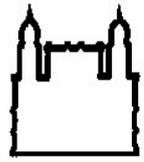




UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

TESE DE DOUTORADO

**EFEITO VASCULAR E CENTRAL DO CARVACROL
NA HIPOTENSÃO E NA INIBIÇÃO DO APETITE POR SÓDIO EM
RATOS.**

ÁTILA DOS SANTOS BATISTA

Salvador-Bahia

2017

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana

**EFEITO VASCULAR E CENTRAL DO CARVACROL
NA HIPOTENSÃO E NA INIBIÇÃO DO APETITE POR SÓDIO EM
RATOS.**

ÁTILA DOS SANTOS BATISTA

Orientadora: Prof^a Dr.^a Josmara Bartolomei Fregoneze

Tese apresentada ao Curso
de Pós-Graduação em
Patologia Humana, para
obtenção do grau de Doutor.

Salvador-Bahia

2017

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Batista, Átila dos Santos.

B333eEfeito vascular e central do carvacrol na hipotensão e na inibição do apetite por
sódio em ratos. / Átila dos Santos Batista. - 2017.

105 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof^oDr.^aJosmaraBartolomeiFregoneze, Laboratório de Neurociências

Tese (Doutorado em Patologia Humana). – Universidade Federal da Bahia.
Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, 2017.

1. Carvacrol. 2. Hipertensão. 3. Equilíbrio Hidroeletrólítico. I. Título.

CDU 616.12-008

Título da Tese: " ESTUDO DO EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO CENTRAL E VASCULAR DO CARVACROL SOBRE A INGESTÃO DE ÁGUA E SAL E SOBRE A PRESSÃO SANGÜINEA EM RATOS"

ÁTILA DOS SANTOS BATISTA

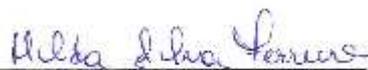
FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 19 de maio de 2017

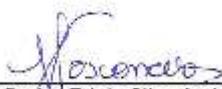
COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Cristiane Flora Villarreal
Professora Associada
UFBA



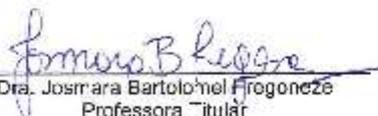
Dra. Hilda Silva Ferreira
Professor Titular
UFBA



Dra. Dany Fátima Silva A. de Vasconcelos
Professora
UFBA



Dr. Fabio Rocha Formiga
Pesquisador
IGM/Fiocruz



Dra. Josimara Bartolomei Frogonese
Professora Titular
UFBA

FONTES DE FINANCIAMENTO

FAPESB

CNPq

Dedicatória
Num mundo que se faz deserto,
Temos sede de encontrar um amigo
Assim escreveu Antoine de Saint-Exupéry
Por isso com muita gratidão a Deus por sua existência dedico esta
Tese a você Jamaicon Cavalcante

AGRADECIMENTO

“Que darei eu ao SENHOR por todos os benefícios que me tem feito?” (Salmo 116.12). A Bíblia não descreve se foi Davi que escrevera este verso, mas mesmo sem saber exatamente o autor deste lindo verso eu o uso para descrever minha alegria pelo auxílio constante do meu bondoso Deus ao longo desses 4 anos de doutorado, pois como dissera Sara diante do nascimento de Isaque: “Deus me deu um grande motivo para sorrir, e todos os que souberem desta história muito se alegrarão comigo!”

Agradeço também:

Aos meus pais, Antonio Carlos e Roselita Batista, que com grande sabedoria me ensinaram a viver e principalmente a ser humilde em todas as circunstâncias sejam na vitória ou na perda.

Aos meus irmãos Julimar e Antonio Carlos Batista Junior pelo grande apoio, mesmo quando nem abriam os seus lábios ou até mesmo quando expressavam

Aos meus amigos da pós graduação: Andrei, Daniela, Diana e Lucinez

Aos amigos do LAFPEC

A minha grande amiga e professora Rejane.

A professora Hilda pela sua preciosa atenção.

Aos queridos alunos “emprestados” da iniciação científica: Camila, Francine, Isabela, Lusiene, Naiara e Taiane

Ao nosso grande bioterista, seu Zé, excelente em tudo principalmente na culinária, rrsr.

Aos meus queridos professores desde o jardim de infância à pós-graduação.

Aos meus alunos das faculdades em que lecionei e ainda leciono

Aos ratinhos, sementes desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

A todos os funcionários da FIOCRUZ, principalmente a bibliotecária Ana Maria Fiscina Vaz Sampaio, que com muita dedicação auxiliou também na construção desta tese.

E principalmente, a grande orientadora Josmara Fregoneze não tenho palavras para descrever o quanto sou grata a Deus pela senhora, porque realmente tiveste muita paciência comigo “ Átila fica dando mil aulas”, mas muito obrigada por entender o meu lado e me ajudar a ser melhor do que eu mesma a cada dia. Nunca esquecerei de cada ensinamento da senhora.

Muito Obrigada!

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.”

John Ruskin

BATISTA, Átila dos Santos. Efeito vascular e central do carvacrol na hipotensão e na inibição do apetite por sódio em ratos. 105 f. il. Tese (Doutorado em Patologia Humana). Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Gonçalo Moniz, Salvador, 2017.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A hipertensão arterial tem sido considerada como sendo a principal causa da redução da qualidade e expectativa de vida dos indivíduos por ser importante fator de risco para doenças que envolvem a aterosclerose e a trombose com consequente acometimento cardíaco, cerebral, renal e vascular. Estudos têm demonstrado a ação dos monoterpenos em diferentes atividades farmacológicas, entre elas sobre o sistema cardiovascular. Foi observado que o carvacrol, um monoterpeno característico da família Labiateae, apresenta ação hipotensora em ratos Wistar anestesiados tratados previamente com L-NAME e em ratos não anestesiados. **OBJETIVOS:** a) avaliar a ação periférica do carvacrol na pressão arterial e na frequência cardíaca em animais com hipertensão arterial vascular; b) avaliar a ação periférica do carvacrol na pressão arterial e na frequência cardíaca em ratos com hipertensão renovascular; c) avaliar a ação periférica do carvacrol sobre a pressão arterial e a frequência cardíaca em ratos espontaneamente hipertensos; d) avaliar a ação central do carvacrol sobre a pressão arterial e a frequência cardíaca em animais espontaneamente hipertensos; e) avaliar a ação central do carvacrol no apetite por sódio em animais espontaneamente hipertensos. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram utilizados ratos Wistar (200-250g) e ratos com hipertensão espontânea (13-16 semanas). Para indução da hipertensão arterial vascular os ratos Wistar foram submetidos à administração orogástrica de L-NAME por 7 dias seguido de implante de cateter na aorta e na femoral. A hipertensão renovascular foi induzida pela inserção de um clipe de prata com abertura de 20mm, após 21 dias esses animais bem como os animais espontaneamente hipertensos foram canulados na aorta e na femoral. A análise central foi realizada mediante implante de um cateter no ventrículo lateral nos animais espontaneamente hipertensos esses animais foram divididos em dois grupos: um grupo para verificação da ação central do carvacrol sobre as respostas cardiovasculares e outro grupo para verificação do papel do carvacrol quando sódio-depletados. **RESULTADOS:** Os dados do presente trabalho mostram que o carvacrol mostra efeito hipotensor e bradicárdico, quando injetado de forma endovenosa, nos modelos de hipertensão arterial vascular, hipertensão renovascular e nos animais espontaneamente hipertensos com ação significativa principalmente sobre os valores da pressão diastólica com queda em torno de 80mmHg e bradicardia em torno de 200bpm. Centralmente o carvacrol causou hipotensão, sem significância estatística sobre os valores da frequência cardíaca, além de inibir o apetite por sódio em animais espontaneamente hipertensos. **CONCLUSÃO:** Nossos dados mostram que o carvacrol apresenta efeito hipotensor e bradicárdico em três diferentes modelos experimentais de hipertensão além de inibir o comportamento de sódio em animais espontaneamente hipertensos.

Palavras-chave: Carvacrol, Hipertensão, Equilíbrio Hidroeletrólítico.

BATISTA. Átila dos Santos. Vascular effect of carvacrol in central and lower blood pressure and sodium appetite inhibition in rat. 105 f. il. Thesis (Doctorate in Human Pathology). Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Gonçalo Moniz, Salvador, 2017.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Hypertension has been regarded as the primary cause of the reduction of the quality and life expectancy of individuals for being important factor at risk for diseases that involve the atherosclerosis and thrombosis with consequent cardiac involvement, cerebral, renal and vascular. Studies have demonstrated the action of monoterpenes in different pharmacological activities, among them on the cardiovascular system. It was observed that the carvacrol, a characteristic of the monoterpene Labiateae family, presents hypotensive action in anesthetized Wistar rats pretreated with L-NAME and not anesthetized rats. **AIM:** a) evaluate the peripheral action of carvacrol on blood pressure and heart rate in animals with vascular arterial hypertension; b) evaluate the peripheral action of carvacrol on blood pressure and heart rate in rats with renovascular hypertension; c) evaluate the peripheral action of carvacrol on blood pressure and heart rate in animals spontaneously hypertensive; d) evaluate the central action of carvacrol on blood pressure and heart rate in animals spontaneously hypertensive; e) evaluate the action of carvacrol in central appetite for sodium in spontaneously hypertensive. **MATERIALS AND METHODS:** Were used Wistar rats (200-250g) and rats with spontaneously hypertensive (13-16 weeks). For induction of vascular hypertension the Wistar rats were submitted to oral administration L-NAME for 7 days followed by implantation of aortic and femoral catheter. Hypertension renovascular was induced by inserting a silver clip with opening of 20 mm, after 21 days these animals as well as the spontaneously hypertensive were cannulated in the aorta and femoral. The central analysis was performed by implantation of a catheter in the lateral ventricle in spontaneously hypertensive animals. These animals were divided into two groups: A group to verify the central action of carvacrol on cardiovascular responses and another group to verify the role of carvacrol when sodium-depleted. **RESULTS:** The data of the present study show that carvacrol shows a hypotensive and bradycardic effect, when injected intravenously, in the models of vascular arterial hypertension, renovascular hypertension and spontaneously hypertensive animals with significant action mainly on the values of diastolic pressure with drop around 80mmHg and bradycardia around 200bpm. Centrally, carvacrol caused hypotension, with no statistical significance on heart rate values, and inhibited sodium appetite in spontaneously hypertensive animals. **CONCLUSIONS:** Our data show that carvacrol has a hypotensive and bradycardic effect in three different experimental models of hypertension besides inhibiting the sodium behavior in spontaneously hypertensive animals.

Key-words: Carvacrol, Hypertension, Fluid and electrolyte balance

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fatores associados a Hipertensão	22
Figura 2. Modelos de hipertensão renovascular	26
Figura 3. Hipertensão renovascular 2K-1C	28
Figura 4. Efeito do carbacol e acetilcolina sobre a aorta de coelhos	29
Figura 5. Efeito do carbacol na presença e ausência do endotélio	30
Figura 6. Síntese e inibição da produção de NO	31
Figura 7. Alteração da pressão arterial em animais SHR e WKY ao longo das semanas	33
Figura 8. Alteração dos fatores homeostáticos decorrentes da depleção de Na ⁺	35
Figura 9. Representação esquemática dos circuitos neuroquímicos envolvidos na regulação dos fluidos corporais	37
Figura 10. Fórmula estrutural do isopreno	43
Figura 11. Fórmula estrutural do carvacrol	45
Figura 12. Alteração da PAS, PAM e PAD em animais hipertensos induzidos por tratamento crônico com L-NAME após injeção endovenosa de diferentes doses de carvacrol	60
Figura 13. Alteração da FC em animais hipertensos induzidos por tratamento crônico com L-NAME após injeção endovenosa de carvacrol	61
Figura 14. Traçado típico da ação hipotensora do carvacrol (15 mg/kg) em ratos com hipertensão induzida por tratamento crônico com L-NAME (5 mg/100g; por 7 dias)	62
Figura 15. Alteração da PAS, PAM e PAD em animais com hipertensão renovascular após injeção endovenosa de diferentes doses de carvacrol.	64
Figura 16. Alteração da FC em animais com hipertensão renovascular após injeção endovenosa de carvacrol.	65

Figura 17. Traçado típico da ação hipotensora do carvacrol (15 mg/kg) em ratos com hipertensão renovascular	66
Figura 18. Alteração da PAS, PAM e PAD em ratos espontaneamente hipertensos após injeção endovenosa de diferentes doses de carvacrol	68
Figura 19. Alteração da FC em ratos espontaneamente hipertensos após injeção endovenosa de carvacrol.	69
Figura 20. Traçado típico da ação hipotensora do carvacrol (15 mg/kg) em ratos espontaneamente hipertenso	70
Figura 21. Comparação dos parâmetros cardiovasculares entre os modelos de hipertensão, vascular (L-NAME), renovascular (1R1C) e espontaneamente hipertenso (SHR) antes e depois da administração endovenosa de carvacrol (15 mg/kg).	71
Figura 22. Papel do carvacrol no ventrículo lateral sobre o apetite por sódio em animais SHR depletados de sódio	73
Figura 23. Papel do carvacrol no ventrículo lateral sobre os valores da pressão arterial média em animais espontaneamente hipertensos	75
Figura 24. Papel do carvacrol no ventrículo lateral sobre os valores frequência cardíaca em animais espontaneamente hipertensos.	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Partes da planta usadas para extração dos óleos essenciais.

44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP	Área postrema
A	Angiotensina
CVC	Carvacrol
DC	Débito Cardíaco
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
FC	Frequência cardíaca
GMP	Guanosina 3', 5'-cíclica monofosfato
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-10	Interleucina 10
IL-17	Interleucina 17
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
L-NAME	N-nitro-L-arginina metil Ester
MnPo	Núcleo Preóptico Medial
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NO	Óxido Nítrico
NTS	Núcleo do Trato Solitário
OVLT	Órgão Vasculoso da Lâmina Terminal
PA	Pressão Arterial
PVN	Núcleo paraventricular
RPT	Resistência Periférica Total
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RVLM	Bulbo ventrolateral rostral
SC	Subcutâneo
SFO	Órgão Subfornical

SHR Ratos espontaneamente hipertensos

SNC Sistema Nervoso Central

SRAA Sistema Renina Angiotensina Aldosterona

SUS Sistema Único de Saúde

TGF- β Fator de transformação do crescimento beta

TRP Potenciais Receptor Transientes

VL Ventrículo lateral

1K-1C 1 rim 1 clipe

2K-1C 2 rins 1 clipe

2K-2K 2 rins 2 cliques

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
3	OBJETIVOS	48
4	HIPOTÉSES	49
5	MATERIAL E MÉTODOS	50
5.1	ANIMAIS	50
5.2	FÁRMACOS E INSUMOS	50
5.3	PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	51
5.3.1	Implante de cânula no ventrículo lateral e microinjeção	51
5.3.2	Cateterização da carótida e femoral	51
5.4	INDUÇÃO DA HIPERTENSÃO	52
5.4.1	Indução da hipertensão vascular	52
5.4.2	Indução de hipertensão renovascular 1rim/1 clipe	52
5.5	REGISTRO DA PRESSÃO PULSÁTIL	53
5.6	DESCRIÇÃO DOS PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	54
5.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
6	RESULTADOS	59
7	DISCUSSÃO	77
	PERSPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS	91
	REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

As plantas produzem uma diversidade de compostos orgânicos que não estão diretamente associados ao seu desenvolvimento e ou crescimento essas substâncias são descritas como metabólitos secundários compreendendo moléculas com baixo peso molecular que apesar de não estarem envolvidas no desenvolvimento da planta são de fundamental importância no processo de adaptação ambiental, tendo em vista os inúmeros papéis que estas substâncias apresentam, tais como: favorecimento da polinização, dispersão das sementes, interação mutualística entre plantas e determinadas espécies bacterianas e fúngicas até mesmo defesa contra predadores. São quimicamente divididos em terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo átomos de nitrogênio (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000; NASCIMENTO; FETT-NETO, 2010).

Em torno de 9000 espécies de plantas têm sido identificadas e associadas à propriedades terapêuticas, além disso, mais de 1500 espécies são conhecidas com base no aroma e sabor dos seus metabólitos secundários. Dentre os metabólitos os produtos à base de óleos essenciais apresentam maior importância para a indústria de cosméticos, alimentos, perfume e farmacêutica. Esses óleos são caracterizados quimicamente em diferentes famílias químicas que incluem terpenos, aldeídos, alcoóis, ésteres, fenóis, éteres e cetonas (SWAMY; AKHTAR; SINNIAH, 2016).

Entre os diversos componentes dos óleos essenciais está o monoterpene carvacrol, presente no orégano (*Origanum vulgares*, *O. dictamnus* e *O. majorana*) e tomilho (*Thymus vulgaris*, *T. capitatus* e *T. serpyllum*). O carvacrol apresenta um espectro de ações biológicas entre elas: efeito antimicrobiano, efeito imunomodulatório, efeito hepatoprotetor, efeito antiinflamatório, efeito antitumoral, atividade antiplaquetária, entre outras (BASER, 2008). Aydin e colaboradores (2007) mostraram que além desses efeitos o carvacrol também apresenta efeito anti-hipertensivo em ratos normotensos anestesiados, contudo Dantas *et al.*, (2015) mostraram que o carvacrol também apresenta efeito hipotensor em ratos não anestesiados com relaxamento da musculatura lisa dos anéis da arteria mesentérica e inibição da contratilidade cardíaca nesses animais.

A hipertensão tem sido caracterizada como uma das principais causas de morte na população adulta de forma mundial (METCHI *et al.*, 2013). Este preocupante dado epidemiológico instituiu o dia 17 de maio como o dia mundial de controle da hipertensão por parte da Sociedade Internacional de Hipertensão (ISH). O interesse pelo estudo da participação do carvedilol na modulação da fisiopatologia da hipertensão está juntamente associado à prevalência desta patologia no mundo com ênfase no desenvolvimento de novos fármacos que melhorem a sobrevida do paciente com menores efeitos adversos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Aspectos epidemiológicos e caracterização da Hipertensão

O Observatório Global de Doenças relaciona a hipertensão arterial como sendo a causa de morte de 7.5 milhões de pessoas ao redor do mundo (PARK; KARIO; WANG, 2015). A hipertensão tem sido caracterizada como doença de natureza pública e global sendo uma das maiores causas de morbidade e mortalidade (PARK; KARIO; WANG, 2015). Segundo Nobre *et al.*, (2013) no Brasil a prevalência de doenças relacionadas a hipertensão, ainda é pouco conhecida, entretanto, os estudos isolados trazem a estimativa de que em torno de 30% da população adulta brasileira apresenta hipertensão (NOBRE *et al.*, 2013; CIPULLO, *et al.*, 2010). Segundo a Secretaria de Saúde do Estado da Bahia em torno de 35% da população baiana com idade em torno de 40 anos apresentam hipertensão, porcentagem correspondente a 1,3 milhão de hipertensos. Desta forma torna-se fundamental o melhor entendimento da fisiopatologia da hipertensão com vistas ao aperfeiçoamento no diagnóstico e na terapia que possam resultar em melhoria na qualidade de vida e na sobrevivência dos pacientes hipertensos.

