ, anéis de aortas foram pré-contraídos com fenilefrina (0,1 μM) 20 min após a incubação com os seguintes agentes: 1) inibidor da Ca^{2+} ATPase do retículo sarcoplasmático, ácido ciclopirozônico (CPA, 10 μM); 2) bloqueador não seletivo dos canais de K^+ , tetraetilamônio (TEA, 1 mM); 3) bloqueador seletivo dos canais de K^+ ativados por voltagem (K_v), 4-aminopiridina (4-AP, 1 mM);

4) bloqueador seletivo dos canais de K^+ dependentes de ATP (K_{ATP}), glibenclâmida ($3 \mu M$); 5) bloqueador dos canais de K^+ ativados pelo Ca^{2+} (K_{Ca}), clotrimazol ($5 \mu M$).

Para avaliar a influência do EHJ na contração induzida por agonista adrenérgico contrátil, foram realizadas curvas concentração-efeito para fenilefrina (agonista $\alpha 1$ -adrenérgico seletivo, $0,1 nM$ até $10 \mu M$) na presença (20 min) ou ausência do EHJ na concentração inibitória 50% (CI_{50} , $0,5 mg/mL$) ou 100% (CI_{100} , $1,92 mg/mL$). O efeito inibitório do bloqueador de canal de Ca^{2+} , verapamil (CI_{50} , $0,3 \mu M$), também foi analisado como controle interno.

Em outra série de experimentos, a ação do EHJ sobre o influxo de Ca^{2+} estimulado por dois diferentes estímulos foi analisada. Para isto, as preparações foram inicialmente contraídas com solução de KCl ($75 mM$) para produção da contração máxima de cada preparação (100% de contração) e então enxaguadas com solução de Krebs sem Ca^{2+} até o relaxamento total. Para esgotamento dos estoques intracelulares de Ca^{2+} , as preparações foram estimuladas para contrair com fenilefrina em solução de Krebs sem Ca^{2+} até o desaparecimento de qualquer resposta contrátil (aproximadamente 5 ou 6 vezes, por 30-50 min). Após isto, as preparações foram enxaguadas várias vezes com Krebs sem Ca^{2+} e então incubadas 20 min com EHJ nas concentrações inibitória 50% (CI_{50} , $0,51 mg/mL$) ou 100% (CI_{100} , $1,92 mg/mL$). O efeito inibitório do bloqueador de canal de Ca^{2+} verapamil (CI_{50} , $0,3 \mu M$) também foi analisado como controle interno. Após incubação, o estímulo contrátil foi aplicado (fenilefrina $0,1 \mu M$ ou KCl $75 mM$) e então realizadas curvas concentração-efeito para $CaCl_2$ (0 a $3,0 mM$).

Análise estatística

Os resultados de tensão isométrica foram expressos como a média \pm erro padrão da média (EPM) de pelo menos cinco experimentos ($n = 5-8$), obtidos de diferentes animais. Os gráficos foram feitos e analisados pelo programa GraphPad Prism (GraphPad Software Corporation, versão 5.0) por ANOVA mais pós-teste de Bonferroni. Foi adotado nível de significância de 5% ($p < 0,05$) para que as diferenças sejam consideradas estatisticamente significativas.

Resultados

Efeito relaxante do EHJ em artérias isoladas

O EHJ causou relaxamento em preparações de artérias sem endotélio de modo dependente da concentração, iniciando o relaxamento na concentração de $0,38 mg/mL$ e alcançando um efeito máximo (E_{max}) de $98,3\% \pm 0,4\%$ ($n = 6$) numa concentração de $1,92 mg/mL$ (CI_{100}) (Figura 1A). A concentração de EHJ que induziu 50% do relaxamento (CI_{50}) foi de $0,51 mg/mL$. Da mesma forma, o verapamil (usado como controle positivo) induziu relaxamento concentração-dependente, com E_{max} de $99,8\% \pm 1,8\%$ ($n = 5$) e CI_{50} de $0,3 \mu M$.

