



A TÉCNICA DE BANHO DE ÓRGÃO ISOLADO PARA ESTUDOS FARMACOLÓGICOS

ISOLATED ORGAN BATH TECHNIQUE FOR PHARMACOLOGICAL STUDIES

Diego Castro Musial ⁽¹⁾

Department of Pharmacology, Federal University of São Paulo, 04044-020 São Paulo, Brazil

Edilson Dantas da Silva Junior ⁽²⁾

Monash University, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Drug Discovery Biology, 381 Royal Parade, Melbourne, - Australia Corresponding author. Tel./fax: +55 11 5576 4443. E-mail address: silva.junior@unifesp.br

RESUMO

Como é percebido na literatura, existem inúmeras técnicas que podem ser empregadas na farmacologia, contudo, o banho de órgão isolado é uma técnica que produz condições fisiológicas *in vitro*, permitindo verificar a ação de determinadas moléculas, como neurotransmissores, e a funcionalidade de seus receptores em condições fisiológicas e patológicas. A partir dessa metodologia foram descobertas moléculas que revolucionaram o conhecimento médico, como o óxido nítrico. Atualmente, técnicas mais sofisticadas estão sendo desenvolvidas visando o entendimento de processos moleculares. No entanto, é necessário integrar essas novas metodologias com técnicas tradicionais, para assim obter resultados mais confiáveis no campo da farmacologia.

Palavras-Chave: banho de órgão isolado; farmacologia; técnicas em farmacologia.

ABSTRACT

Nowadays, there are several techniques which are employed in pharmacological studies. The isolated organ bath is a technique that produces physiological conditions *in vitro*, allowing to study the effects of several molecules, such as neurotransmitters, and their receptors in physiological and pathological conditions. By this methodology, molecules which revolutionized the medical knowledge were discovered, for example the nitric oxide. Currently, more sophisticated techniques have been developed aiming to understand molecular processes. It is necessary to supplement these new techniques with traditional methods, in order to obtain more reliable results in pharmacological sciences.

Keywords: isolated organ bath; pharmacology; pharmacological techniques.

INTRODUÇÃO

O estudo farmacológico é de suma importância, pois a partir deste pode-se traçar novas estratégias farmacológicas, atenuando as mais variadas disfunções em condições patológicas. Uma das metodologias clássicas amplamente empregadas no passado e atualmente pela

farmacologia experimental é o banho de órgão isolado.

O banho de órgão isolado é uma técnica que produz condições fisiológicas *in vitro* (aeração, temperatura e nutrientes) para o estudo dos eventos pré e pós-sinápticos relacionados à neurotransmissão de músculos liso, cardíaco e esquelético. Esta técnica é composta por uma aparelhagem que consiste em uma cuba de vidro, a qual em seu interior se encontra a câmara muscular, com capacidade variável

(geralmente entre 5 e 50 mL), sendo conectada a uma serpentina helicoidal, por onde se desloca o líquido nutritivo. Esta serpentina helicoidal permanece banhada com água aquecida, impulsionada por uma bomba de circulação localizada em um banho-maria equipado com termostato (1).

Para a obtenção de contrações isométricas, o tecido é mantido dentro da câmara muscular. Uma de suas extremidades é fixada em uma haste de vidro conectada a uma bomba de aquário e a outra, por meio de uma linha de algodão, a um transdutor de força. As mudanças de tensão podem ser registradas em miógrafos (quimógrafos, fisiógrafos ou sistemas de aquisição digital). Quando se deseja obter registros com contrações neurogênicas (estimulação elétrica), o órgão é fixado entre dois eletrodos de platina conectados a um estimulador elétrico (2).

Tradicionalmente, o banho de órgão isolado é usado em experimentos (dose resposta, contrações neurogênicas) *in vitro* para investigar a fisiologia e a farmacologia de preparações de várias espécies (coelho, rato, camundongo e cobaia). Tecidos ou órgãos são usados para estes estudos, como: anéis ou tiras de artérias e veias, átrio, ventrículo ou músculo papilar, cápsula de testículo, diafragma, ducto deferente, *fundus* de estômago, intestino (duodeno, jejuno e íleo), traqueia, útero e vesícula seminal (3-6).

As respostas obtidas por esta técnica incluem a contração ou relaxamento do músculo em estudo. Desta maneira, as respostas obtidas são registradas em um miógrafo, o qual registra a intensidade e a cinética dos diferentes estágios da contração (velocidade, frequência ou decaimento). O tecido muscular, obrigatoriamente, precisa estar conectado a um transdutor de força que converte a tração desenvolvida pelo tecido em um sinal mecânico (quimógrafo) ou elétrico (fisiógrafo ou sistemas de aquisição digital) (1-6).

O banho de órgão isolado possui inúmeras vantagens: preparação relativamente simples, permitindo múltiplas preparações simultaneamente; uso de uma solução de composição conhecida e temperatura controlada; a estimulação da preparação pode ser obtida por estimulação elétrica, por meio de eletrodos no banho de órgãos ou exposição direta aos agonistas; quantificação precisa da resposta; ausência

de fenômenos reflexos e farmacocinéticos (7).