Os princípios da hidrodinâmica, mesmo o sistema circulatório não sendo um conjunto de condutos rígidos e nem o sangue se comportar como um fluido homogêneo e de fluxo laminar, servem para nortear os conhecimentos sobre a pressão arterial, sendo esta descrita como a força exercida pelo sangue sobre a unidade de área da parede vascular (LOLIO, 1990). Dois fatores são primordiais na determinação da pressão arterial: a resistência vascular periférica total, relacionada com a resistência ao fluxo sanguíneo principalmente nas arteríolas, e o débito cardíaco que está associado ao volume de sangue ejetado por minuto.

Os estudos sobre a fisiologia da hipertensão tiveram início com a medicina Chinesa e Indiana, com a avaliação da “qualidade de vida” do indivíduo que incluía a verificação do pulso do paciente, como forma de avaliar a atividade cardíaca. Contudo, o conceito descrito hoje na literatura sobre hipertensão só teve repercussão após os trabalhos de Akbar Mahomed no final do século 19 com a descrição da síndrome hipertensiva (RAMOS, 1998; SAKLAYEN; DESHPANDE, 2016).

O desenvolvimento de técnicas mais precisas para aferição da pressão sanguínea favoreceu a descrição mais detalhada da hipertensão. Stephen Hales foi o primeiro pesquisador a aferir de forma direta a pressão arterial ocorrendo inicialmente em cavalos em 1733. Somente no século seguinte, em 1881, Riva-Rocci, desenvolveu o primeiro esfigmomanômetro. Entretanto, a prática de medição só iniciou em 1906 após Korotkoff descrever os sons associados à pulsação valvar, os quais ocorriam mediante esvaziamento do manômetro (LOLIO, 1990). O avanço do campo científico no entendimento e habilidade na mensuração da pressão sanguínea permitiu compreender como estímulos físicos e emocionais, bem como os períodos de sono levavam a redução dos valores da pressão arterial (KOTCHEN, 2011; RAMOS, 1998).

As Diretrizes Brasileiras de Hipertensão VI definem a hipertensão arterial como doença de natureza multifatorial, como mostra a figura 1, com níveis elevados e sustentados de pressão arterial. De acordo com estas Diretrizes indivíduos com valores de pressão arterial (PA) igual ou superior a 140 mmHg de pressão sistólica e 90 mmHg de pressão diastólica são considerados como hipertensos primários (NOBRE *et al.*, 2013).

Os principais fatores associados ao desenvolvimento da hipertensão são: fatores genéticos, alteração do débito cardíaco, ingestão excessiva de sódio, sensibilidade ao sódio, alteração renal, estimulação excessiva do sistema simpático, estresse, disfunção dos barorreceptores, aumento da resistência vascular periférica total, disfunção endotelial, obesidade, resistência a insulina como mostrado na figura 1 (VIKRANT; TIWARI, 2001).

Segundo Montezano *et al.*, (2015) os mecanismos fisiopatológicos que contribuem para o aumento da pressão arterial são complexos e envolvem diversos sistemas. A descrição da hipertensão arterial como condição patológica foi cunhado inicialmente por Frederick Akbar Mahomed (1849-1884), o qual, através de relatórios mostrou que a elevação da pressão arterial (PA) pode ocorrer em indivíduos aparentemente saudáveis, afetando órgãos importantes, tais como coração, rins e cérebro. Entretanto, a descrição da hipertensão essencial só ocorreu em 1911 por Eberhard Frank (SAKLAYEN; DESHPANDE, 2016). A hipertensão como doença pode ser classificada em: hipertensão primária ou essencial, a qual apresenta uma etiologia incerta, ou seja, as causas secundárias tais como, doenças renovasculares,

hiperaldosteronismo, coarctação da aorta, pré-eclampsia, entre outros fatores não estão presentes em seu desenvolvimento; e hipertensão secundária gerada em consequência das condições ora explicitadas assim como também, a estenose renal arterial, a diabetes e a insuficiência renal (CARRETERO, OPARIL, 2000;METCHI et al.,2013).

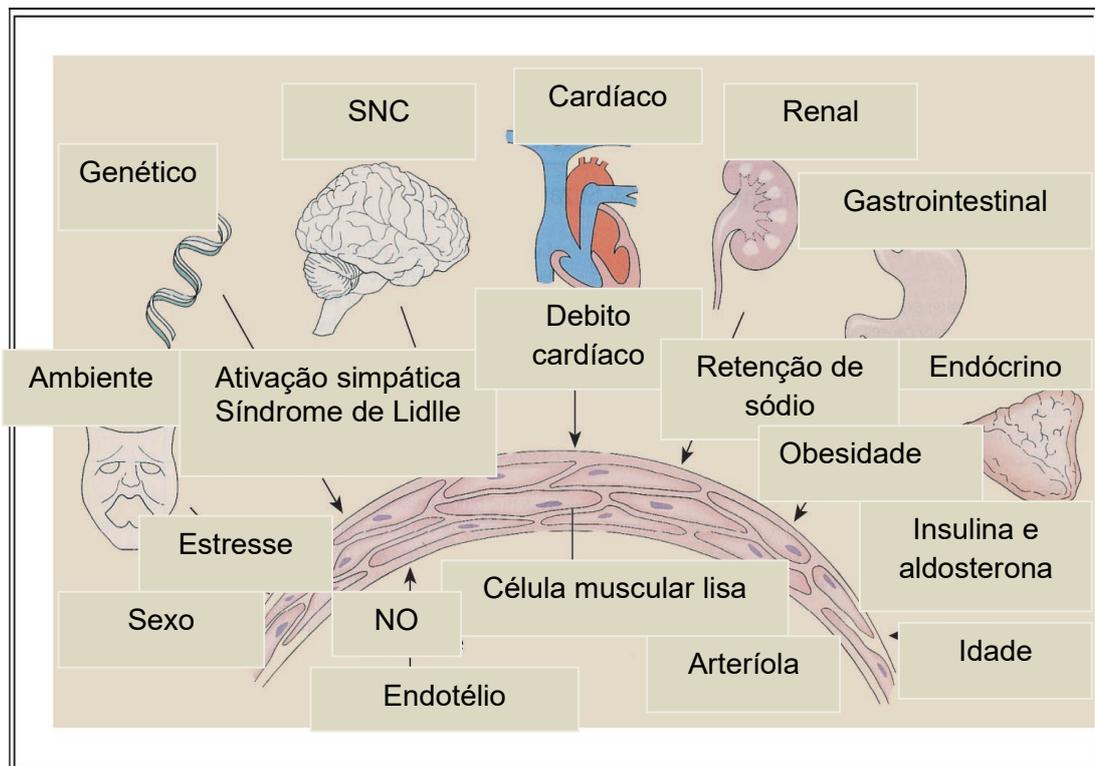


Figura 1: Fatores associados à Hipertensão

Fonte: OPARIL; ZAMAN; CALHOUN, 2003

A fisiopatologia da hipertensão arterial está associada às alterações dos mecanismos de regulação da pressão arterial que ocorrem de forma integrada entre os sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino (SANJULIANI, 2002). Os hormônios envolvidos na regulação da pressão arterial incluem o peptídeo natriurético atrial que produz natriurese, diurese e diminuição da pressão arterial. Sua liberação ocorre como resultado da estimulação dos receptores atriais. Seus receptores estão presentes nos cardiomiócitos, no cérebro, vasos sanguíneos e nos rins (DPHIL; SEAR, 2004; YAMAGUCHI; FLYNN, 2009). Além disso, a glândula adrenal produz mineralcorticoides e glicocorticoides que atuam na retenção de sódio e água com consequente aumento da pressão sanguínea, nas papilas renais ocorre a secreção de medulipina do tipo 1 que no fígado é transformada em medulipina do tipo 2 com importante efeito hipotensor possivelmente via inibição do drive simpático. Outro importante hormônio que atua na regulação da pressão arterial é o óxido nítrico, sintetizado pelas células endoteliais, com importante ação vasodilatadora. Devendo-se também o destaque ao sistema das cininas as quais têm papel importante na regulação do fluxo sanguíneo renal e na excreção de sódio e água (DPHIL; SEAR, 2004)

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) atua como importante fator na regulação da pressão arterial em longo prazo tendo sua estimulação favorecida em situações de hipovolemia e hiponatremia que levam à estimulação das células justaglomerulares com liberação da renina. A renina produzida favorece a clivagem do angiotensinogênio em um decapeptídeo denominado angiotensina I esta por sua vez é clivada pela ação da enzima conversora de angiotensina (ECA), sendo convertida em angiotensina II (ANG II). A angiotensina II apresenta importante efeito vasoconstritor, além de favorecer a liberação de aldosterona da zona glomerulosa da glândula adrenal. A aldosterona tem como efeitos principais a retenção de sódio e água. A angiotensina II também é responsável pela estimulação central da sede e do apetite por sódio. Por este motivo um dos tratamentos da hipertensão inclui o uso de inibidores da ECA e antagonistas da angiotensina II (YAMAGUCHI; FLYNN, 2009).

A vasopressina ou hormônio antidiurético liberado pela hipófise posterior é um potente agente vasoconstritor e essencial na manutenção do fluido corporal e osmolaridade envolvido na regulação da excreção renal de água. As duas maiores

ações biológicas da vasopressina envolvem a antidiurese e vasoconstrição. A ação antidiurética ocorre via receptor V2, com ativação da adenil ciclase, presente nos rins, enquanto que sua ação vasoconstritora ocorre via receptores V1, com ativação da fosfolipase C e consequente constrição da arteríola renal (RASCHER, 1985; SHARE; CROFTON, 1982; KRAKOFF; ELIJOVICH; BARRY, 1985; LIARD, 1984; WROBEL; RAGGENBASS, 2011). No cérebro o ADH exerce seus efeitos via receptores V1 tendo papel importante no controle cardiovascular, regulação da temperatura, comportamento sexual e modulação da ingestão de água (RAGGENBASS, 2008).

O controle neurogênico da pressão arterial envolve o Núcleo do Trato Solitário (NTS), parte rostral do bulbo ventral, bem como a ponte e o mesencéfalo. Basicamente este controle ocorre por um arco reflexo negativo, onde o aumento da pressão sanguínea leva ao estiramento dos barorreceptores presentes na parede do arco aórtico e seio carotídeo e o aumento dos disparos de potenciais de ação que ativam o NTS e este por sua vez inibe o sistema simpático e estimula o sistema parassimpático controlando a função cardíaca e a vascular (FOËX; SEAR, 2004).

Como descrito acima a pressão arterial é determinada em função do débito cardíaco e da resistência periférica vascular total. Segundo Sanjuliani (2012) indivíduos com hipertensão essencial apresentam uma característica prevalente que é: o aumento do débito cardíaco e da resistência periférica total, principalmente em indivíduos idosos portadores de aterosclerose. A resistência periférica não é determinada pelos vasos de grande calibre ou pelos capilares, mas sim pelas arteríolas. A contração da musculatura lisa que envolve o aumento do cálcio intracelular, que favorece mudanças na estrutura da parede dos vasos arteriolares, sendo associado a ação da angiotensina, levando a um aumento da resistência periférica vascular total (BEEVERS; LIP; O'BRIEN, 2001). Os indivíduos hipertensos podem apresentar aumento do tônus simpático vascular via ativação de receptores adrenérgicos ou por aumento da liberação de fatores vasoconstritores tais como a endotelina e angiotensina que também favorecem a remodelagem vascular (FOËX; SEAR, 2004). Sanjuliani (2012) ressalta que na hipertensão essencial os elevados níveis de endotelina ocorrem em co-associação com lesões ateroscleróticas em órgãos-alvo.

Em seu artigo de revisão Oparil, Zaman e Calhoun (2003) apontam que o aumento da atividade do sistema nervoso simpático favorece tanto o desenvolvimento, quanto a manutenção da hipertensão ao favorecer o aumento da frequência cardíaca e tônus vascular que resultam em aumento do débito cardíaco, da resistência periférica vascular total e da retenção líquida. Em humanos esta associação tem sido demonstrada através da utilização do método de diluição de isótopos, mais precisamente a quantificação da noradrenalina, por ser o principal neurotransmissor do sistema nervoso simpático, uma vez que os níveis de noradrenalina em pacientes hipertensos apresentam-se aumentados em órgãos como o coração, rins (HERING; TRZEBSKI; NARKIEWICZ, 2017). Essas alterações no sistema nervoso simpático são complexas e segundo os autores a adaptação dos barorreceptores, que estão presentes no sino carotídeo e seio aórtico, aos altos valores de pressão arterial em pacientes hipertensos tem sido caracterizada como importante condicionante da manutenção da hipertensão, principalmente porque a literatura tem demonstrado que pacientes com hipertensão ou com histórico familiar de hipertensão apresenta uma redução da resposta dos barorreceptores (PARMER, *et al.*, 1992; OPARIL; ZAMAN; CALHOUN, 2003). Há de se destacar também o importante papel dos rins na regulação da excreção de Na^+ e água favorecendo o controle em longo prazo da pressão arterial via natriurese de pressão (VIKRANT; TIWARI, 2001).

Apesar de a literatura ainda não ter demonstrado qual gene está associado a gênese do processo hipertensivo há diversas evidências que corroboram para a influência genética na variação dos valores da pressão sanguínea, principalmente, os trabalhos que envolvem gêmeos monozigóticos (VIKRANT; TIWARI, 2001; YAMAGUCHI; FLYNN, 2009). Kumarasamy *et al.*, (2015) mostraram que o Nr2f2, que é um fator de transcrição nuclear vital para o desenvolvimento da angiogênese e do coração, está envolvido também na regulação dos níveis da pressão sanguínea após a verificação comparativa entre ratos hipertensos com a expressão do Nr2f2 e ratos hipertensos mutantes para este gene, sendo observada baixos valores de pressão sistólica nos animais sem a expressão deste gene, sendo possível a sua associação com a hipertensão essencial.

Como descrito acima, a hipertensão essencial não apresenta causa definida podendo ocorrer por diversos fatores tais como, estilo de vida sedentário, estresse,

obesidade visceral, sensibilidade ao sal, ingestão de álcool, deficiência em vitamina D, além da associação genética. Em contrapartida, a hipertensão secundária apresenta causas identificáveis entre eles, doença renal, síndrome de Cushing, pré-eclampsia, diabetes, obesidade ou até mesmo uso abusivo de drogas (TABASSUM, AHMAD, 2011). Alguns modelos experimentais de hipertensão foram desenvolvidos e tem favorecido o entendimento da patogenia da hipertensão e seu possível tratamento. No presente estudo foram utilizados 3 modelos experimentais de hipertensão: o modelo de hipertensão vascular, o modelo renovascular e o modelo de hipertensão espontânea serão descritos a seguir.

Modelo de Hipertensão renovascular

O modelo de hipertensão renovascular foi descrito em 1934 por Goldblatt. A hipertensão é obtida por obstrução parcial do fluxo sanguíneo renal e ou pela severa redução da função renal. Inicialmente Goldblatt desenvolveu o modelo em cães através da inserção de cliques de prata em uma das artérias renais e com a manutenção do rim contralateral íntegro. Porém, com o avançar dos estudos Goldblatt observou que em ratos o desenvolvimento da hipertensão renal era mais fácil de obter do que em cães (JUNIOR FAZAN; DA SILVA; SALGADO, 2001; SARIKONDA *et al.*, 2009). São tres os modelos de hipertensão renovascular dois rins e um clipe (2R-1C), dois rins e dois cliques (2R-2C) e um rim e um clipe (1R-1C) como descrito na figura 2.

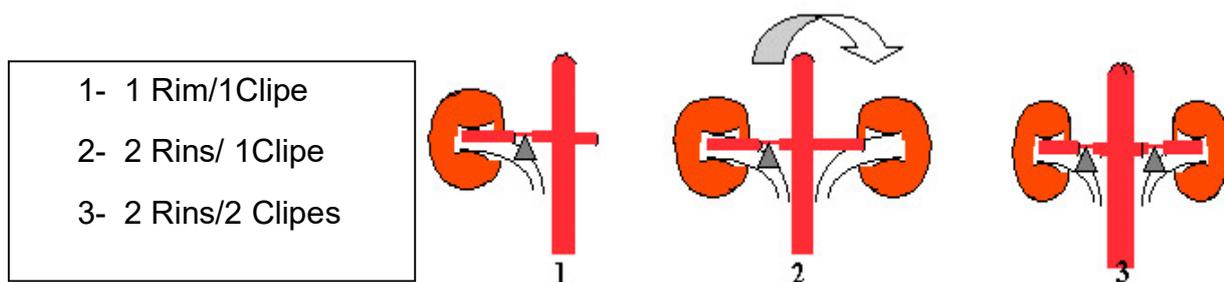


Figura 2: Modelos de hipertensão renovascular

Fonte: ZAQUI (2003)

Modelo 1 rim- 1 clipe (base do estudo)

No modelo 1rim-1clipe a nefrectomia do rim contralateral é seguida da inserção de um clipe de prata na artéria renal no rim remanescente, normalmente o

esquerdo, pois o rim direito apresenta pouca visualização devido o posicionamento do fígado. Inicialmente há elevação da pressão sanguínea, porém transitória, sendo esta elevação dependente do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Entretanto, devido a ausência de um rim funcional, em aproximadamente 7 dias após o procedimento cirúrgico, ocorre retenção de sódio e água seguido da ativação do sistema nervoso simpático. Portanto, este modelo experimental é descrito como volume-dependente (THOMAS *et al.*, 2003; SARIKONDA *et al.*, 2009). Apesar da atividade da enzima conversora de angiotensina plasmática (ECA) não sofrer alteração neste modelo, a literatura tem mostrado haver alteração dos valores vasculares da ECA, principalmente na aorta e na artéria mesentérica (LEITE; SALGADO, 1992). Este modelo de hipertensão renovascular mimetiza a situação patológica de pacientes com estenose renal.