Efeito do EHJ sobre a contração induzida por fenilefrina

O valor de E_{max} para fenilefrina ($142,1\% \pm 7,1\%$, $n = 6$) foi significativamente ($p < 0,001$) reduzido para $88,7\% \pm 6,2\%$

($n = 5$), $66,1\% \pm 5,1\%$ ($n = 6$) e $79,9\% \pm 5,5\%$ ($n = 5$) após incubação com a CI_{50} e a CI_{100} do EHJ ou verapamil, respectivamente. A adição do EHJ com a CI_{50} e a CI_{100} do EHJ ou verapamil significativamente aumentou os valores de pD_2 ($-\log$ da EC_{50}) da fenilefrina de $6,24 \pm 0,09$ para $5,35 \pm 0,04$, $5,14 \pm 0,09$ e $5,68 \pm 0,07$, respectivamente (Figura 2).

Efeito do EHJ sobre a contração induzida por influxo de Ca^{2+} em preparações estimuladas com fenilefrina ou KCl

A contração induzida por influxo de Ca^{2+} estimulada por fenilefrina, a pré-incubação com EHJ (CI_{50} ou CI_{100}) reduziu significativamente ($p < 0,001$) os valores de E_{max} de $106,8\% \pm 7,5\%$ ($n = 5$) para $58,8\% \pm 4,9\%$ ($n = 6$) e $34,5\% \pm 3,2\%$ ($n = 6$), respectivamente. O tratamento com verapamil também reduziu significativamente ($p < 0,001$) a contração para $7,1\% \pm 1,1\%$ ($n = 5$) (Figura 3A).

Como mostrado na Figura 3B, a contração induzida por influxo de Ca^{2+} estimulada por KCl $75 mM$, a pré-incubação com EHJ (CI_{50} ou CI_{100}) reduziu significativamente ($p < 0,001$) os valores de E_{max} de $108,8\% \pm 4,3\%$ ($n = 5$) para $63,8\% \pm 6,1\%$ ($n = 6$) e $14,6\% \pm 1,9\%$ ($n = 6$), respectivamente. O tratamento com verapamil também reduziu significativamente ($p < 0,001$) a contração para $15,5\% \pm 1,1\%$ ($n = 6$).

Efeito do inibidor da Ca^{2+} ATPase reticular, CPA, e dos bloqueadores de canais de K^+ sobre o relaxamento induzido pelo EHJ

O tratamento com CPA não alterou o relaxamento estimulado pelo EHJ ($93,8\% \pm 4,6\%$, $n = 6$) em artérias isoladas (Figura 4). Dessa forma, o EHJ não altera a captação interna de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático para induzir o relaxamento vascular.

Como mostrado na Figura 5, com exceção do clotrimazol ($94,1\% \pm 4,5\%$, $n = 5$), os bloqueadores de canais de K^+ alteraram o relaxamento induzido pelo EHJ. O relaxamento induzido pelo EHJ (E_{max} : $98,3\% \pm 0,4\%$, $n = 6$) foi significativamente ($p < 0,05$) reduzido por TEA (E_{max} : $87,6\% \pm 5,7\%$, $n=5$), glibenclâmida (E_{max} : $61,6\% \pm 5,8\%$, $n=6$) e 4-AP (E_{max} : $81,6\% \pm 5,9\%$, $n=5$). Os resultados mostram que o relaxamento induzido pelo EHJ depende do efluxo de íons K^+ através da membrana.

Discussão

O maior achado deste trabalho é que o EHJ, além de apresentar efeito hipotensor e induzir relaxamento vascular por via do óxido nítrico endotelial, como já mostrado por nós anteriormente,¹⁴ age diretamente sobre o MLV e leva ao relaxamento independente do endotélio. Dessa forma, fica claro que a jabuticaba exerce efeitos cardiovasculares através de múltiplas vias dependentes e independentes do endotélio vascular. Cabe notar que a concentração do EHJ capaz de induzir 100% de relaxamento vascular por via endotelial é aproximadamente 16 vezes menor ($0,12 mg/mL$)¹⁴ que a concentração necessária para induzir 100% de relaxamento agindo diretamente sobre o MLV ($1,92 mg/mL$).