No entanto, esta técnica possui algumas desvantagens que incluem a necessidade de tamanho relativamente grande do tecido utilizado (> 1 mm de diâmetro), o que pode resultar em pontos de hipóxia. Tal fato pode dificultar a avaliação de variáveis específicas que exigem menores preparações, como por exemplo, efeito de fármacos com difusão limitada onde a resposta obtida nem sempre pode ser extrapolada para todo organismo (8,9).

No início do desenvolvimento das técnicas farmacológicas, verificou-se que um órgão ou tecido isolado mantinha-se funcional durante várias horas em um banho contendo uma solução fisiológica de sais aerada com oxigênio. Henrick Magnus (1802-1870) aplicou pela primeira vez este método com tiras de intestino delgado. Jean-François Heymans (1904), por sua vez, trabalhou com o coração de mamíferos e John Langley experimentou preparações de músculo esquelético isolado (10, 11). Somado a isto, esta técnica foi empregada em inúmeras descobertas farmacológicas de magnitude considerável, como o Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina de 1998, que foi atribuído a Ferid Murad, a Robert F. Furchgott e a Louis Ignarro, pela descoberta das propriedades sinalizadoras do óxido nítrico. Esta descoberta foi baseada em estudos de banho de órgão isolado com aorta isolada que permitiu a descoberta do fator relaxante derivado do endotélio (12).

Apesar do desenvolvimento de técnicas mais sofisticadas utilizando células isoladas (microscopia de fluorescência ou confocal, transferência de energia de ressonância de bioluminescência etc) ou que visam o entendimento molecular (imunoprecipitação, reação em cadeia da polimerase, hibridização *in situ* etc), o banho de órgão isolado ainda é uma metodologia bastante utilizada, tendo participação em inúmeras publicações de relevância internacional (13 – 16).

Contudo, a medicina está evoluindo e novas técnicas estão surgindo com o objetivo de acompanhar a evolução da ciência e responder perguntas pertinentes a fim de descobrir novos alvos farmacológicos. Para tanto, é necessário combinar além do banho de órgão isolado, outras ferramentas e metodologias farmacológicas (citadas

acima), tendo assim maior credibilidade e

consistência nos resultados apresentados.

REFERÊNCIAS

- (1) SILVA JÚNIOR, E.D. **Estudo da Neurotransmissão periférica na musculatura lisa de ducto deferente de ratos periadolescentes tratado agudamente com uma dose simples e combinada de anfetamina e etanol.** Dissertação. 2011. (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2011.
- (2) SILVA JÚNIOR, E.D. et al. Functional antagonism of amphetamine versus ethanol on adrenergic neurotransmission in vas deferens of adolescent rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 674, p.415-421, 2012.
- (3) JURKIEWICZ, A.; JURKIEWICZ, N.H. Dual effect of alpha-adrenoceptor antagonists in rat isolated vas deferens. **British Journal of Pharmacology**, v. 56, n. 2, p.169-78, 1976.
- (4) SMAILI, S.S. et al. M3 Receptor Mobilizes Intracellular Calcium In Rat Stomach Fundus. **Annals of the New York Academy of Sciences USA**, v. 812, p. 300-304, 1997.
- (5) JURKIEWICZ, N.H. et al. Sympathetic neurotransmission in the rat testicular capsule: functional characterization and identification of mRNA encoding α 1-adrenoceptor subtypes. **European Journal of Pharmacology**. v.453, p.141-150, 2006.
- (6) TAHA, M.O. et al. Role of L-arginine (ARG), a substrate of nitric oxide biosynthesis, on intestinal ischemia/reperfusion in rabbits. **Transplantation Proceedings**, v. 42, p. 458-450, 2010.
- (7) FRY C.H. Experimental models to study the physiology, pathophysiology, and pharmacology of the lower urinary tract. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 49, n.3, p. 201-10, 2004.
- (8) GLERUM, J.J.; VAN MASTRIGT, R. Mechanical properties of mammalian single smooth muscle cells. I. A low cost large range microforce transducer. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**. v. 11, n. 4, p. 331-7, 1990.
- (9) WAGG, A.; FRY, C.H. Visco-elastic properties of isolated detrusor smooth muscle. **Scandinavian Journal of Urology and Nephrology**, v. 201, p. 12-8, 1999.
- (10) PADMANABHAN, S. Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine. San Diego: Academic Press, 2014.
- (11) LANGLEY, J.N. The antagonism of curari and nicotine in skeletal muscle. **Journal of Physiology**, v. 48, p. 73–108, 1914.
- (12) FURCHGOTT, R.F.; ZAWADZKI, J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**. 1980 v. 288, p. 373-376.
- (13) MUSIAL, D.C. et al. Increase of angiotensin-converting enzyme activity and peripheral sympathetic dysfunction could contribute to hypertension development in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes and Vascular Disease Research**, v. 10, p. 498-504, 2013.
- (14) WHITE, C.W. et al. Male contraception via simultaneous knockout of α 1A-adrenoceptors and P2X1-purinoceptors in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 20825-20830, 2013.
- (15) BOMFIM, G.H.S. et al. Functional effects of alcohol withdrawal syndrome on peripheral sympathetic neurotransmission in vas deferens of adult rats. **Life Sciences (1973)**, v. 2, p. 34-43, 2014.
- (16) DA SILVA JÚNIOR, E.D. et al. Epididymal contraction and sperm parameters are affected by clonidine. **Andrology**, v. 2, p. 955-66, 2014.