Modelo 2rins-1clipe

Neste modelo de hipertensão ocorre a manutenção dos dois rins, contudo um dos rins recebe a inserção de um clipe de prata. A hipertensão é caracterizada pelo aumento inicial da atividade da renina plasmática ocasionada pela redução da pressão arterial renal e conseqüente aumento da angiotensina II circulante que tem sua atividade mediada pelos receptores AT₁, e subtipos AT_{1A} e AT_{1B}, sendo o subtipo AT_{1A} mais importante no desenvolvimento desta hipertensão (CERVENKA *et al.*, 2002; SARIKONDA *et al.*, 2009). A hipertensão renovascular é mantida devido a ativação contínua do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) por parte do rim remanescente (WIESEL, *et al.*, 1997) como descrito na figura 3.

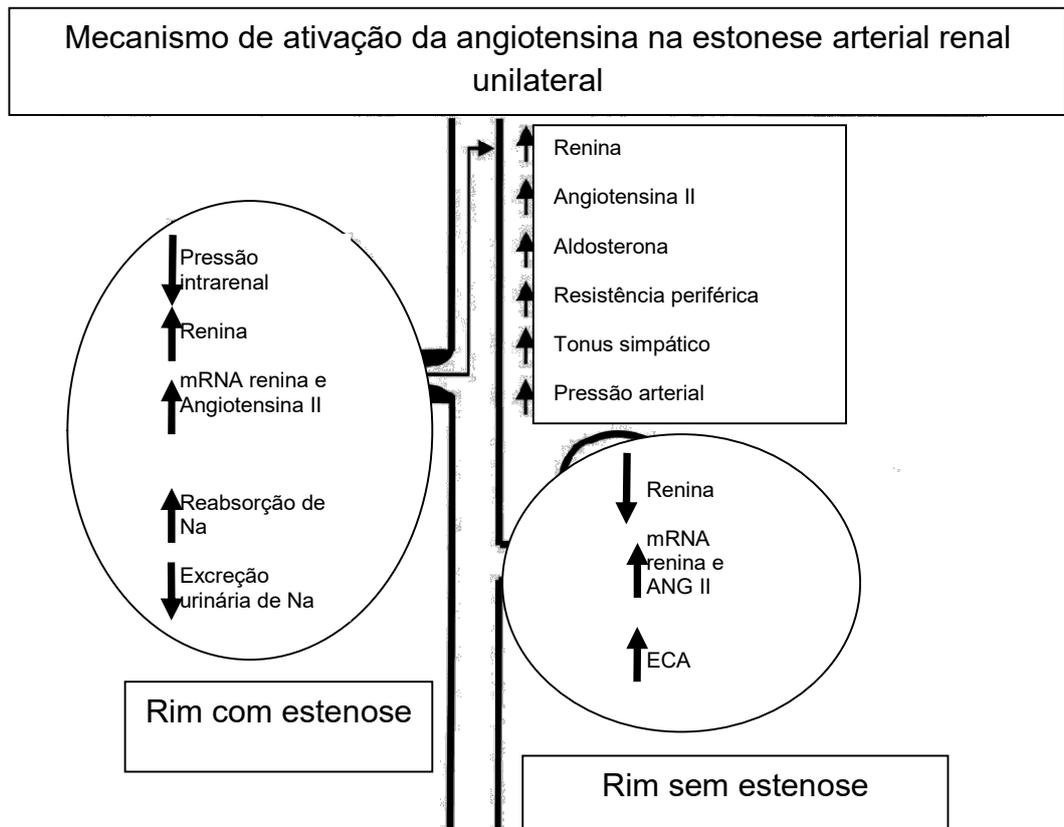


Figura 3: Hipertensão renovascular 2K-1C

Fonte: NAVAR et al., 1998

Modelo 2rins-2clipes

Neste modelo de hipertensão renal a estenose arterial é bilateral, pois as duas artérias renais recebem inserção de cliques de prata e o nível de estenose é determinado conforme o peso corpóreo do animal. Segundo Sarikonda *et al.*, (2009) este modelo tem menor frequência de utilização principalmente, devido a maior incidência de acidente vascular cerebral nestes animais. Além disso, os animais que apresentam sinais neurológicos alterados, resultantes da hipertensão, tendem a morrer em até 72h (ZENG *et al.*, 1998).

Modelo de Hipertensão por inibição crônica do óxido nítrico

Em 1978, em ensaio *in vitro* utilizando aorta de coelhos verificou-se que ao ser submetida à ação do carbacol, um agonista colinérgico, ao invés de sofrer contração ocorria relaxamento, como mostra a figura 4. Furchgott descobriu que o processo de contração ocorria somente após a retirada da camada endotelial como bem apresentado na figura 5. Quando esta camada era preservada e colocada em contato com acetilcolina ou carbacol ocorria relaxamento do músculo liso vascular (FURCHGOTT, 1998). Após análises minuciosas Furchgott sugeriu que a acetilcolina liberava uma substância inibitória que ele chamou de Fator Relaxante Derivado do Endotélio. Posteriormente, trabalhando de forma independente, Furchgott e Ignarro em 1986 verificaram que, tanto a nitroglicerina, quanto o óxido nítrico (NO) causavam vasodilatação via ativação do GMPcíclico, propondo então que o NO era o fator relaxante derivado do endotélio. No ano seguinte, Moncada, e seus colaboradores descobriram que a origem do NO era a partir da L-arginina endógena sob a ação da enzima NO-sintase (FURCHGOTT, 1998). Desde a descoberta NO como potente fator derivado do endotélio diversos estudos tentaram correlacioná-lo com a patogênese da hipertensão. Na década de 90, inibidores da síntese do NO foram desenvolvidos possibilitando melhor entendimento das patologias relacionadas à deficiência endógena do NO (KOPINCOVÁ, PÚZSEROVÁ, BERNÁTOVÁ, 2012).

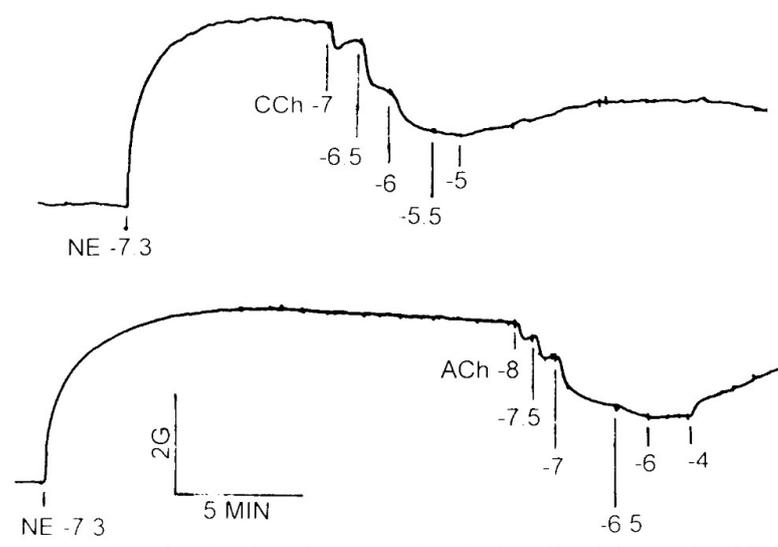


Figura 4: Efeito do carbacol e acetilcolina sobre a aorta de coelhos

Fonte: FURCHGOTT, Nobel Lecture, 1998

Experimento de Furchgott, 1980

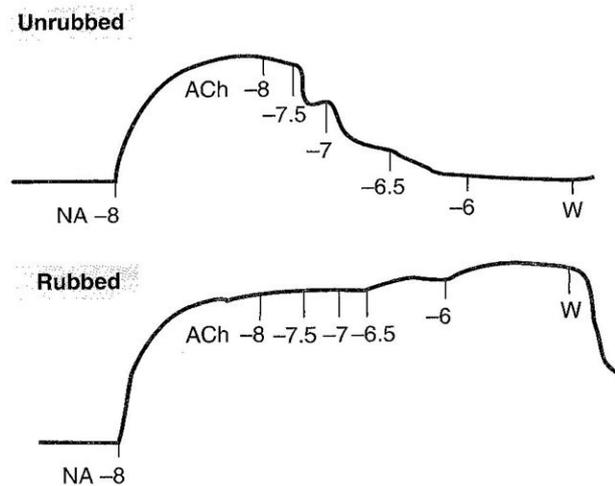


Figura 5: Efeito do carbacol na presença e ausência do endotélio

Fonte: FURCHGOTT, Nobel Lecture, 1998

A síntese do NO ocorre a partir do aminoácido L-arginina, conforme mostra a figura 6 e pode ser antagonizada farmacologicamente pela N-nitro-L-arginina metil ester (L-NAME), utilizado no referente trabalho para induzir a hipertensão, análogo estrutural da L-arginina e importante inibidor da NO sintetase, que compete pelo sítio de ligação desta enzima. Desta forma a produção endógena de NO reduz a pressão arterial (SHARMA *et al.*, 2012; TOBA *et al.*, 2005). A inibição da NO sintetase pelo L-NAME também leva ao aumento da produção de fatores de contração derivados do endotélio caracterizados como vasoconstritores que conseqüentemente favorecem o aumento da pressão arterial (QU *et al.*, 2010).

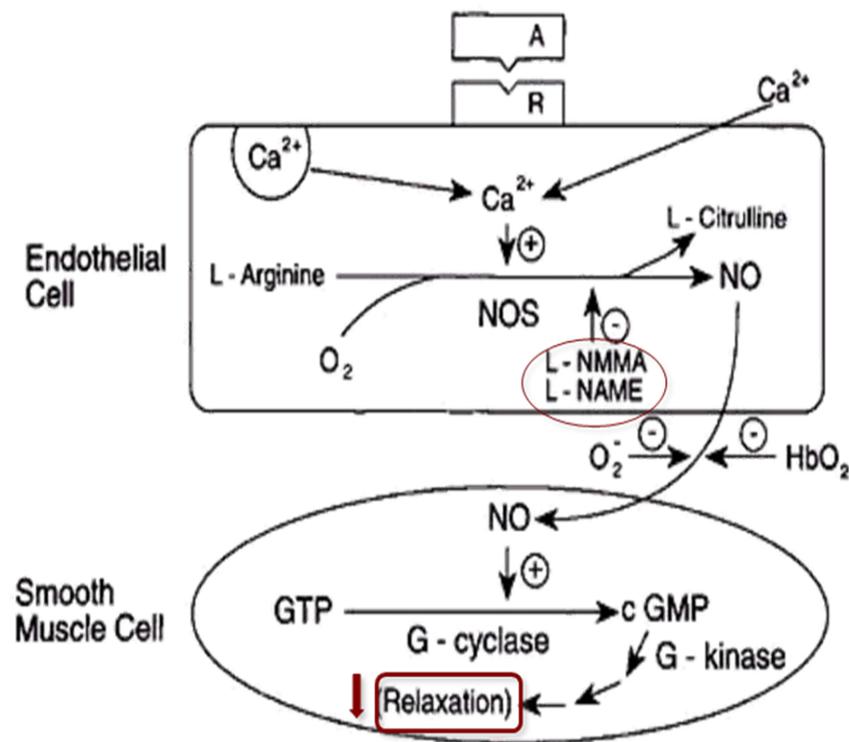


Figura 6: Síntese e inibição da produção de NO

Fonte: FURCHGOTT, Nobel Lecture, 1998

Modelo Hipertensão genética

O termo essencial para caracterizar o aumento da PA foi definido nos estudos fisiopatológicos por se acreditar que a elevação da PA era essencial para a manutenção das funções vitais, contudo, a ocorrência de animais com altos valores de pressão arterial sem que houvesse ocorrido qualquer intervenção farmacológica ou cirúrgica, levou os pesquisadores a desenvolverem modelos genéticos de hipertensão (SARIKONDA *et al.*, 2009). Os ratos espontaneamente hipertensos foram desenvolvidos pelos pesquisadores Okamoto e Aoki em 1963 na cidade japonesa de Kioto. Foram selecionados ratos Wistar machos e fêmeas com valores de pressão sistólica acima de 150 mmHg que após seguidos processos de acasalamento deram origem aos animais com hipertensão genética que são conhecidos pela sigla inglesa SHR (*spontaneous hypertensive rat*) (SALGADO *et al.*, 2009; OKAMOTO, AOKI, 1963).

Segundo Lee; Dickhout (1998) este modelo é similar a hipertensão essencial que ocorre em humanos devido a predisposição genética a apresentar valores

elevados de pressão sanguínea, sem etiologia definida, com aumento da resistência periférica vascular total e similaridade no tratamento medicamentoso. Segundo Packer (1994) a resistência periférica vascular total aumentada é fator determinante na caracterização da hipertensão essencial. Os animais SHR começam a desenvolver um estado de hipertensão a partir da 5ª semana de vida sendo os níveis de hipertensão espontânea estabelecidos entre a 7ª e 15ª semana (SALGADO *et al.*, 2009). A estabilização da pressão sistólica em 200 mmHg ocorre ao redor da 20ª semana de vida com pouco incremento posterior, como apresentado na figura 7 (LIMA *et al.*, 1979). Salgado *et al.*, (2009) ainda mostra que este modelo de hipertensão é acompanhado de hipertrofia da musculatura cardíaca e comprometimento das funções cardíacas, além disso é observado que nestes animais ocorre diminuição da complacência vascular e aumento da resistência vascular (POTTS; McKEOWN; SHOUKAS, 1998). Os estudos têm também demonstrado haver aumento da frequência cardíaca antes da ocorrência da elevação da pressão arterial, com conseqüente elevação do débito cardíaco (DICKHOUT; LEE, 1998). Os animais SHR podem apresentar mudanças no peso corpóreo sendo este fator dependente das condições ambientais em que se encontram.

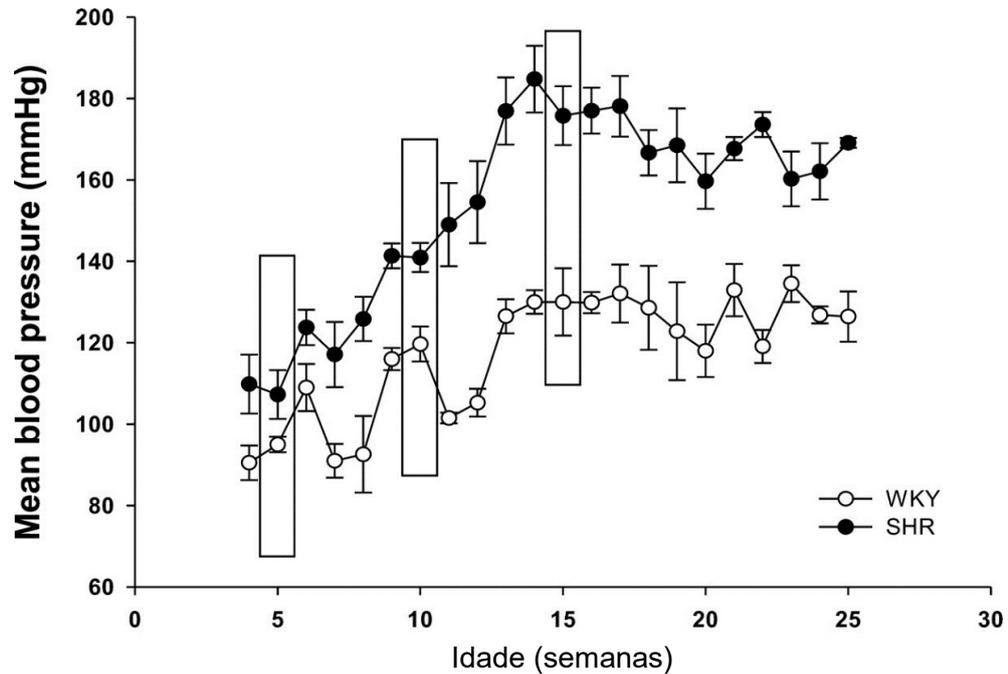


Figura 7: Alteração da pressão arterial em animais SHR e WKY ao longo das semanas

Fonte: HOM *et al.*, 2007

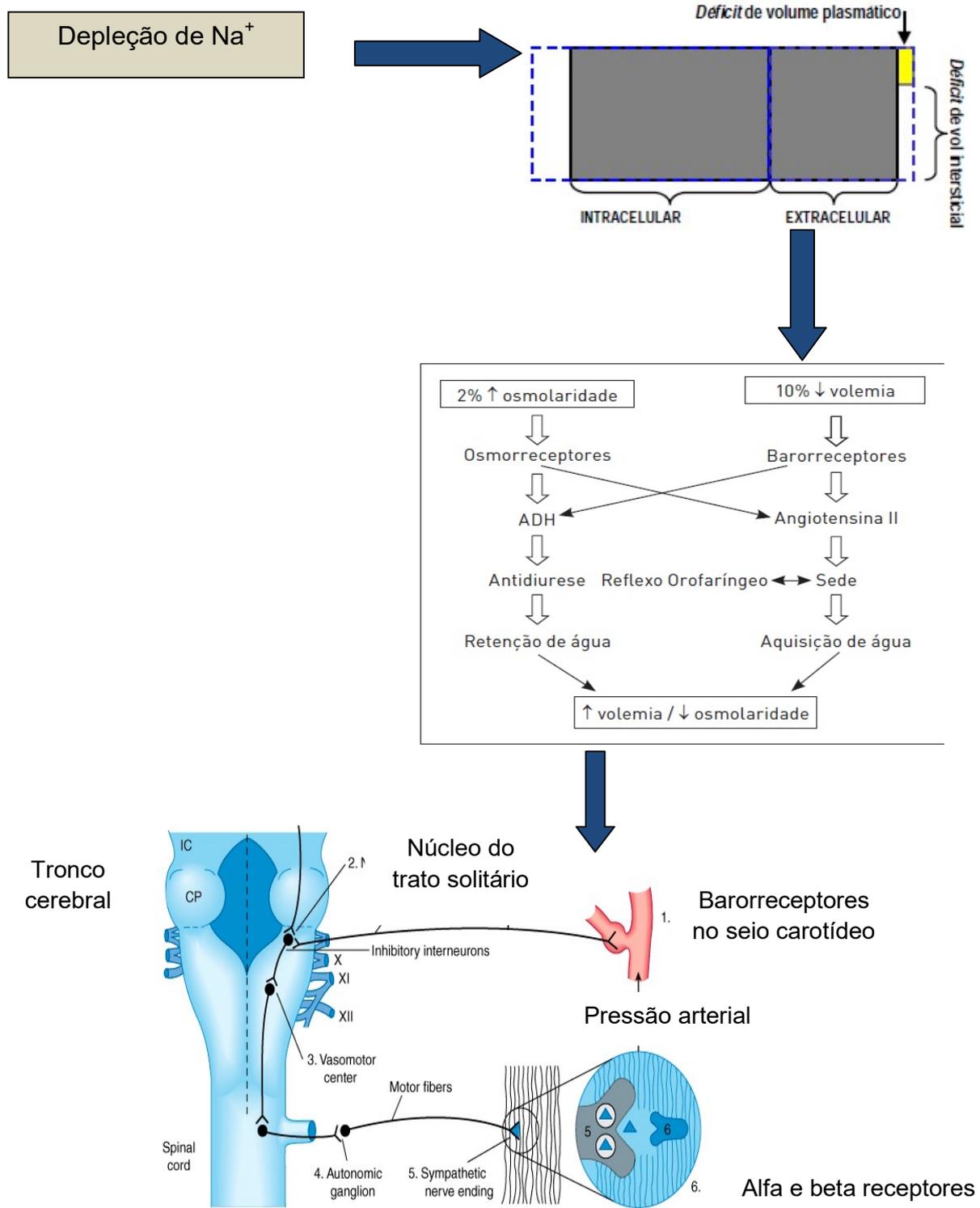
O SRAA tem também papel importante na fisiopatologia da hipertensão genética dos animais SHR por favorecer a vasoconstrição e retenção de sódio, principalmente por induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (COLLET *et al.*, 2013). Alterações vasculares também são observadas nos animais SHR, a camada íntima da aorta sofre deposição de lipoproteínas favorecendo o desenvolvimento da arteriosclerose, redução do diâmetro luminal das artérias, deposição de elastina e colágeno na camada subendotelial da aorta e lesão progressiva da camada íntima da aorta (LIMA *et al.*, 1980).