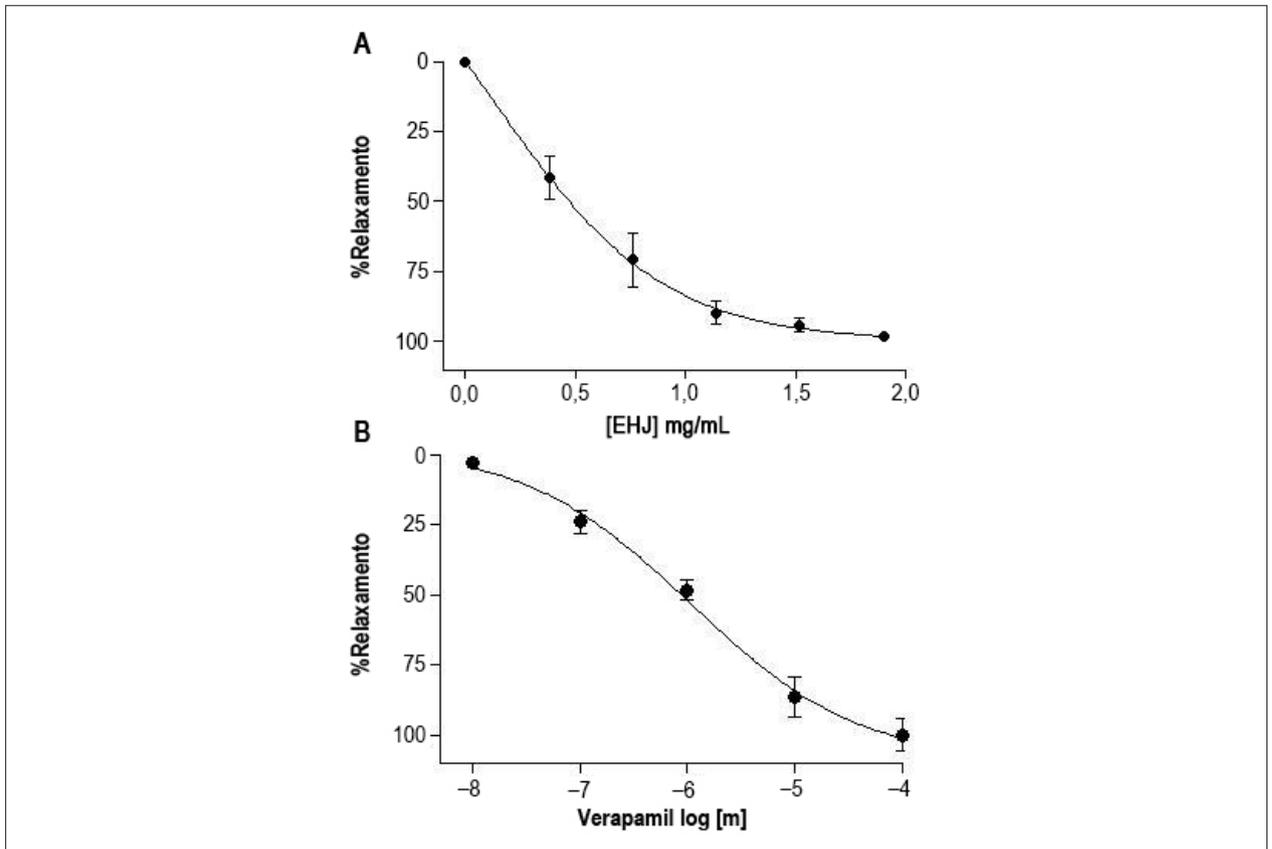


Figura 1 – Curvas concentração-resposta cumulativas do extrato hidroalcoólico de jaboticaba (EHJ) (A) e do verapamil (B) em artérias isoladas sem endotélio. Os pontos representam a média \pm EPM do efeito relaxante expressos em % de relaxamento.