Diante das descrições sobre os três modelos experimentais da hipertensão e sabendo-se da multifatorialidade associada a gênese desta doença decidiu-se escolher estes três modelos, como objeto de estudo, por serem semelhantes a hipertensão primária que ocorre em humanos como é o caso dos animais SHR e por também mimetizarem as condições da hipertensão secundária, sendo representados pelos modelos renovascular e o modelo de hipertensão induzida pela inibição crônica do NO.

Controle central do apetite por sódio e sua influência no sistema cardiovascular

O comportamento de apetite por sódio é uma característica inata entre os herbívoros, onívoros e alguns pássaros (LESHEM, 2009). O sódio é um dos eletrólitos em maior concentração no fluido extracelular sendo responsável pela manutenção do volume e composição dos fluidos corporais. Exatamente por este motivo as alterações na homeostase do sódio estão associadas à patogênese da hipertensão (DANIELS; FLUHARTY, 2004).

O entendimento dos mecanismos neurobiológicos que medeiam o apetite por sódio é oriundo de estudos realizados em animais de laboratório, especialmente ratos. A depleção de sódio resulta em um estado de desidratação do compartimento extracelular, com redução do fluido corporal total, apresentando efeito considerável sobre as funções cardiovasculares que através dos barorreceptores detectam a redução do volume corporal e ativam a via hormonal e simpática com o objetivo de promover a retenção de água e sódio para posterior restabelecimento dos valores homeostáticos, como mostra o esquema da figura 8 (HURLEY; JOHNSON, 2015). Além disso, a depleção de sódio ativa o sistema nervoso central influenciando um comportamento hedônico que favorece o apetite por sódio. Haja vista que a depleção deste íon faz com que os animais sintam a solução salina mais palatável mesmo sendo oferecidas soluções hipertônicas que normalmente são aversivas para os animais (HURLEY; JOHNSON, 2015).



Source: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ: *Basic & Clinical Pharmacology*, 11th Edition: <http://www.accessmedicine.com>
 Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Figura 8: Alteração dos fatores homeostáticos decorrentes da depleção de Na⁺

Fonte: Autor (2017)

A homeostasia dos fluidos é garantida por mecanismos que mantêm o sódio e a água apropriadamente distribuídos entre os compartimentos intra e extracelular, sendo detectada por osmorreceptores e por barorreceptores responsáveis por ativar o núcleo do trato solitário como sugerido na figura 8. No SNC, descrição na figura 9, as principais regiões com presença destes receptores estão associadas às regiões periventriculares, o núcleo preóptico medial (MnPO), o órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT), o órgão subfornical (SFO) e a área postrema (AP) são caracterizados como órgãos sensoriais circunventriculares. As informações da periferia ascendem pelo núcleo do trato solitário e as provenientes dos órgãos circunventriculares são direcionados para diferentes núcleos prosencefálicos e romboencefálicos importantes para o balanço hidrossalino (MECAWI *et al.*, 2014; JOHNSON, 2007).

O sódio plasmático é filtrado e reabsorvido pelos rins com importante regulação mediada pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). A angiotensina II, liberada via ativação da renina pelas células justaglomerulares, após a liberação de mediadores provenientes da mácula densa, age sobre as arteríolas eferentes aumentando a pressão de filtração. A reabsorção de sódio sofre influência da aldosterona, produzida no córtex adrenal sob regulação da angiotensina II. Por também agir em receptores centrais, a angiotensina II estimula tanto a sede quanto o apetite por sódio (LEV-RAN; PORTA, 2005).

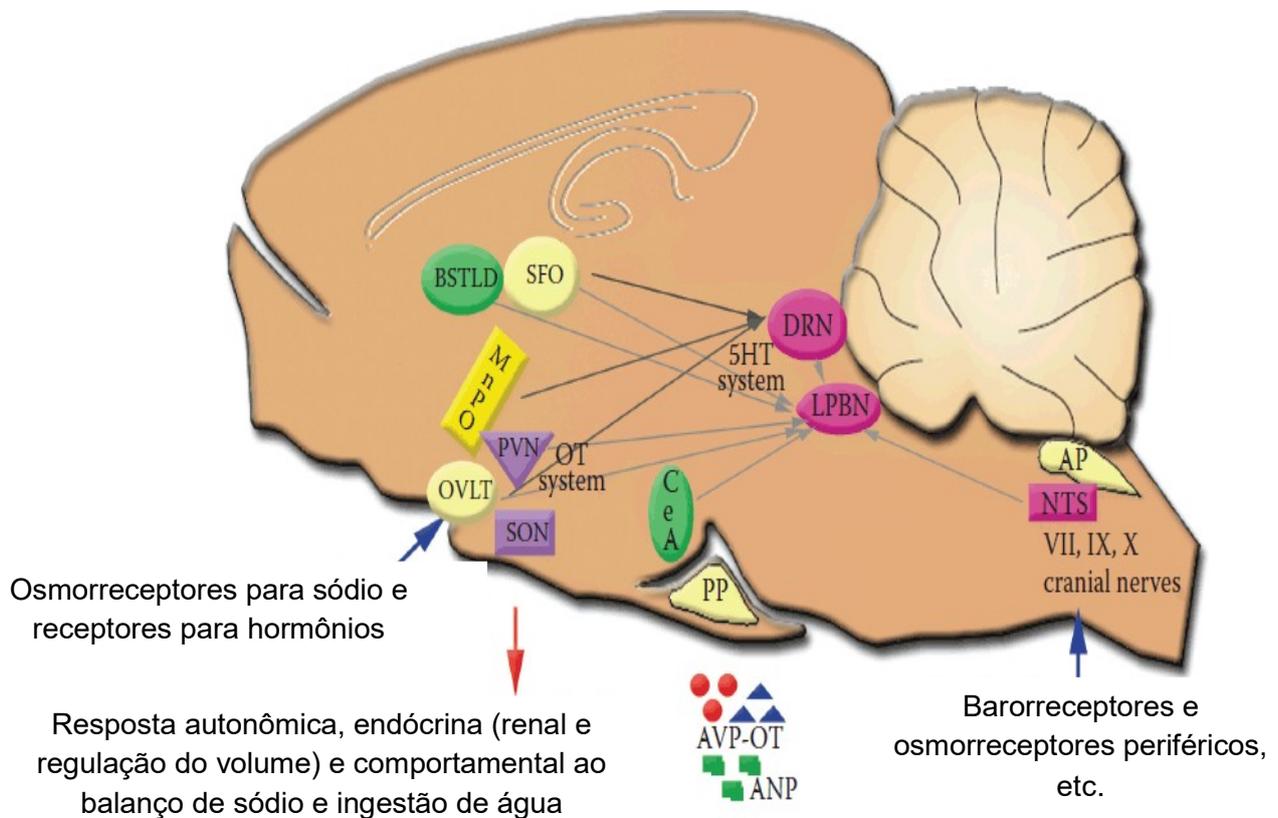


Figura 9: Representação esquemática dos circuitos neuroquímicos envolvidos na regulação dos fluidos corporais

Fonte: VIVAS *et al.*, 2013

Legenda: Áreas envolvidas na regulação fluido eletrolítica descritas na figura 9

AP- Área postrema

DRN- Núcleo dorsal da rafe

LPBN- Núcleo parabraquial lateral

MnPO- Núcleo preóptico medial

NTS- Núcleo do Trato Solitário

OVLT-Órgão vasculoso da lâmina terminal

SFO- Órgão subfornical

SON- Núcleo supraóptico

As setas indicam as comunicações existentes entre as áreas circunventriculares e o NTS

Segundo Kuller (1997) vários estudos têm mostrado associação entre sal e os níveis pressóricos e riscos de doenças cardiovasculares. Lev-Ran; Porta (2002) fazem associação entre o processo evolutivo e o consumo de sal, mostrando que os indivíduos primitivos, devido a baixa ingestão de sal, não desenvolviam hipertensão. Contudo, a mudança do ambiente rural para a cidade, bem como o sedentarismo, favoreceu o aumento do consumo de sal tornando os indivíduos propensos a elevação da pressão arterial ao longo do processo de senescência.

Ritz (2006) faz uma breve descrição através de um estudo de coorte realizado por Denton com 26 chimpanzés ao longo de 3 anos os quais foram submetidos a uma dieta contendo vegetais e frutas e com baixo teor de sal. Subsequentemente os animais foram submetidos, a um período de 27 meses, com quantidades elevadas de sal, comparáveis a ingestão em humanos, e foi verificado aumento considerável da pressão arterial. Estes dados são corroborados pelo trabalho Stocker, Madden, Sved (2010) que mostram associação entre o consumo excessivo de sal e doenças cardiovasculares, morbidade e mortalidade sendo fortemente associada à patogênese da hipertensão.

Cook e Moe (1989) observaram em animais SHR aumento do apetite ao sódio ocorrendo três dias após o nascimento comparado aos animais Wistar, o que justifica o uso desses animais, tanto como modelos animais para caracterização da hipertensão primária, quanto para análise comportamental de ingestão de soluções salinas (PEREIRA-DERDERIAN *et al.*, 2010).

Fármacos Antihipertensivos

Devido à complexidade dos fatores envolvidos na patogênese da hipertensão as drogas anti-hipertensivas podem agir via diminuição do débito cardíaco, da resistência periférica ou ambos os fatores. Entre os principais fármacos utilizados no tratamento da hipertensão podemos citar os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), bloqueadores dos canais de cálcio, diuréticos e drogas com ação central. Alguns estudos têm voltado atenção ao uso de plantas medicinais com o objetivo de desenvolver novos fármacos para a farmacoterapia da hipertensão (HOWELL; SEAR; FOËX, 2004; DPHIL; SEAR, 2004).

Segundo a Organização Mundial da Saúde a planta medicinal é definida como: “Todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos” (VEIGA JR, PINTO, 2005). Os estudos sobre o uso de plantas medicinais têm avançado passando a ser caracterizado como fitoterapia, termo de origem grega, que significa tratamento com base em plantas conforme a descrição etimológica (*phyton*= plantas; *therapeia*= tratamento) (MACHADO, OLIVEIRA, 2014).

No Brasil a Portaria nº 22/1967 descrita pela Agência Sanitária e a Resolução-RDC nº 17/2000 passou a classificar os fitoterápicos como medicamentos (FRANÇA *et al.*, 2007). E em 2006 o estímulo à criação de hortos de espécies medicinais e o seu uso pelo Sistema Único de Saúde foi favorecido pela Portaria MS/GM nº 971 de 3 de maio de 2006 (ROCHA *et al.*, 2015). Neste mesmo ano o Decreto nº 5.813 em 22 de junho cria a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (FIGUEREDO, GURGEL, JUNIOR GURGEL, 2014). O Ministério da Saúde (BRASIL, 2009) descreve na relação nacional de plantas medicinais para o SUS em torno de 71 espécies vegetais selecionadas por regiões que as referenciam seu uso com base no código internacional de doenças caracterizado como CID-10 sendo elas:

1. *Achillea millefolium*
2. *Allium sativum*
3. *Aloe* spp (*Aloe vera* ou *Aloe barbadensis*)
4. *Alpinia* (*Alpinia zerumbet* ou *Alpinia speciosa*)
5. *Anacardium occidentale*
6. *Ananas comosus*
7. *Apuleia ferrea* = *Caesalpinia ferrea*
8. *Arrabidaea chica*
9. *Artemisia absinthium*
10. *Baccharis trimera*
11. *Bauhinia* spp (*Bauhinia affinis*, *Bauhinia forficata* ou *Bauhinia variegata*)
12. *Bidens pilosa*

13. *Calendula officinalis*
14. *Carapa guianensis*
15. *Casearia sylvestris*
16. *Chamomilla recutita* = *Matricaria chamomilla*
17. *Chenopodium ambrosioides*
18. *Copaifera* spp
19. *Cordia* spp (*Cordia curassavica* ou *Cordia verbenacea*)
20. *Costus* spp (*Costus scaber* ou *Costus spicatus*)
21. *Croton* spp (*Croton cajucara* ou *Croton zehntneri*)
22. *Curcuma longa*
23. *Cynara scolymus*
24. *Dalbergia subcymosa*
25. *Eleutherine plicata*
26. *Equisetum arvense*
27. *Erythrina mulungu*
28. *Eucalyptus globulus*
29. *Eugenia uniflora* ou *Myrtus brasiliensis*
30. *Foeniculum vulgare*
31. *Glycine max*
32. *Harpagophytum procumbens*
33. *Jatropha gossypifolia*
34. *Justicia pectoralis*
35. *Kalanchoe pinnata* = *Bryophyllum calycinum*
36. *Lamium album*
37. *Lippia sidoides*
38. *Malva sylvestris*

39. *Maytenus* spp (*Maytenus aquifolium* ou *Maytenus ilicifolia*)
40. *Mentha pulegium*
41. *Mentha* spp (*M. crispa*, *M. piperita* ou *M. villosa*)
42. *Mikania* spp (*Mikania glomerata* ou *Mikania laevigata*)
43. *Momordica charantia*
44. *Morus* spp.
45. *Ocimum gratissimum*
46. *Orbignya speciosa*
47. *Passiflora* spp (*Passiflora alata*, *Passiflora edulis* ou *Passiflora incarnata*)
48. *Persea* spp (*P. gratissima* ou *P. americana*)
49. *Petroselinum sativum*
50. *Phyllanthus* spp (*P. amarus*, *P. niruri*, *P. tenellus* e *P. urinaria*)
51. *Plantago major*
52. *Plectranthus barbatus* = *Coleus barbatus*
53. *Polygonum* spp (*Polygonum acre* ou *Polygonum hydropiperoides*)
54. *Portulaca pilosa*
55. *Psidium guajava*
56. *Punica granatum*
57. *Rhamnus purshiana*
58. *Ruta graveolens*
59. *Salix alba*
60. *Schinus terebinthifolius* = *Schinus aroeira*
61. *Solanum paniculatum*
62. *Solidago microglossa*
63. *Stryphnodendron adstringens* = *Stryphnodendron barbatimam*
64. *Syzygium* spp (*S. jambolanum* ou *S. cumini*)

65. *Tabebuia avellanedae*
66. *Tagetes minuta*
67. *Trifolium pratense*
68. *Uncaria tomentosa*
69. *Vernonia condensata*
70. *Vernonia* spp (*Vernonia ruficoma* ou *Vernonia polyanthes*)
71. *Zingiber officinale*

As plantas medicinais têm ganhado destaque no tratamento de patologias voltadas ao sistema cardiovascular haja vista o número de espécies de plantas que apresentam glicosídeos, terpenos, flavanoides e alcaloides com efeito cardioprotetor (RASTOGI; PANDEY; RAWAT, 2016). Dentre as plantas utilizadas na obtenção de fármacos temos a *Salix alba*, que foi o substrato para o desenvolvimento da aspirina a qual é utilizada na prevenção do infarto agudo do miocárdio, a *Monascus purpureus*, base para confecção da lovastatina, usado no tratamento de hipercolesterolemia e a *Rauwolfia serpentina*, base para a reserpina, um efetivo alcalóide no tratamento da hipertensão (AL DISI; ANWAR; EID, 2016).

Diversas plantas são descritas na literatura com foco no tratamento de doenças cardiovasculares entre elas podemos citar algumas tais como, o *Allium sativum* L (Amaryllidaceae), designada comumente como alho, que tem ganhado destaque nas pesquisas devido sua ação hipotensora, anti-inflamatória e antioxidante (LIU; HUANG, 2016). O *Cinnamomum zeylanicum*, ou também conhecido como canela, tem sido descrito na literatura por apresentar efeito hipotensor em diferentes modelos de ratos, além de favorecer o aumento nos níveis de NO em animais com hipertensão induzida por L-NAME (ANWAR; AL DISI; EID, 2016). Ng et al., (2011) mostraram que a *Salvia miltiorrhiza*, erva originária da China, foi capaz de diminuir os valores da pressão arterial em animais SHR com seis semanas, ou seja, no estágio pré-hipertensivo. Em seu artigo de revisão Mashour et al., (1998) mostram uma diversidade de plantas usadas no tratamento de doenças cardiovasculares, principalmente na hipertensão, entre elas a *Stephania tetrandra*, que possui como extrato alcalóide a tetrandrina que tem apresentado ação

importante como antagonista dos canais de cálcio, com redução dos valores de pressão sistólica e diastólica por em média 30 minutos.

Dentre os diversos compostos presentes nas plantas medicinais usadas na farmacoterapia estão os terpenóides, que são caracterizados como grupamentos orgânicos formados por unidades repetidas de cinco carbonos também descritos como isoprenos (Figura 10). Dependendo da quantidade de isoprenos agregados a estrutura dos terpenos os mesmos podem ser descritos como monoterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpeno, sesquiterpeno, politerpeno (SANTOS *et al.*, 2011). Os terpenos podem apresentar ação como agonistas ou antagonistas dos TRP (*Transient Receptor Potential*) os quais apresentam importante papel no sistema cardiovascular (DANTAS *et al.*, 2015).

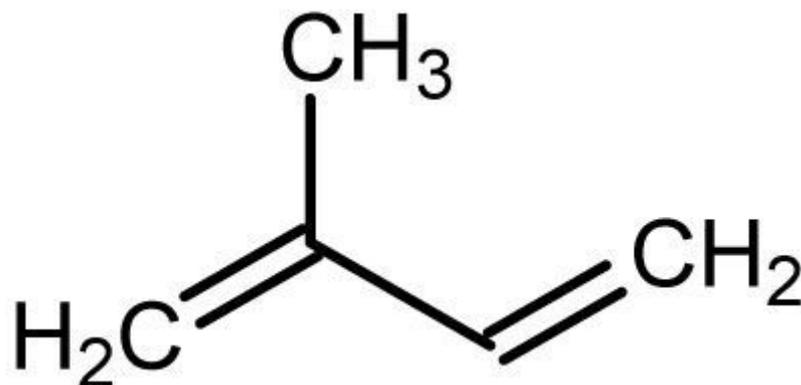


Figura 10: Fórmula estrutural do isopreno

Fonte: Página do *About Education*

Os metabólitos secundários são usados pelas plantas principalmente, como mecanismo de defesa contra bactérias, fungos, parasitas e até contra ataque de herbívoros, dentre os diversos metabólitos produzidos pelas plantas estão os óleos essenciais, os quais são descritos como substâncias voláteis e com consistência oleosa (BASSOLÉ; JULIANI, 2012). A extração dos óleos essenciais das plantas tem sido usada pelo homem com diversas aplicações tais como, a composição de cosméticos, como aditivos alimentares, na agricultura e na medicina (PERRICONE *et al.*, 2015). As propriedades terapêuticas das plantas estão associadas à composição química dos metabólitos secundários que estão presentes nos óleos

essenciais. A composição química dos óleos essenciais é importante para definir suas ações, assim sendo, os óleos que apresentam como componentes aldeídos e fenóis (cital, carvacrol, eugenol, timol, cinaldeído) têm sido descritos por apresentarem alta atividade antibacteriana em seguida vem os óleos essenciais que apresentam terpenos em sua constituição (BASSOLÉ; JULIANI, 2012).

A composição sofre variação de espécie para espécie e pode depender de fatores climáticos, agrônômicos e do próprio estágio de desenvolvimento da planta no momento da colheita (PAVIANI, 2004). Os terpenos, nas descrições de Paduch *et al.*, (2007) são produtos comuns tanto, em plantas quanto, em animais mostrando ampla ação biológica em patologias como câncer, tratamento antimicrobiano, antifúngico, antiviral, antihiperlipemizante, anti-inflamatório.

Os óleos essenciais podem ser extraídos de diferentes partes da planta tais como, raízes, cascas, folhas, sementes, frutos como é possível observar na tabela 1 descrita por Tongnuanchan; Benjakul (2014). Os métodos de extração dos óleos essenciais conforme Hamid, Aiyelaagbe, Usman (2011) incluem a hidrodestilação, hidrodifusão, enfloração, pressão por frio, destilação a vapor, extração por solvente, processo assistido por microondas, extração por dióxido de carbono. Dentre os diversos constituintes dos óleos essenciais o enfoque do trabalho estará pautado apenas nos efeitos do terpeno carvacrol.

Quadro 1: Partes da planta usadas para extração dos óleos essenciais

Fonte: TONGNUANCHAN; BENJAKUL, 2014

Folhas	Eucalipto, citronela, orégano, patchouli, chá verde, timol, entre outros
Sementes	Amêndoa, anis, cardamomo, cominho, cenoura aipo, coentro, cominho, noz-moscada, salsa, erva-doce
Madeiras	Atlas cedro, cedro Himalaia, cânfora, pau-rosa, sândalo, murta
Bagas	Pimenta da Jamaica, zimbro
Resina	Incenso, mirra
Raízes	Açafrão, valeriana, vetiver, nardo, angelica
Frutos	Noz-moscada, pimenta preta
Flores	Camomila, sálvia, cravo, cominho, gerânio, helichrysum, hissopo, jasmim, lavanda, Manuka, manjerona, laranja, rosa, baccharises, palmarosa, patchouli, rododendro, anthopogon, Rosalina, ajowan, ylang-ylang, manjerona sylvestris, estragão, Immortelle, neroli

Carvacrol

O carvacrol (2-metil-5-(1-metil etil)) é encontrado como constituinte do óleo essencial de diversas famílias: Lamiaceae, Euforbiaceae e Verbanaceae. Nas espécies *Origanum minutiflorum* e *Origanum onites* o carvacrol compõe 92% do óleo essencial destas plantas (AYDIN *et al.*, 2007). O orégano é da família Lamiaceae, sendo caracterizado como uma planta aromática, perene, com altura entre 20-80cm distribuída e cultivada principalmente no Mediterrâneo, mas também na Europa, Ásia, África do Norte e América (VERMA *et al.*, 2010). A terminologia orégano é generalizada a diversas famílias e gêneros por corresponder ao odor característico decorrente da alta quantidade de carvacrol em sua composição (STEFANAKI *et al.*, 2016). Os principais componentes químicos do óleo essencial são frações químicas do isômero timol e carvacrol. Especificamente, o carvacrol é um monoterpreno fenólico descrito bioquimicamente como (2-metil-5-(1-metil etil) fenol e sua fórmula estrutural na figura 11 a seguir (VERMA *et al.*, 2010).

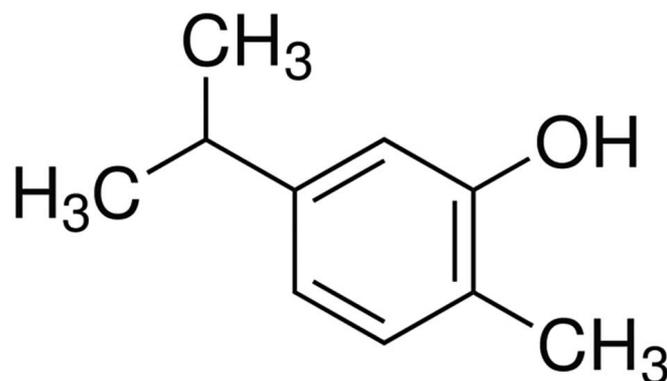


Figura 11: Fórmula estrutural do carvacrol

Fonte: JIANG; PU; HAO (2015)

A literatura tem mostrado que o carvacrol apresenta múltiplas atividades biológicas, tais como, antimicrobial, anti-inflamatória, antitumoral, atividade antihepatóxica. Lima *et al.*, (2013) mostraram a ação anti-inflamatória do carvacrol em modelo de inflamação induzido em camundongos através da redução da expressão de IL-1 β e PGE2 importantes mediadores do processo inflamatório com

consequente aumento da expressão da citocina IL-10. Além disso, o CVC é capaz de inibir a ciclooxigenase, fator limitante para a síntese de prostaglandina o que justifica sua atividade anti-inflamatória e analgésica (SUNTRES; COCCIMIGLIO; ALIPOUR, 2015).

Guimarães *et al.*, (2010) observaram que o carvacrol apresenta também efeito antioxidante, pois por apresentar um caráter ácido o carvacrol ao reagir com um radical livre doa átomos de hidrogênio produzindo um radical com estabilidade eletrônica.

Zeytinoglu; Incesu, Baser (2003) mostraram que o carvacrol o crescimento celular de células de mioblasto que tiveram ativação do oncogene N-ras sugerindo, possivelmente, a sua ação na terapia do câncer. O carvacrol tem também importante papel na diminuição da liberação de mediadores da dor em pacientes com neoplasia, controle esse ocorrendo via ativação de áreas cerebrais envolvidas na via descendente de controle inibitório da dor (GUIMARÃES *et al.*, 2015).

Estudos também mostram que o carvacrol apresenta efeito relaxante na musculatura lisa da traquéia. Kianmehr, Rezaei, Boskabady (2016) sensibilizaram por 14 dias camundongos com ovalbumina para favorecer o processo asmático. Posteriormente, foi feita a retirada dos esplenócitos para cultivo com carvacrol nas concentrações de 75, 150 e 300µg/ml com isso foi possível observar que o carvacrol favoreceu a diminuição da expressão dos genes para IL-4, TGF-β e IL-17 indicando possível ação terapêutica do carvacrol nos processos alérgicos.

Em diversos transtornos neurológicos, como acidente vascular cerebral, hemorragia subaracnóide, anóxia induzida por parada cardiorespiratória demonstrou-se que a técnica de hipotermia terapêutica favorece a redução da demanda cerebral por oxigênio reduzindo a mortalidade dos pacientes (RECH; VIEIRA, 2010). Feketa; Marrelli (2015) observaram que a administração intraperitoneal de carvacrol induz hipotermia via ativação dos canais TRPV3 em camundongos C57Bl/6, sendo esta uma possível estratégia neuroprotetora. Zhong *et al.*, (2013) mostraram que a injeção intraperitoneal de carvacrol em camundongos apresenta efeito protetor contra a hemorragia cerebral.

O carvacrol apresenta também efeito antidepressivo, como foi observado por Melo *et al.*, (2011), após tratamento agudo via oral de camundongos com carvacrol

nas doses de 12.5, 25 e 50 mg/kg diminuindo o tempo de imobilidade no teste do nado forçado e no teste de suspensão caudal.

Aydin *et al.*, (2007) mostraram que a injeção intraperitoenal de carvacrol na dose de 100µg/kg em animais hipertensos induzidos pelo tratamento com L-NAME causou imediata redução da pressão arterial média, contudo o experimento fora conduzido em animais anestesiados. Em 2015 o grupo de Dantas *et al.*, mostraram que o carvacrol induz bradicardia e hipotensão em animais Wistar, não anestesiados, via canais TRP.

Levando-se em consideração os dados apresentados nesta revisão, fica evidente a importância de estudos que enfoquem os mecanismos da fisiopatogenia da hipertensão arterial e da relação entre apetite por sódio e a hipertensão, bem como o estudo de possíveis alternativas terapêuticas com o uso de plantas medicinais.

Diante da gama de ações do carvacrol, até o presente momento, a literatura ainda não tem descrito o seu efeito em modelos experimentais de hipertensão bem como não tem apresentado o seu efeito no comportamento de ingestão de sódio. Sendo assim, nos propusemos a estudar os efeitos do carvacrol em três diferentes modelos de hipertensão que foram: hipertensão renovascular; hipertensão induzida pelo tratamento oral com L-NAME e no modelo de hipertensão espontânea (SHR), além do seu papel central no controle cardiovascular e no apetite por sódio e água em animais SHR, principalmente por apresentar atividades que podem melhorar o processo hipertensivo tais como, atividade antiplaquetária, atividade anti-inflamatória, atividade imunomodulatória e antioxidante como bem descrevem Alagawany *et al* (2015).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito do carvedilol administrado central e periféricamente sobre a pressão sanguínea e a ingestão de sódio em ratos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Verificar a ação periférica do CVC na PA e na FC em animais com hipertensão vascular

3.2.2 Averiguar a ação periférica do CVC na PA e na FC em ratos com hipertensão renovascular.

3.2.3 Examinar a ação periférica do CVC sobre a PA e FC em ratos espontaneamente hipertensos.

3.2.4 Estudar a ação central do CVC sobre a PA e a FC em animais espontaneamente hipertensos.

3.2.5 Avaliar a ação central do CVC no apetite por sódio em animais espontaneamente hipertensos.

4 HIPÓTESES

- A administração endovenosa de CVC em ratos com hipertensão vascular tem efeito hipotensor e bradicárdico.
- O CVC induz hipotensão e bradicardia em animais com hipertensão renovascular.
- Em animais espontaneamente hipertensos a administração endovenosa de CVC tem efeito hipotensor e bradicárdico.
- A administração intracerebroventricular de CVC induz hipotensão e bradicardia
- A administração intracerebroventricular de CVC inibe o apetite por sódio em animais espontaneamente hipertensos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar (200-250g) e ratos geneticamente hipertensos (SHR- 13-16 semanas) provenientes do Biotério Setorial do Laboratório de Neurociências do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Ciências e Saúde (CEUA-ICS-026/2012). O critério para o cálculo do tamanho da amostra foi realizado com o auxílio do programa sigmaplot versão 12, considerando um p de 0,05, o tamanho estimado da amostra de cada grupo foi de mínimo de 5 e máximo de 10 animais.

5.2 FÁRMACOS E INSUMOS

Carvacrol (icv) concentrações: (CVC) 150 e 300 $\mu\text{g}/2 \mu\text{l}$ (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)

Óleo de milho (icv): 2 μl

Carvacrol (ev): doses: 1,25; 2,5; 5,0; 10; 15 mg/kg

Cremophor 2% (ev)

Furosemida- diurético de alça (sc): 10mg/ml

L-NAME- 5mg/0,1ml/100g (og)

Salina- 0,9%

Cetamina/ xilazina- 80/11,5 mg/kg

Para as injeções centrais o carvacrol foi emulsificado em óleo de milho, após estudo piloto para verificação do melhor emulsificante usando Tween, cremophor e óleo de milho, este ultimo foi o único que não alterou os valores de pressão arterial. Contudo, para as injeções endovenosas o carvacrol foi emulsificado com cremophor e salina visto que o uso do óleo de forma endovenosa poderia induzir um processo de embolia.

5.3 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

5.3.1 Implante de cânula no ventrículo lateral (VL) e microinjeção

Para o implante de cânulas de aço inoxidável (12x0, 7 mm) no ventrículo lateral os SHR foram anestesiados com cetamina/xilazina (80/11,5 mg/kg) intraperitoneal. As seguintes coordenadas estereotáxicas do Atlas Paxinos (1986) foram usadas: Antero-posterior: 0,9 mm; lateral: 1,2 mm; vertical= 4,0 mm. Todas as medidas tiveram como referência a linha sagital e o bregma.

As cânulas de aço inoxidável foram fixadas ao crânio, bem como o parafuso de aço inoxidável, comacrílico odontológico. Para prevenir possíveis obstruções das cânulas, mandris de aço inoxidável foram inseridos nas mesmas. Após o procedimento cirúrgico os animais receberam doses profiláticas de pentabiótico veterinário (benzilpenicilina benzatina 24,000 UI; benzilpenicilina procaína 12,000 UI; benzilpenicilina potássica 12,000 UI; diidroestreptomicina; base 10 mg estreptomicina base 10 mg - 0,2 ml/rato; im) e anti-inflamatório/analgésico (flunixin meglumina 2,5 mg/kg; sc).

Após o implante das cânulas centrais os animais foram mantidos em caixas individuais em sala com temperatura de 22 ± 2 °C e luz controlada com período de claro/escuro de 12h sendo disponibilizados livremente ração e água filtrada durante o período pós-operatório. Durante quatro dias os animais foram diariamente manipulados para adaptação às condições experimentais.

Foram utilizadas microsseringas Hamilton de 10 µl (Hamilton Co. Inc.) para a microinjeção de drogas através das cânulas centrais. As microsseringas eram conectadas ao tubo de polietileno (PE10) e a agulha injetora Gengival 30G de 13 mm. O volume injetado no ventrículo lateral foi de 2µl. As drogas utilizadas foram obtidas da Sigma Aldrich da Tocris Cookson, Inc. Ballwin, M.O.:

5.3.2 Cateterização da carótida e femoral

Os animais foram anestesiados com cetamina/xilazina (80/11, 5 mg/Kg) intraperitoneal para implante na carótida esquerda e na veia femoral de catéter de

polietileno (PE50) e preenchido com solução de heparina (1000U/ml) sendo este exteriorizado no dorso do animal.

Após o procedimento cirúrgico os animais receberam doses profiláticas de pentabiótico veterinário (benzilpenicilina benzatina 24,000 UI; benzilpenicilina procaína 12,000 UI; benzilpenicilina potássica 12,000 UI; diidroestreptomicina base 10 mg estreptomicina base 10 mg - 0,2 ml/rato; i.m) e antiinflamatório/analgésico (flunixinina meglumina 2,5 mg/kg; sc)

5.4 INDUÇÃO DA HIPERTENSÃO

5.4.1 Indução da hipertensão vascular

Para indução da hipertensão vascular ratos Wistar (200-220g), foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12h e temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ com ração e água *ad libitum* até o dia do experimento, e receberam por 7 dias administração por via orogástrica de L-NAME (5mg/0.1ml/100g do peso corpóreo do animal) para indução da hipertensão.

5.4.2 Indução de hipertensão renovascular 1rim/1 clipe

Ratos Wistar (200-220g) foram anestesiados com cetamina/xilazina (80/11, 5 mg/Kg) intraperitoneal para inserção de um clipe de aço inoxidável com abertura de 20mm na artéria renal esquerda e retirada do rim contralateral. Após o procedimento cirúrgico os animais receberam doses profiláticas de pentabiótico veterinário (benzilpenicilina benzatina 24,000 UI; benzilpenicilina procaína 12,000 UI; benzilpenicilina potássica 12,000 UI; diidroestreptomicina base 10 mg estreptomicina base 10 mg - 0,2 ml/rato; i.m) e antiinflamatório/analgésico (flunixinina meglumina 2,5 mg/kg; sc) foram mantidos em caixas individuais em sala com temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ e luz controlada com período de claro/escuro de 12h sendo disponibilizados livremente ração e água filtrada durante o período pós-operatório ao longo de 21 dias para o desenvolvimento da hipertensão renovascular.