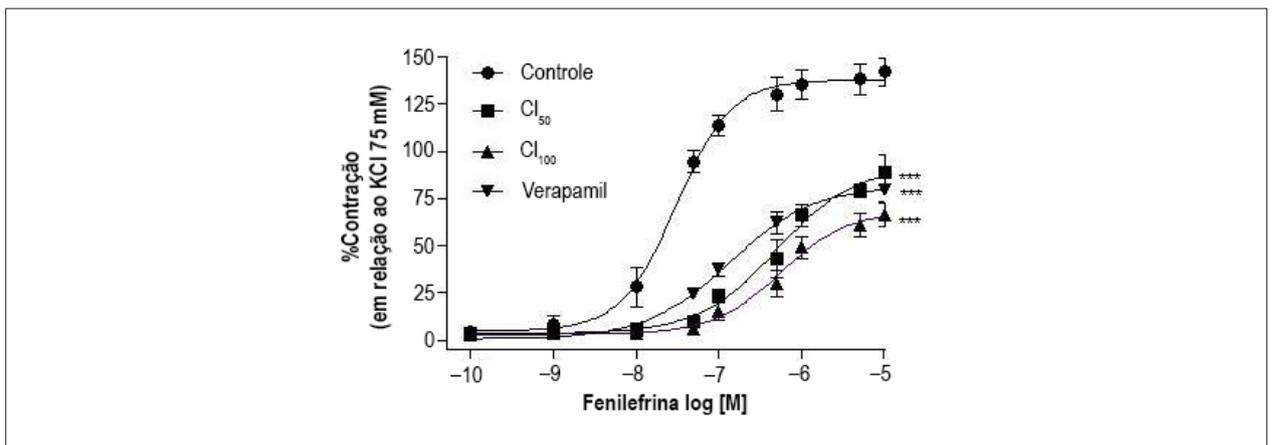


Figura 2 – Efeito do extrato hidroalcoólico de jaboticaba (EHJ) e do verapamil sobre a contração induzida por fenilefrina em artérias isoladas sem endotélio. As curvas concentração-resposta cumulativas foram realizadas em condições controle ou após incubação (20 min) com EHJ (Cl₅₀: 0,51 ou Cl₁₀₀: 1,92 mg/mL) ou verapamil (Cl₅₀: 0,3 μ M). Os pontos representam a média \pm EPM do efeito contrátil expresso em % de contração em relação à contração total induzida por KCl (75 mM). Diferença significativa: *** $p < 0,001$ vs. Controle.

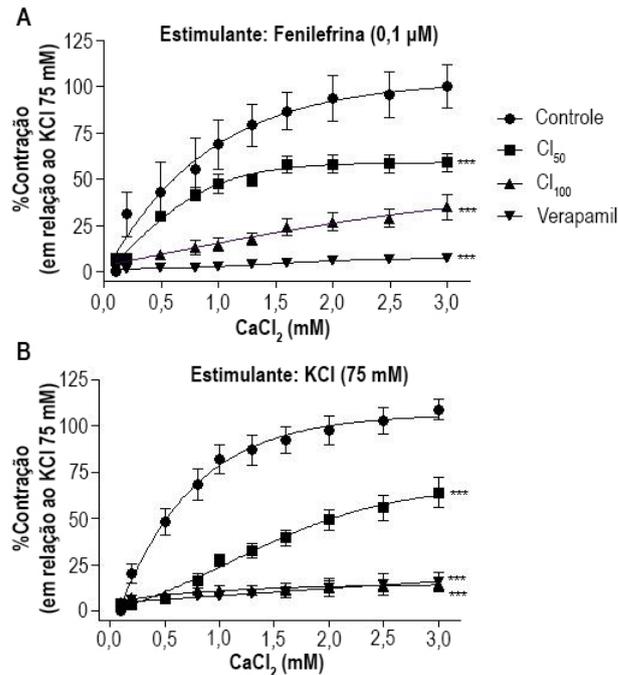


Figura 3 – Efeito do extrato hidroalcoólico de jabuticaba (EHJ) e do verapamil sobre a resposta contrátil em artérias isoladas sem endotélio. As curvas concentração-resposta cumulativas para CaCl₂ foram estimuladas por fenilefrina (0,1 µM) (A) ou KCl 75 mM (B) em condições controle ou após incubação (20 min) com EHJ (CI₅₀: 0,51 ou CI₁₀₀: 1,92 mg/mL) ou verapamil (CI₅₀: 0,3 µM). Os pontos representam a média ± EPM do efeito contrátil expresso em % de contração em relação à contração total induzida por KCl (75 mM). Diferença significativa: *** p < 0,001 vs. Controle.

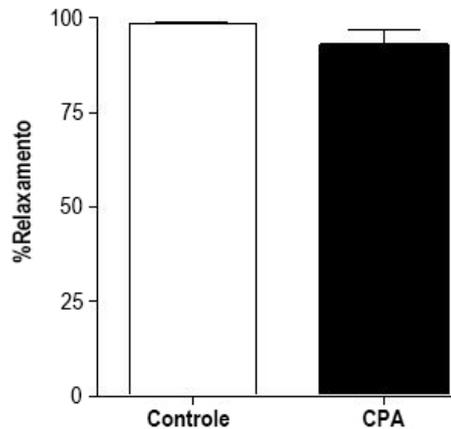


Figura 4 – Efeito relaxante máximo induzido pelo extrato hidroalcoólico de jabuticaba (EHJ) em artérias isoladas pré-contraídas com fenilefrina (0,1 µM) na ausência ou presença (20 min) do inibidor da Ca²⁺ ATPase reticular, ácido ciclopiazônico (CPA - 10 µM). As barras representam a média ± EPM do efeito relaxante máximo expresso em % de relaxamento.