5.5 REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL PULSÁTIL

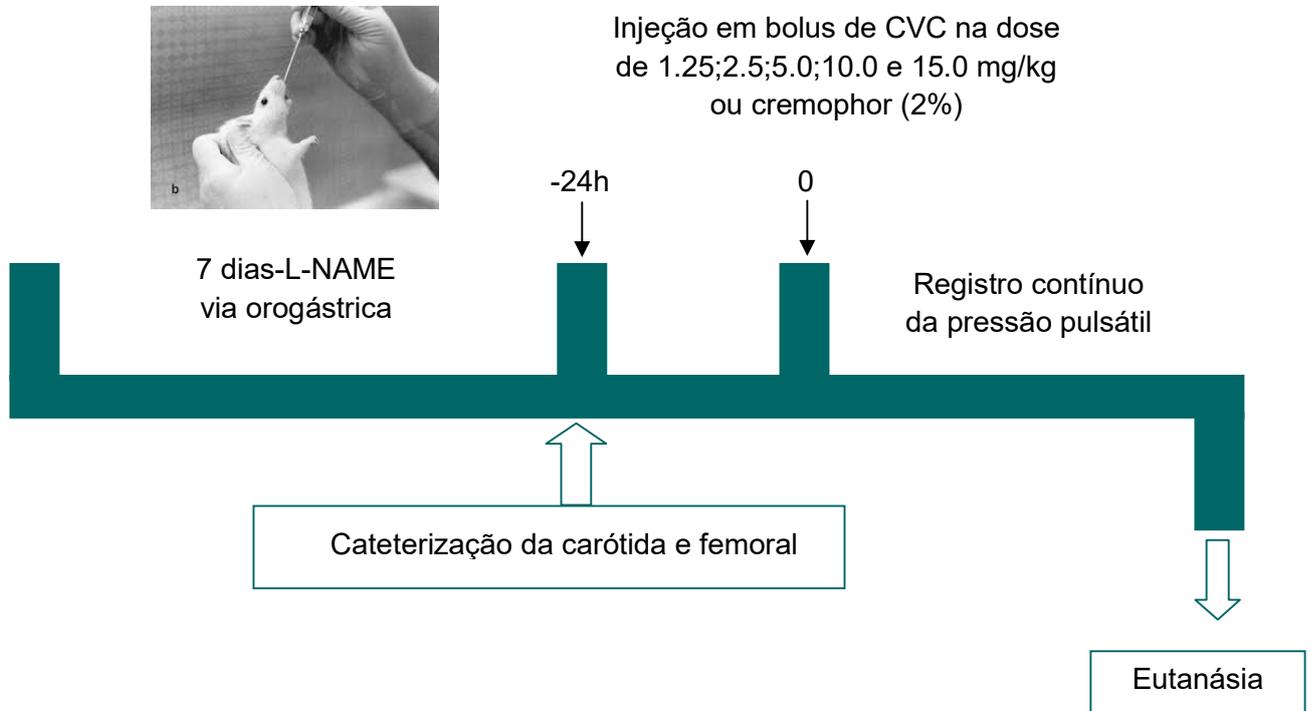
Para verificação dos valores de pressão pulsátil os animais tiveram seus catéteres de carótida conectados ao transdutor de pressão arterial e este ao amplificador e ao sistema de aquisição de dados (AqDados versão 5,0 – Lynx Tecnologia Eletrônica Ltda). A taxa de aquisição de dados foi de 1000Hz, a pressão sistólica, diastólica e a frequência cardíaca foram calculadas a partir do registro da pressão pulsátil através do programa de software Acqknowledge e LabChart.

O registro da pressão pulsátil foi usado para calcular a pressão sistólica, a pressão diastólica, pressão arterial média e a frequência cardíaca através do programa LabChart (7, USA).

Foi tomado como valor de pressão e da frequência cardíaca o pico máximo da ação do carvacrol.

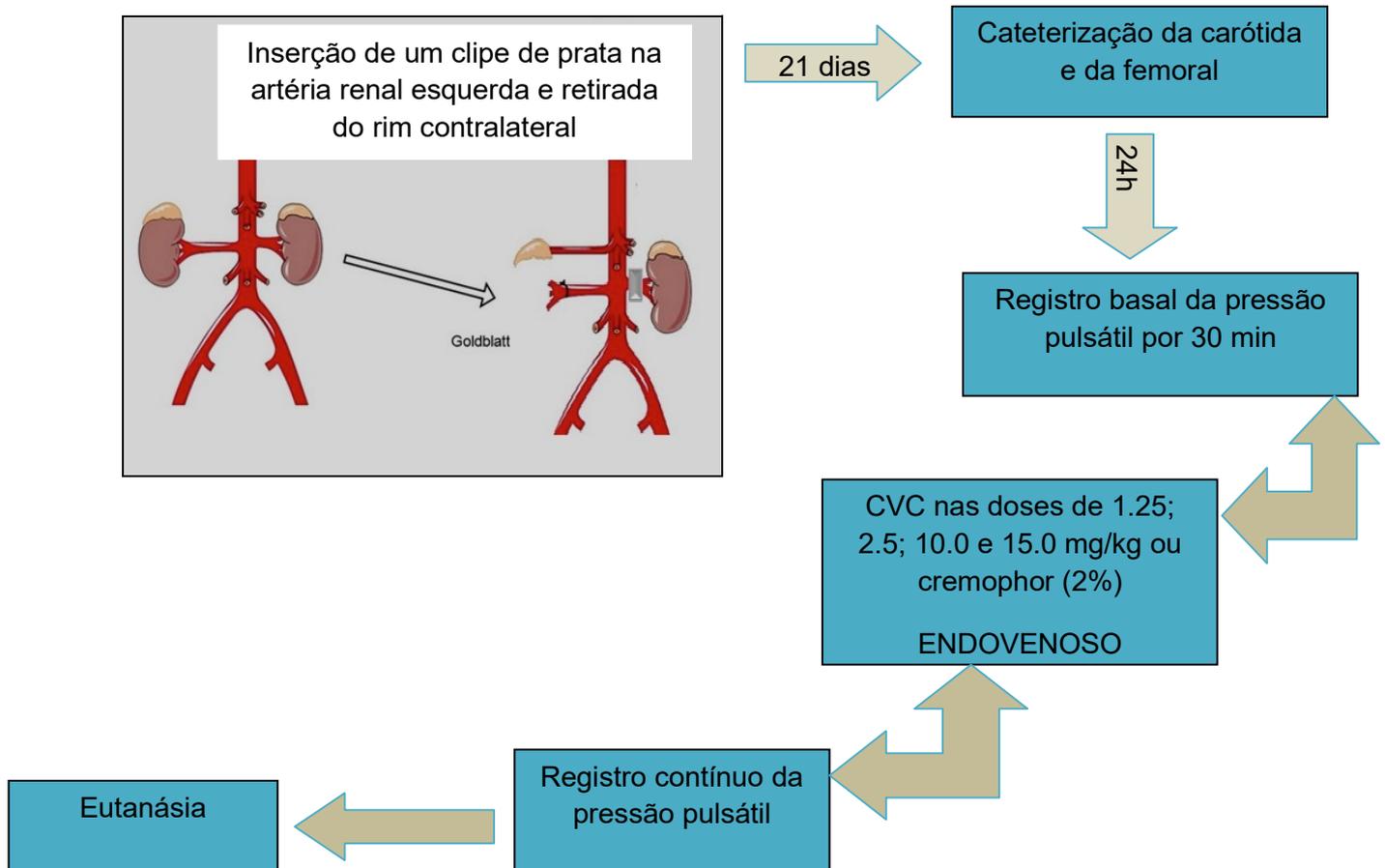
5.6 DESCRIÇÃO DOS PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

GRUPO EXPERIMENTAL 1: Respostas cardiovasculares do carvacrol no modelo de hipertensão vascular induzido por tratamento crônico com L-NAME



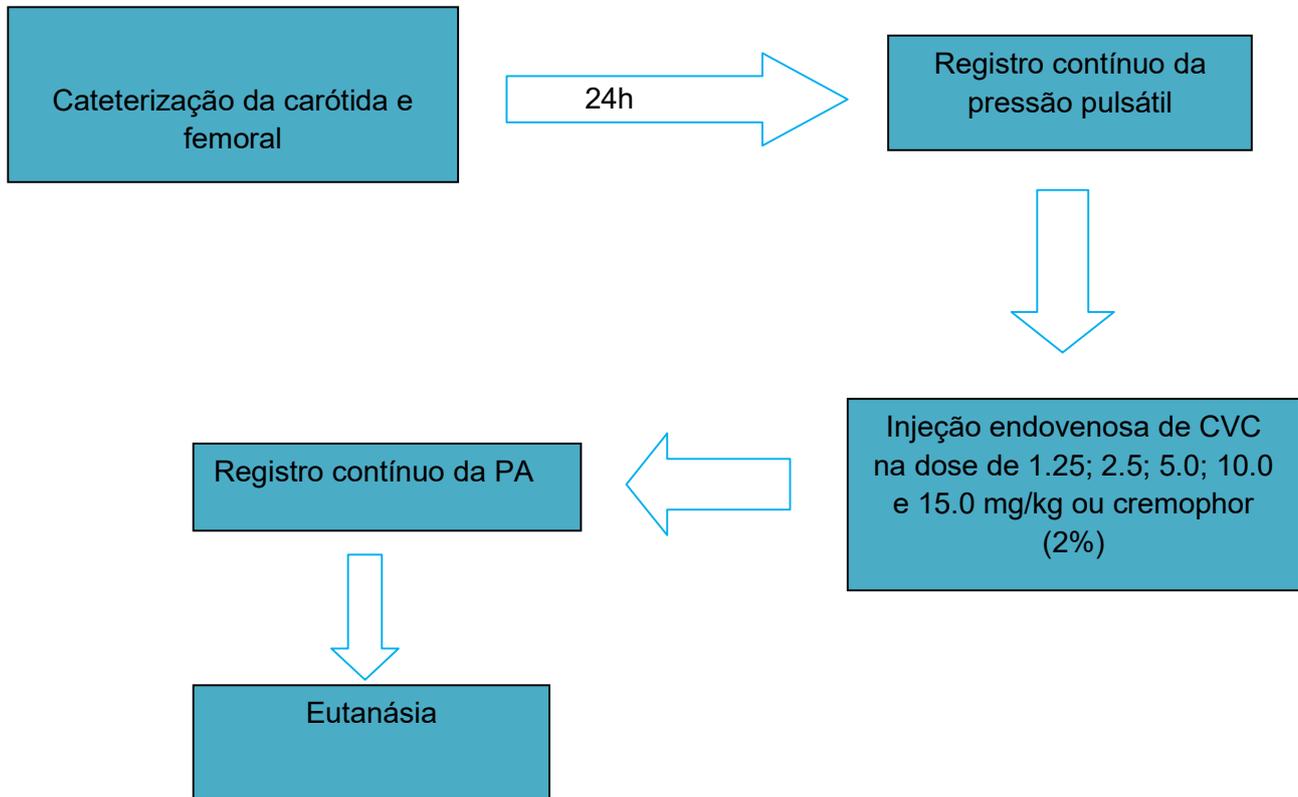
Os animais Wistar (220-250g) foram tratados por 7 dias com L-NAME (5mg/0.1ml/100g) via administração orogástrica para indução da hipertensão. No sétimo dia os animais foram submetidos a um procedimento cirúrgico para o implante do catéter na carótida esquerda e na femoral. O experimento iniciou-se 24h após este procedimento e os animais tiveram o catéter de carótida conectado ao transdutor de pressão com registro da pressão pulsátil basal por 30 min. A seguir diferentes grupos de animais receberam injeção endovenosa de carvacrol emulsificado em cremophor 2% e diluído em salina 0,9% nas doses de 1.25 (n=9); 2.5 (n=5); 5.0 (n=5); 10.0 (n=6) e 15.0 mg/kg (n=5) ou cremophor 2% e salina 0,9% (n=8). Cada animal recebeu, de forma randomizada, duas doses de CVC ou CVC mais veículo de forma aleatória.

GRUPO EXPERIMENTAL 2: Respostas cardiovasculares do carvacrol no modelo renovascular de hipertensão.



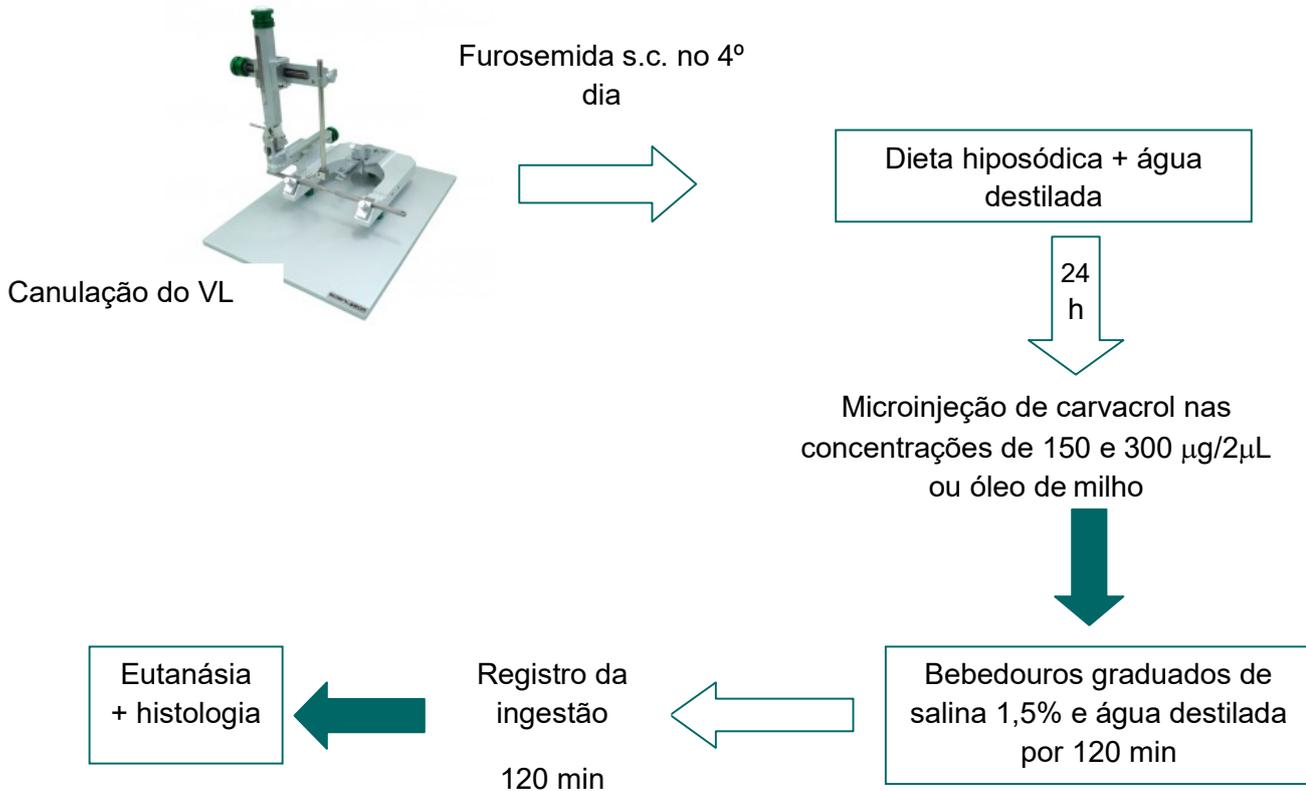
Os animais Wistar (200-220g) após os 21 dias de inserção do clipe de prata na artéria renal esquerda e remoção do rim direito foram submetidos a um procedimento cirúrgico para o implante do catéter na carótida esquerda e na femoral. Iniciaram-se os experimentos 24h após este procedimento e os animais tiveram o catéter de carótida conectado ao transdutor de pressão com registro da pressão pulsátil basal por 30 min. A seguir diferentes grupos de animais receberam injeção endovenosa de carvacrol emulsificado em cremophor (2%) e diluído em salina 0,9% nas doses de 1.25 (n=4); 2.5 (n=4); 10.0 (n=4) e 15.0 mg/kg (n=6) ou cremophor a 2% diluído em salina 0,9%(n=6). Cada animal recebeu, de forma randomizada, duas doses de CVC ou CVC mais veículo de forma aleatória.

GRUPO EXPERIMENTAL 3: Respostas cardiovasculares do carvacrol em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).



Os animais SHR passaram por um procedimento cirúrgico para o implante do catéter na carótida esquerda e na femoral e 24h após este procedimento os animais tiveram o catéter de carótida conectado ao transdutor de pressão com registro da pressão pulsátil basal por 30 min. A seguir diferentes grupos de animais receberam injeção endovenosa de carvacrol emulsificado em cremophor (2%) e diluído em salina 0,9% nas doses de 1.25 (n=6); 2.5 (n=5); 5.0 (n=5); 10.0 (n=5) e 15.0mg/kg (n=7) ou cremophor(2%) (n=7). Cada animal recebeu, de forma randomizada, duas doses de CVC ou CVC mais veículo de forma aleatória.

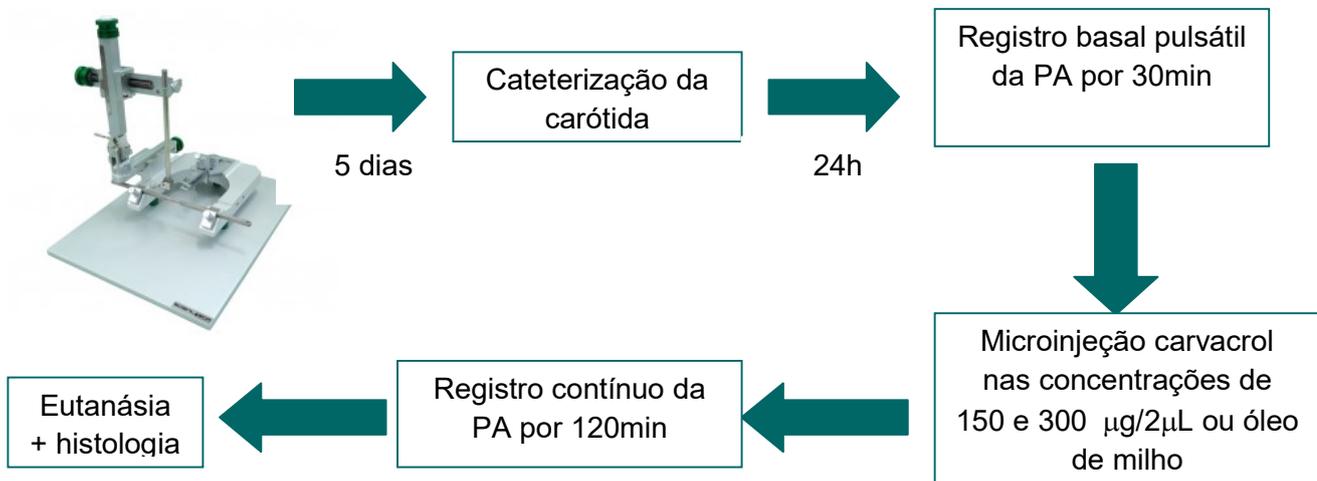
GRUPO EXPERIMENTAL 4: Estudo do efeito do carvacrol intracerebroventricular (VL) sobre o apetite por sódio em SHR sódio-depletados



Os SHR sódio-depletados receberam microinjeções no ventrículo lateral de carvacrol nas concentrações de 150 (n=10) e 300 $\mu\text{g}/2\mu\text{L}$ (n=8). Os animais controle receberam óleo de milho (n=9). Em seguida os animais tiveram livre acesso a bebedouros graduados contendo salina 1,5% e água destilada. Os volumes ingeridos foram registrados nos tempos de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min.