A contração e o relaxamento dos vasos sanguíneos em resposta às demandas fisiológicas são controlados por mudanças na concentração de Ca²⁺ intracelular do MLV. O Ca²⁺ usado para contração inclui fontes intracelulares, extracelulares ou ambas. O retículo sarcoplasmático é a principal fonte de Ca²⁺ intracelular.¹⁶ Nossos experimentos

demonstram que o EHJ não altera a captação de Ca²⁺ pelo retículo sarcoplasmático, uma vez que seu inibidor seletivo CPA não alterou o perfil do relaxamento.

Canais de Ca²⁺ voltagem-dependente (CCVD), também conhecidos como canais de Ca²⁺ do tipo L, e os canais de Ca²⁺ operados por receptor (CCOR) localizados na membrana

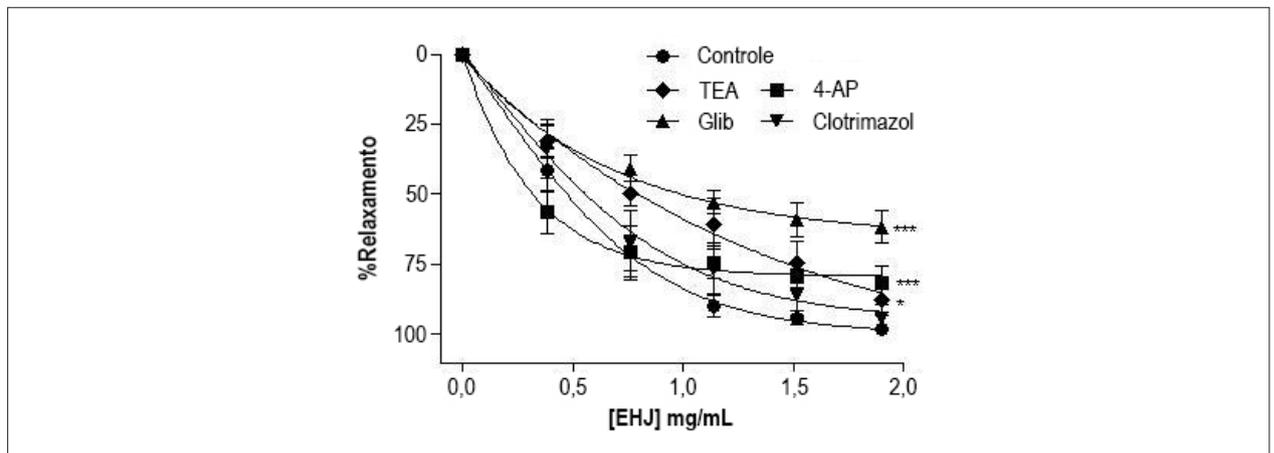


Figura 5 – Efeitos dos bloqueadores de canais de K^+ sobre o relaxamento induzido pelo extrato hidroalcoólico de jabuticaba (EHJ) em artérias isoladas pré-contraídas com fenilefrina ($0,1 \mu\text{M}$) na ausência ou presença (20 min) dos bloqueadores tetraetilamônio (TEA, 1 mM), glibenclamida (Glib, $3 \mu\text{M}$), clotrimazol ($5 \mu\text{M}$) e 4-aminopiridina (4-AP, 1 mM). Os pontos representam a média \pm EPM do efeito relaxante expresso em % de relaxamento. Diferença significativa: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ vs. Controle.

plasmática das células do MLV desempenham um papel fundamental no controle do influxo de Ca^{2+} .^{17,18} A contração induzida pela fenilefrina é mediada por aumento no influxo de Ca^{2+} via CCDV e CCOR.^{19,20} Porém, a contração induzida pela despolarização de membrana, como ocorre em altas concentrações de KCl, ativa preferencialmente CCVD.²¹ Os presentes resultados mostram que o tratamento das artérias com EHJ inibe a contração vascular induzida pelo estímulo adrenérgico com fenilefrina, o que sugere que o EHJ bloqueia o influxo de Ca^{2+} por interferir com CCVD e/ou CCOR.

Na tentativa de esclarecer o mecanismo celular pelo qual EHJ induz o relaxamento vascular, experimentos foram feitos em solução sem Ca^{2+} . Foram usados dois estímulos diferentes para induzir o influxo de Ca^{2+} , fenilefrina e KCl (75 mM). O EHJ, assim como o verapamil, usado como controle positivo, inibiu a contração induzida pelo influxo de Ca^{2+} mediado por ambos os estímulos. Como a despolarização de membrana com altas concentrações de K^+ ativa especificamente CCVD, sugerimos que o EHJ direta ou indiretamente atue bloqueando o influxo de Ca^{2+} através da membrana plasmática, agindo preferencialmente no CCVD.

Produtos naturais têm constantemente demonstrado o envolvimento de canais de K^+ no seu mecanismo de vasodilatação.²² Vários tipos de canais de K^+ estão presentes no MLV, incluindo canais de K^+ sensíveis ao ATP (K_{ATP}), canais de K^+ ativados por Ca^{2+} (K_{Ca}) e dependentes da voltagem (K_v).^{23,24} Esses canais podem ser bloqueados por glibenclamida, clotrimazol e 4-AP, respectivamente.^{24,25} O TEA é um bloqueador não seletivo desses canais. Quando são ativados, esses canais permitem o efluxo de K^+ , hiperpolarizando a membrana plasmática do MLV. Isso reduz o influxo de Ca^{2+} através dos CCVD e induz vasodilatação.^{26,27} O presente estudo mostra que o relaxamento induzido pelo EHJ em artérias sem endotélio é prejudicado após o bloqueio dos canais de K^+ . Exceto o clotrimazol, os outros bloqueadores prejudicaram o relaxamento vascular, o que permite relacionar sua ativação ao efeito do EHJ.

Nossos resultados apontam um novo efeito biológico da jabuticaba, espécie nativa do Brasil e que apresenta importantes efeitos biológicos já relatados sobre o sistema cardiovascular como hipoglicemiante,¹² antilipidêmico¹³ e hipotensor.¹⁴ Portanto, os efeitos biológicos induzidos pela jabuticaba mostrados em nosso trabalho contribuirão para o conhecimento sobre compostos derivados dessa espécie e seu uso como planta medicinal ou alimento funcional aliado à prevenção de problemas cardiovasculares.

Conclusão

O presente estudo demonstra que o EHJ induz vasodilatação de forma independente do endotélio vascular. As principais vias celulares utilizadas pelo EHJ para causar o relaxamento vascular são a inibição do influxo de Ca^{2+} através da membrana plasmática além da ativação de canais de K^+ das células do MLV.

Agradecimentos

A Pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), processo 201310267000013. O CNPq concedeu a bolsa de mestrado para Daniela L. M. de Andrade.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Andrade DML, Borges LL, Torres IMS, Conceição EC, Rocha ML; Obtenção de dados: Andrade DML, Borges LL, Conceição EC, Rocha ML; Análise e interpretação dos dados: Andrade DML, Torres IMS, Conceição EC, Rocha ML; Análise estatística: Andrade DML, Rocha ML; Obtenção de financiamento: Rocha ML; Redação do manuscrito: Andrade DML, Torres IMS, Rocha ML; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Andrade DML, Borges LL, Conceição EC, Rocha ML.

Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado pela FAPEG/GO.

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de Dissertação de Mestrado de Daniela Medeiros Lobo Andrade pela Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Goiás.