GRUPO EXPERIMENTAL 5: Estudo do papel do carvedilol nas respostas cardiovasculares centrais em animais espontaneamente hipertensos SHR.

Canulação do VL



Os animais SHR receberam microinjeções centrais de carvedilol nas concentrações de 150 (n=6) e 300 $\mu\text{g}/2\mu\text{L}$ (n=7). As concentrações foram utilizadas com base em trabalhos anteriores do laboratório. Os animais controle receberam óleo de milho (n=6). Os animais foram mantidos conectados ao transdutor de pressão para verificação da ação do carvedilol por 120 minutos. Os valores da PA e da FC foram calculados a partir dos valores da pressão pulsátil a cada 5 minutos tomando 60 segundos de registro.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Para a análise estatística dos parâmetros cardiovasculares usou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via (ONE-WAY) seguido do pós-teste de Bonferroni. Adotou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Para análise estatística do comportamento ingestivo utilizou-se o teste de análise de variância (ANOVA) de duas vias (TWO-WAY) seguido do teste de pós-teste de Bonferroni. Adotou-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

6 RESULTADOS

6.1 AÇÃO HIPOTENSORA E BRADICÁRDICA DO CVC EM RATOS COM HIPERTENSÃO APÓS ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE L-NAME

A injeção endovenosa do carvacrol nos ratos hipertensos após tratamento crônico com L-NAME reduziu de forma significativa os parâmetros cardiovasculares: pressão sistólica, pressão arterial média, pressão diastólica e frequência cardíaca (Figura 12 e 13). O painel A mostra o efeito inibitório do carvacrol nos valores da pressão sistólica. Observa-se que nas doses de 10,0 mg/kg e 15,0 mg/kg do carvacrol o efeito inibitório foi significativo, com queda da PS em torno de 60 mmHg, quando comparado com o grupo controle representado no gráfico como 0 de carvacrol. Havendo também diferença em relação a dose de 1,25mg/kg. O resultado da ANOVA é $F_{(5,32)} = 13,93$ e $p \leq 0,0001$. Em relação à pressão arterial média o painel B mostra que há diferença estatística com queda dos valores em 60mmHg entre as doses de 2,5; 5,0; 10,0 e 15,0 mg/kg do carvacrol em relação ao grupo controle. As doses de 10,0 mg/kg e 15,0 mg/kg mostram diferença significativa entre as doses de 1,25 mg/kg e 2,5 mg/kg do carvacrol. As doses de 2,5 mg/kg e 5,0 mg/kg do carvacrol mostram diferença estatística entre a dose de 1,25 mg/kg do carvacrol. Os dados da ANOVA mostram $F_{(5,32)} = 30,19$ e $p \leq 0,0001$. No painel C observamos o efeito do carvacrol sobre os valores da pressão diastólica, com queda aproximada de 80 mmHg, havendo significância estatística em relação ao grupo controle a partir de dose de 2,5 do carvacrol. Os grupos que receberam as doses de 5,0 mg/kg, 10,0 mg/kg e 15,0 mg/kg foram estatisticamente diferentes entre os grupos que receberam doses de CVC de 1,25 mg/kg e 2,5mg/kg com valores de ANOVA com $F_{(5,32)} = 30,19$ e $p \leq 0,0001$. A resposta do CVC é de natureza fugaz, mas intensa como pode ser observado no traçado típico da pressão pulsátil do carvacrol na dose de 15 mg/kg descrito na figura 14.

A figura 13 mostra a ação do carvacrol sobre a FC, sendo possível observar o efeito bradicárdico estatisticamente significativo nas doses de 5,0 mg/kg, 10,0 mg/kg e 15,0 mg/kg do carvacrol quando comparado com o grupo controle caracterizado como 0 de carvacrol no gráfico. Contudo estas doses mostram diferença entre as doses de 1,25 mg/kg e 2,5 mg/kg. Os dados da ANOVA mostram $F_{(5,32)} = 30,16$ e $p \leq 0,0001$.

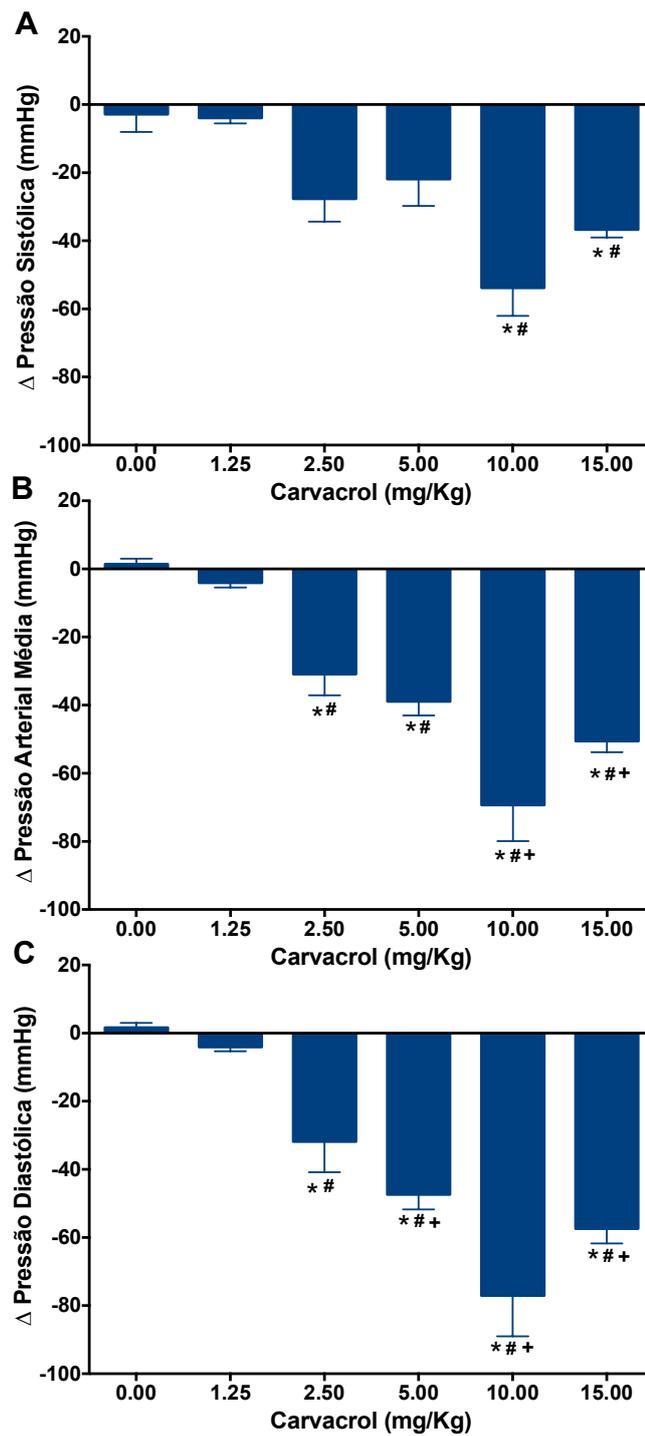


Figura 12. Alteração da PAS, PAM e PAD em animais hipertensos induzidos por tratamento crônico com L-NAME após injeção endovenosa de diferentes doses de carvedilol. Os resultados são expressos como \pm EPM. * indica diferença estatística entre os animais tratados com cremophor e as doses de 2,5 mg/kg (n=5), 5 mg/kg (n=5), 10 mg/kg (n=6) e 15 mg/kg (n=5) do carvedilol. # Indica diferença estatística significativa em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 1,25 mg/kg + indica diferença estatística em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 2,5 mg/kg.

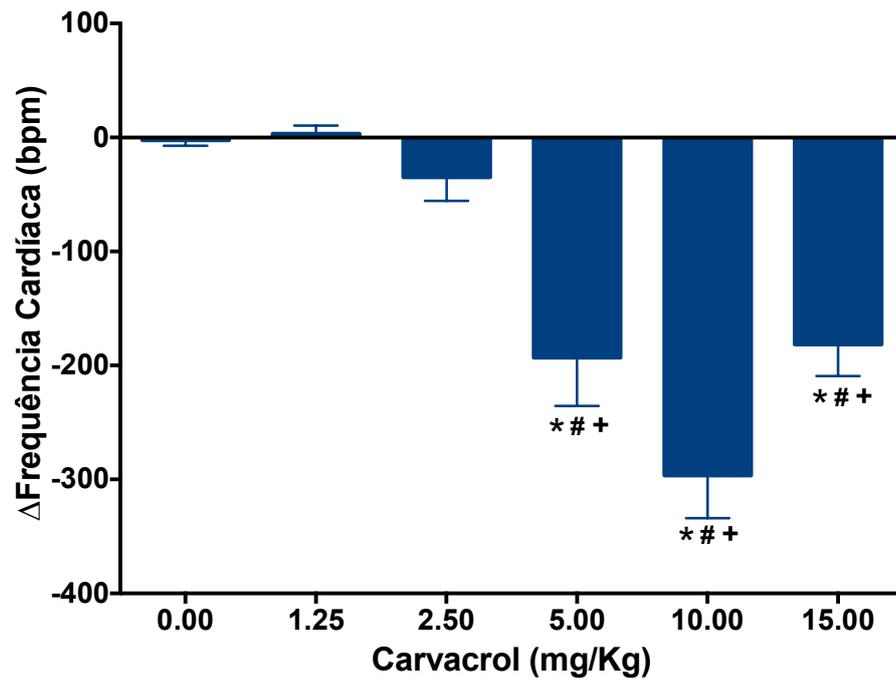


Figura 13. Alteração da FC em animais hipertensos induzidos por tratamento crônico com L-NAME após injeção endovenosa de carvedilol. Os resultados são expressos como \pm EPM. * indica diferença estatística entre os animais tratados com cremophor e as doses de 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg e 15 mg/kg do carvedilol. # Indica diferença estatística significativa em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 1,25 mg/kg + indica diferença estatística em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 2,5 mg/kg.

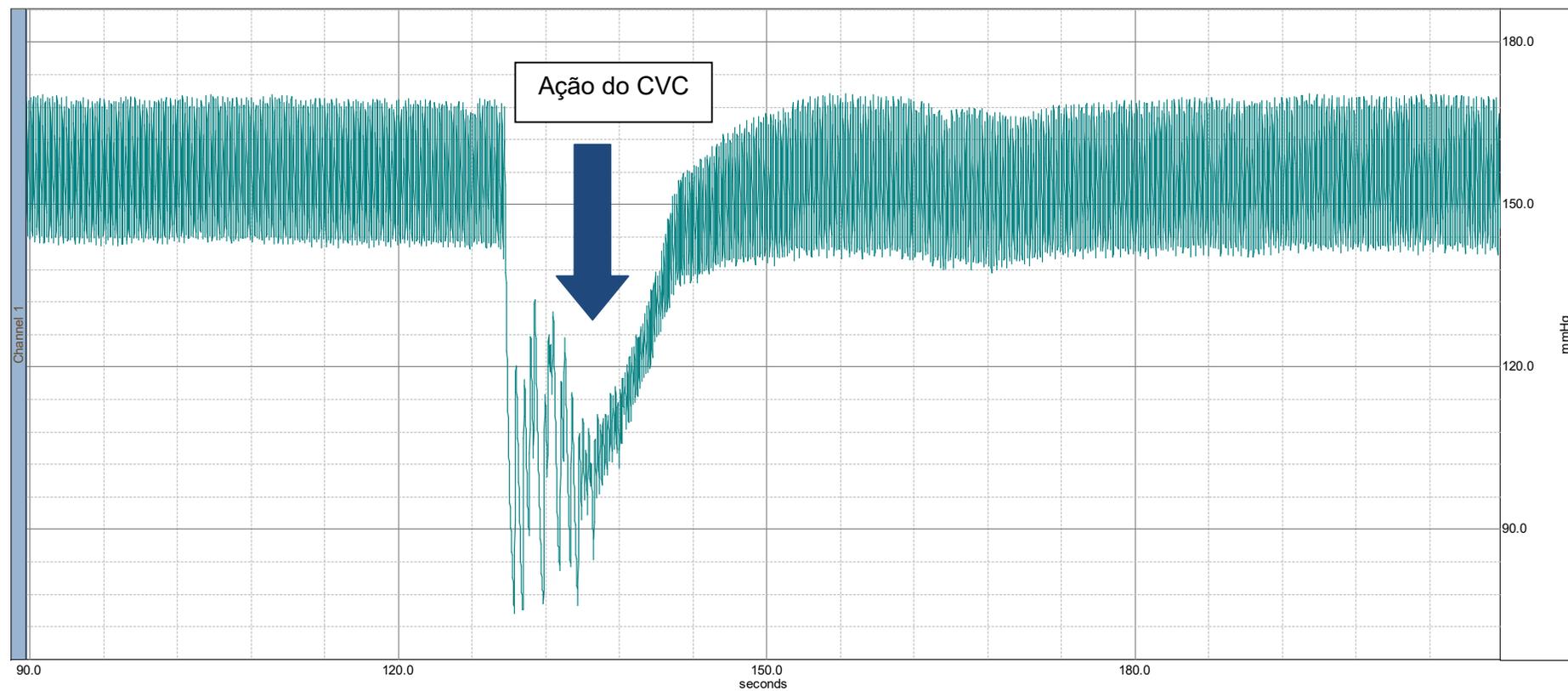


Figura 14 – Traçado típico da ação hipotensora do carvacrol (15 mg/kg) em ratos com hipertensão induzida por tratamento crônico com L-NAME (5 mg/100g; por 7 dias)

6.2 EFEITO HIPOTENSOR E BRADICÁRDICO DO CARVACROL NO MODELO DE HIPERTENSÃO RENOVASCULAR

No grupo de animais com modelo de hipertensão renovascular houve queda significativa da PAS, PAM, PAD e FC após a administração do CVC (Figura 15 e 16). No painel A observamos que há queda considerável dos valores da pressão sistólica nas doses de 10,0 e 15,0 mg/kg do carvacrol quando comparado com o grupo 0, que representa o grupo controle. A queda dos valores de PAS é de aproximadamente 40 mmHg. Os dados da ANOVA mostram $F_{(4,20)} = 23,10$ e $p \leq 0,0001$. As doses de 10,0mg/kg e 15,0 mg/kg também foram diferentes, estatisticamente, entre as doses de 1,25 mg/kg e 2,5 mg/kg do carvacrol. Na PAM, descrita no painel B, a queda foi estatisticamente significativa comparado ao grupo controle, com valores em torno de 60 mmHg, nas doses de 10,0 e 15,0 mg/kg, sendo que a dose de 15,0 mg/kg também apresentou diferença entre as doses de 1,25 e 2,5 mg/kg do CVC. Os dados da ANOVA apresentaram valores de $F_{(4,20)} = 23,14$ e $p \leq 0,0001$. No painel C observamos um efeito mais promissor do CVC com queda de 80 mmHg nos valores da PAD havendo diferença estatística em relação ao grupo controle nas doses de 10,0 e 15,0 mg/kg do CVC. Os dados da ANOVA ratificam as informações demonstrada no gráfico com $F_{(4,20)} = 17,49$ e $p \leq 0,0001$. A intensidade da hipotensão é descrita no traçado típico da pressão pulsátil da ação do carvacrol na dose de 15mg/kg como pode ser observado na figura 14.

Na frequência cardíaca (Figura 17) observamos uma diminuição da FC nas doses de 10,0 e 15,0 mg/kg, quando comparado ao grupo controle, sendo a dose de 15,0 mg/kg diferente também das doses de 1,25 e 2,5 mg/kg do carvacrol. A FC apresenta uma queda em 200 bpm. A ANOVA mostra valores estatísticos de $F_{(4,20)} = 11,10$ e $p \leq 0,0001$.

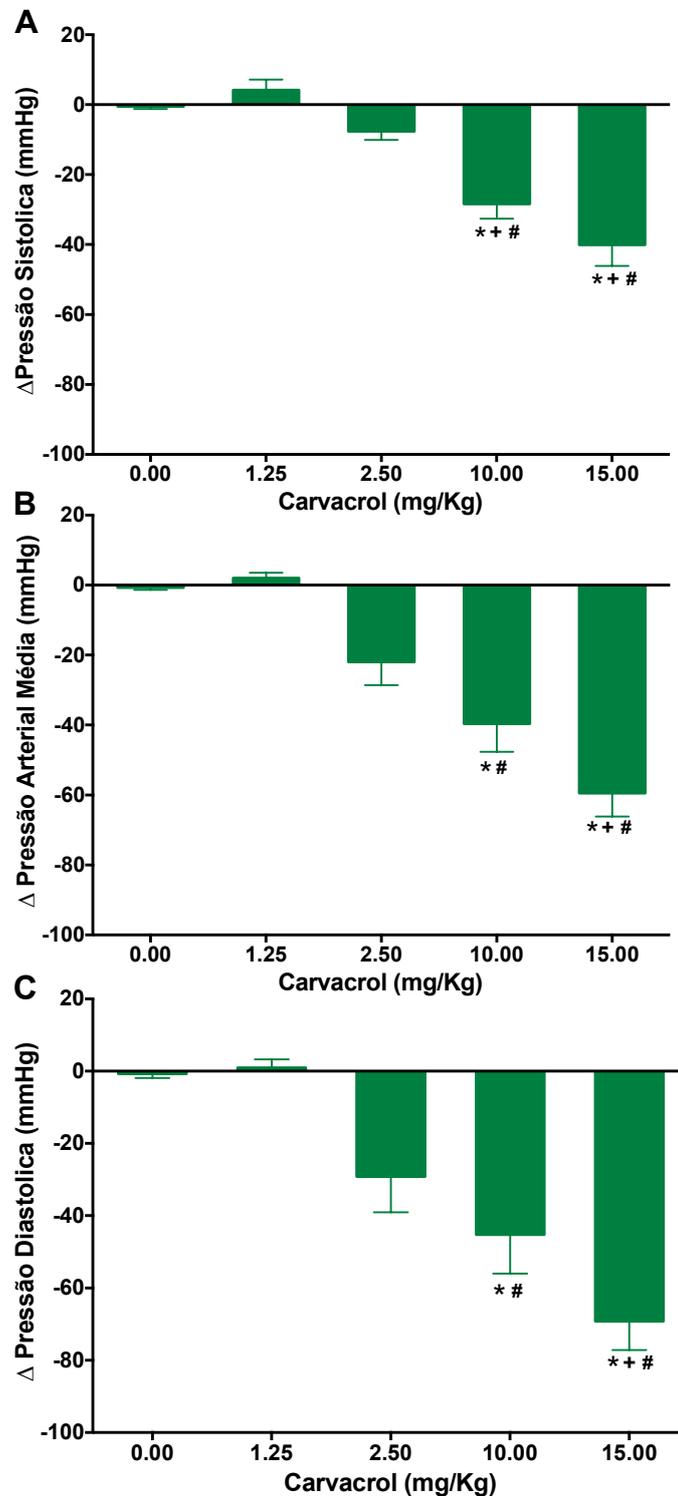


Figura 15. Alteração da PAS, PAM e PAD em animais com hipertensão renovascular após injeção endovenosa de diferentes doses de carvacrol. Os resultados são expressos como \pm EPM. * indica diferença estatística entre os animais tratados com cremophor e as doses de 2,5 mg/kg (n=4), 10 mg/kg (n=4) e 15 mg/kg (n=6) do carvacrol. # Indica diferença estatística significativa em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 1,25 mg/kg (n=4) + indica diferença estatística em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 2,5 mg/kg.