Referências

1. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2224–60. Erratum in: *Lancet*. 2013;381(9867):628, *Lancet*. 2013;381(9874):1276.
2. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365(9455):217–23.
3. Carafoli E. Intracellular calcium homeostasis. *Annu Rev Biochem*. 1987;56:395–433.
4. Somlyo AV, Bond M, Somlyo AP, Scarpa A. Inositol trisphosphate-induced calcium release and contraction in vascular smooth muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82(15):5231–5.
5. Baker EH. Ion channels and the control of blood pressure. *Br J Clin Pharmacol*. 2000;49(3):185–98.
6. Greenway F, Liu Z, Yu Y, Gupta A. A clinical trial testing the safety and efficacy of a Standardized *Eucommia ulmoides* oliver bark extract to treat hypertension. *Altern Med Rev*. 2011;16(4):338–47.
7. Chan P, Tomlinson B, Chen YJ, Liu JC, Hsieh MH, Cheng JT. A double-blind placebo-controlled study of the effectiveness and tolerability of oral stevioside in human hypertension. *Br J Clin Pharmacol*. 2000;50(3):215–20.
8. Fortes GA, Naves SS, Godoi FF, Duarte AR, Ferri PH, Santos SC. Assessment of a maturity index in jaboticaba fruit by the evaluation of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity. *Am J Food Technol*. 2011;6(11):974–84.
9. Abe LT, Lajolo FM, Genovese MI. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). *J Sci Food Agric*. 2012;92(8):1679–87.
10. Giraldo M, Hanazaki N. Use and traditional knowledge of medicinal plants at Sertão do Ribeirão, Florianópolis, Santa Catarina State, Brazil. *Acta Bot Bras*. 2010;24(2):395–406.
11. Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile MJ, Kennelly EJ. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chem*. 2008;109(4):883–908.
12. Dragano NR, Marques AY, Cintra DE, Solon C, Morari J, Leite-Legatti AV, et al. Freeze-dried jaboticaba peel powder improves insulin sensitivity in high-fat-fed mice. *Br J Nutr*. 2013;110(3):447–55.
13. Araújo CR, Esteves EA, Dessimoni-Pinto NA, Batista AG. *Myrciaria cauliflora* peel flour had a hypolipidemic effect in rats fed a moderately high-fat diet. *J Med Food*. 2014;17(2):262–7.
14. Lobo de Andrade DM, Reis CF, Castro PF, Borges LL, Amaral NO, Torres IM, et al. Vasorelaxant and Hypotensive Effects of Jaboticaba Fruit (*Myrciaria cauliflora*) Extract in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:696135.
15. Mole S, Waterman PG. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies-II. Techniques for biochemically defining tannins. *Oecologia*. 1987;72(1):148–56.
16. Thomas AP, Bird GS, Hajoczky G, Robb-Gaspers LD, Putney JW Jr. Spatial and temporal aspects of cellular calcium signaling. *FASEB J*. 1996;10(13):1505–17.
17. Berridge MJ. Cell signalling: a tale of two messengers. *Nature*. 1993;365(6445):388–9.
18. Hess P. Calcium channels in vertebrate cells. *Annu Rev Neurosci*. 1990;13:337–56.
19. Wesselman JP, VanBavel E, Pfaffendorf M, Spaan JA. Voltage-operated calcium channels are essential for the myogenic responsiveness of cannulated rat mesenteric small arteries. *J Vasc Res*. 1996;33:32–41.
20. Lee CH, Poburko D, Sahota P, Sandhu J, Ruelhmann DO, van Breemen C. The mechanism of phenylephrine-mediated $[Ca^{2+}]_i$ oscillations underlying tonic contraction in the rabbit inferior vena cava. *J Physiol*. 2001;534(Pt 3):641–50.
21. Kochegarov AA. Pharmacological modulators of voltage-gated calcium channels and their therapeutic application. *Cell Calcium*. 2003;33(3):145–62.
22. McNeill JR, Jurgens TM. A systematic review of mechanisms by which natural products of plant origin evoke vasodilatation. *Can J Physiol Pharmacol*. 2006;84(8–9):803–21.
23. Ko EA, Han J, Jung ID, Park WS. Physiological roles of K^+ channels in vascular smooth muscle cells. *J Smooth Muscle Res*. 2008;44(2):65–81.
24. Ferrer M, Marin J, Encabo A, Alonso MJ, Balfagon G. Role of K^+ channels and sodium pump in the vasodilation induced by acetylcholine, nitric oxide, and cyclic GMP in the rabbit aorta. *Gen Pharmacol*. 1999;33(1):35–41.
25. Wulff H, Miller MJ, Hansel W, Grissmer S, Cahalan MD, Chandy KG. Design of a potent and selective inhibitor of the intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel, IK_{Ca1} : a potential immunosuppressant. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(14):8151–6.
26. Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *Am J Physiol*. 1995;268(4 Pt 1):C799–822.
27. Ledoux J, Werner ME, Brayden JE, Nelson MT. Calcium activated potassium channels and the regulation of vascular tone. *Physiology (Bethesda)*. 2006;21:69–78.