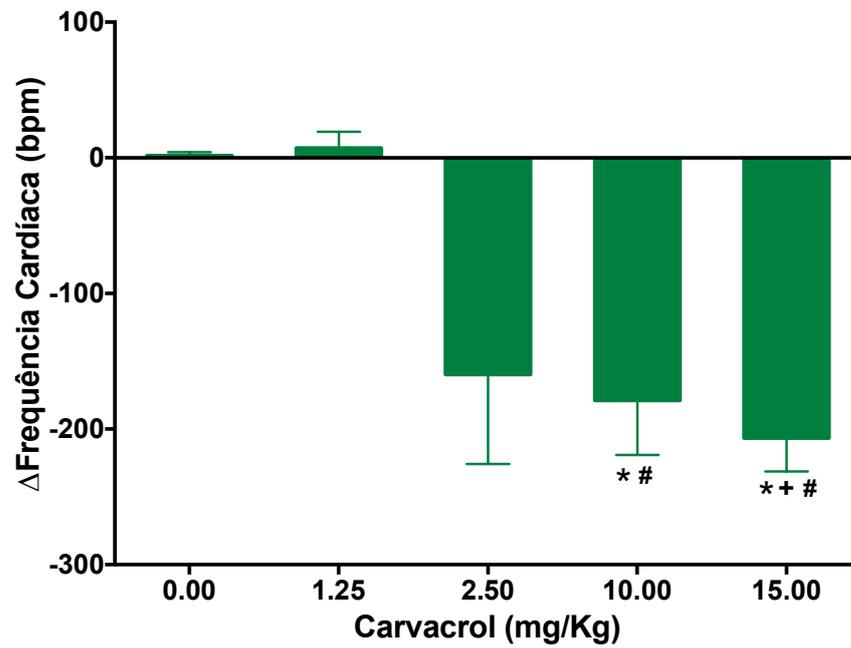


Figura 16. Alteração da FC em animais com hipertensão renovascular após injeção endovenosa de carvedilol. Os resultados são expressos como \pm EPM. * indica diferença estatística entre os animais tratados com cremophor e as doses de 2,5 mg/kg, 10 mg/kg e 15 mg/kg do carvedilol. # Indica diferença estatística significativa em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 1,25 mg/kg + indica diferença estatística em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 2,5 mg/kg.

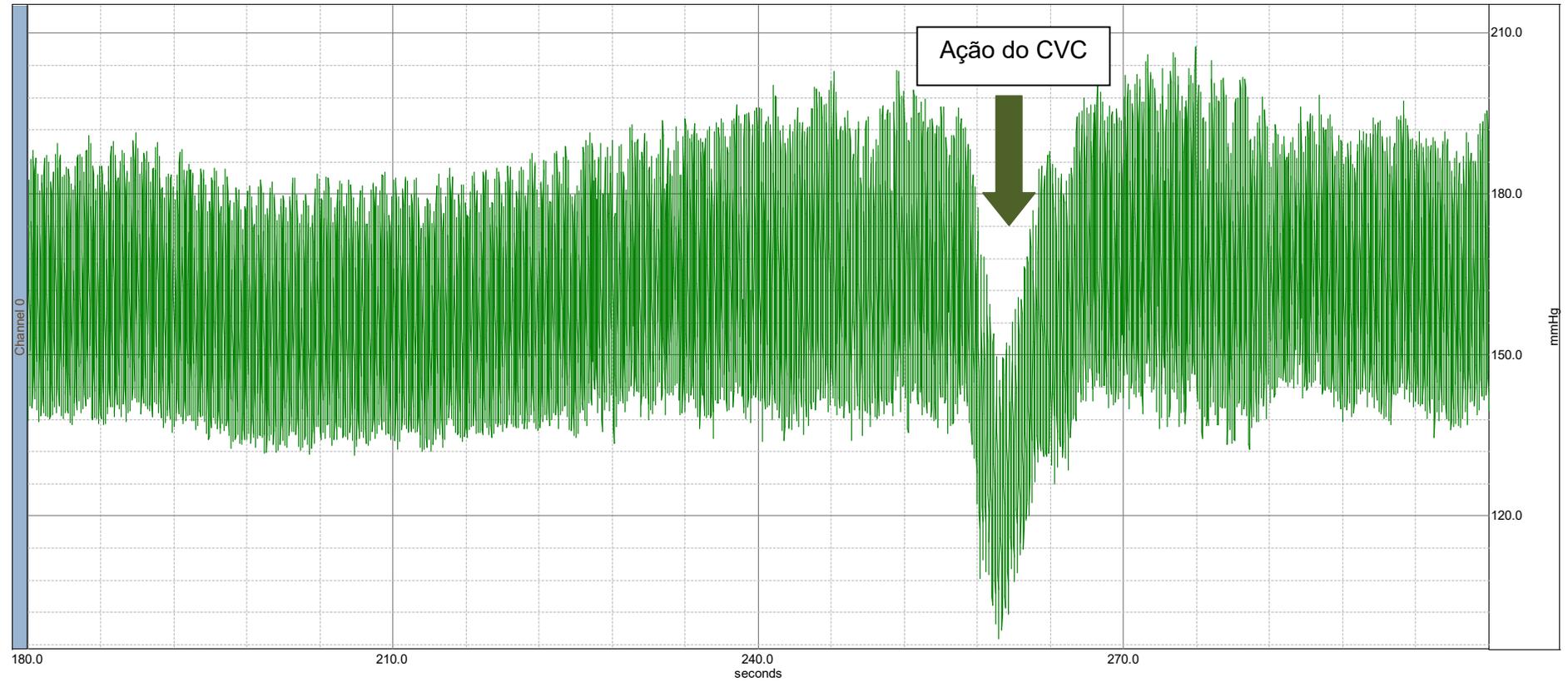


Figura 17 – Traçado típico da ação hipotensora do carvedilol (15 mg/kg) em ratos com hipertensão renovascular.

6.3 EFEITO HIPOTENSOR E BRADICÁRDICO DO CARVACROL EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)

Em continuidade à análise das ações do carvacrol em diferentes modelos de hipertensão observou-se que nos animais espontaneamente hipertensos o CVC também altera os parâmetros cardiovasculares. No painel A da figura 18 verificamos que as doses de 10,0 mg/kg e 15,0 mg/kg do carvacrol foram estatisticamente diferentes quando comparadas ao grupo controle descrito como 0 de carvacrol com queda dos valores de PAS em 40 mmHg. É possível também observar que as doses de 10,0 mg/kg e 15,0 mg/kg mostram diferença também entre os grupos que receberam as doses de 1,25 mg/kg e 2,5 mg/kg do CVC. A ANOVA confirma estas observações com base nos valores de $F_{(5,32)} = 6,442$ e $p = 0,0003$. No painel B o CVC mostra efeito considerável nas doses de 10,0 mg/kg e 15,0 mg/kg sobre os valores da PAM quando comparado com o grupo controle, a dose de 15,0 mg/kg ainda mostra diferença estatística entre as doses de 1,25 mg/kg e 2,5 mg/kg do CVC. Os dados da ANOVA referente à PAM mostram $F_{(5,32)} = 8,176$ e $p \leq 0,0001$. Em relação aos valores da PAD o painel C mostra que apenas a dose de 15,0 mg/kg apresenta efeito hipotensor significativo tanto entre o grupo controle, quanto entre as doses de 1,25 mg/kg e 2,5 mg/kg do CVC com $F_{(5,32)} = 7,893$ e $p \leq 0,0001$. A intensidade e a fugacidade da resposta do CVC na queda da pressão arterial na dose de 15mg/kg é descrita no traçado típico da pressão pulsátil na figura 20.

Em relação à FC (Figura 19) observa-se que há uma tendência à bradicardia sendo apenas estatisticamente significativa na dose de 15,0 mg/kg do CVC o que pôde ser descrito através do teste da ANOVA com $F_{(5,32)} = 5,285$ e $p = 0,0013$.

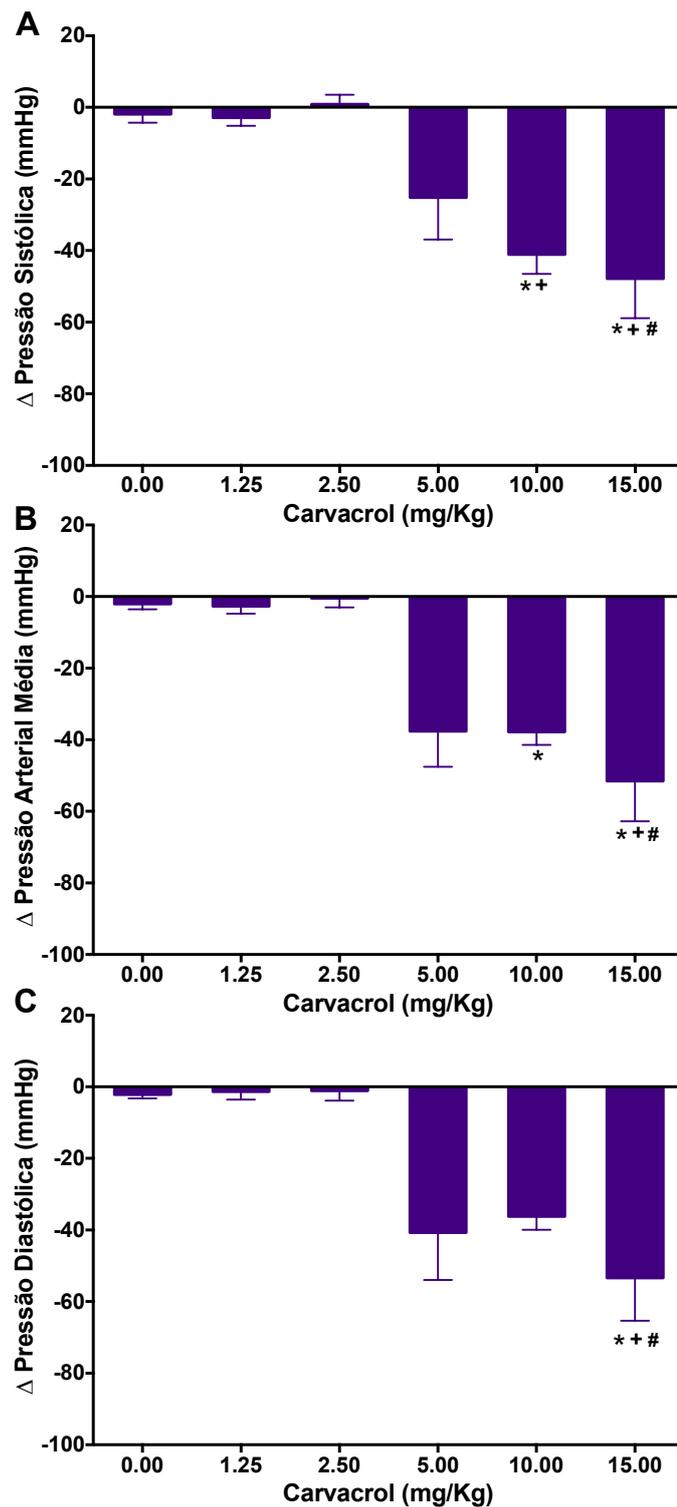


Figura 18. Alteração da PAS, PAM e PAD em ratos espontaneamente hipertensos após injeção endovenosa de diferentes doses de carvedilol. Os resultados são expressos como \pm EPM. * indica diferença estatística entre os animais tratados com cremophor e as doses de 10 mg/kg (n=5) e 15 mg/kg (n=7) do carvedilol. # Indica diferença estatística significativa em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 1,25 mg/kg (n=6) + indica diferença estatística em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 2,5 mg/kg (n=5)

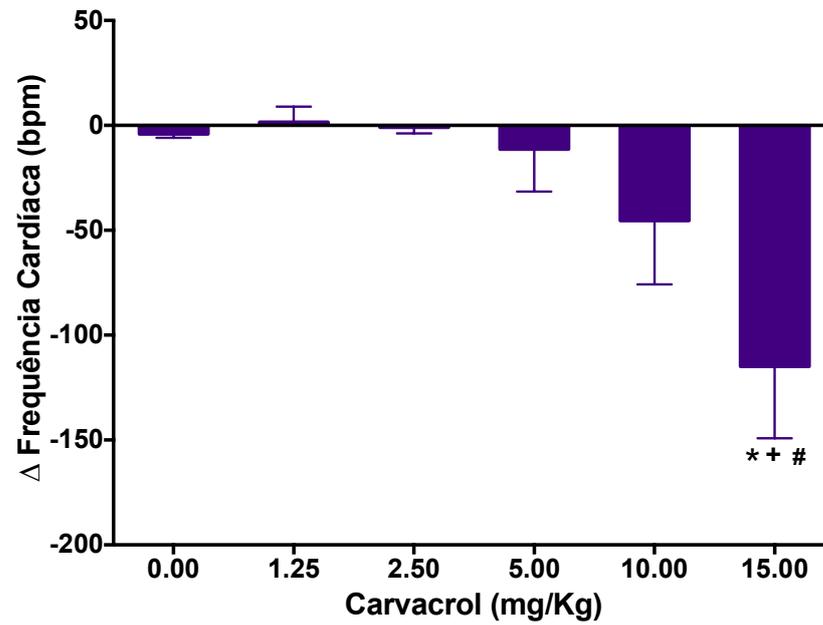


Figura 19. Alteração da FC em ratos espontaneamente hipertensos após injeção endovenosa de carvedilol. Os resultados são expressos como \pm EPM. * indica diferença estatística entre os animais tratados com cremophor e a dose de 15mg/kg do carvedilol. # Indica diferença estatística significativa em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 1,25 mg/kg + indica diferença estatística em relação ao grupo tratado com CVC na dose de 2,5 mg/kg.

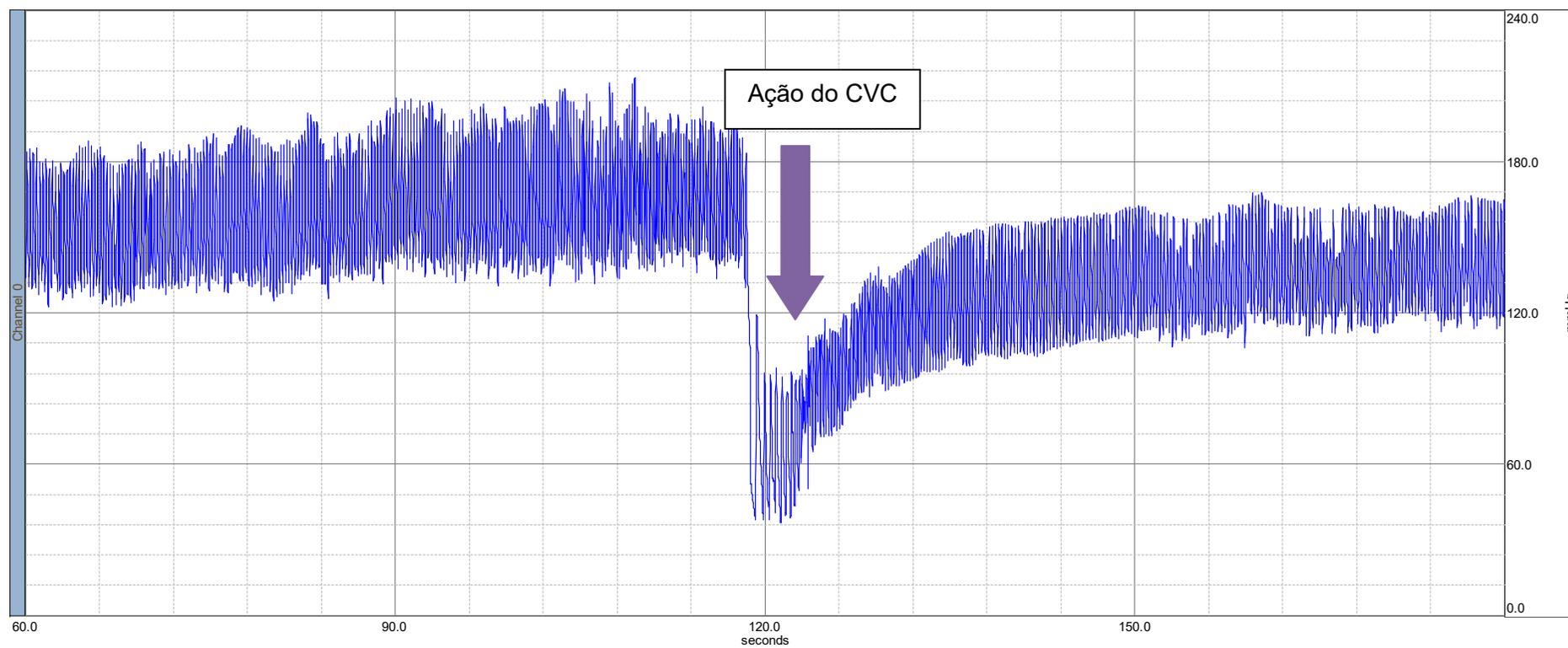


Figura 20 – Traçado típico da ação hipotensiva do carvedilol (15 mg/kg) em ratos espontaneamente hipertensos

Buscando-se avaliar as possíveis diferenças entre a ação do CVC entre os diferentes modelos experimentais de hipertensão cada parâmetro cardiovascular foi avaliado entre os grupos como descrito na figura 21. Após análise de variância, observou-se que a ação do CVC foi independente entre os grupos, não se havendo diferença significativa entre eles apesar do grupo espontaneamente hipertenso, quando avaliado individualmente, apresentar ação do CVC de forma mais pronunciada.

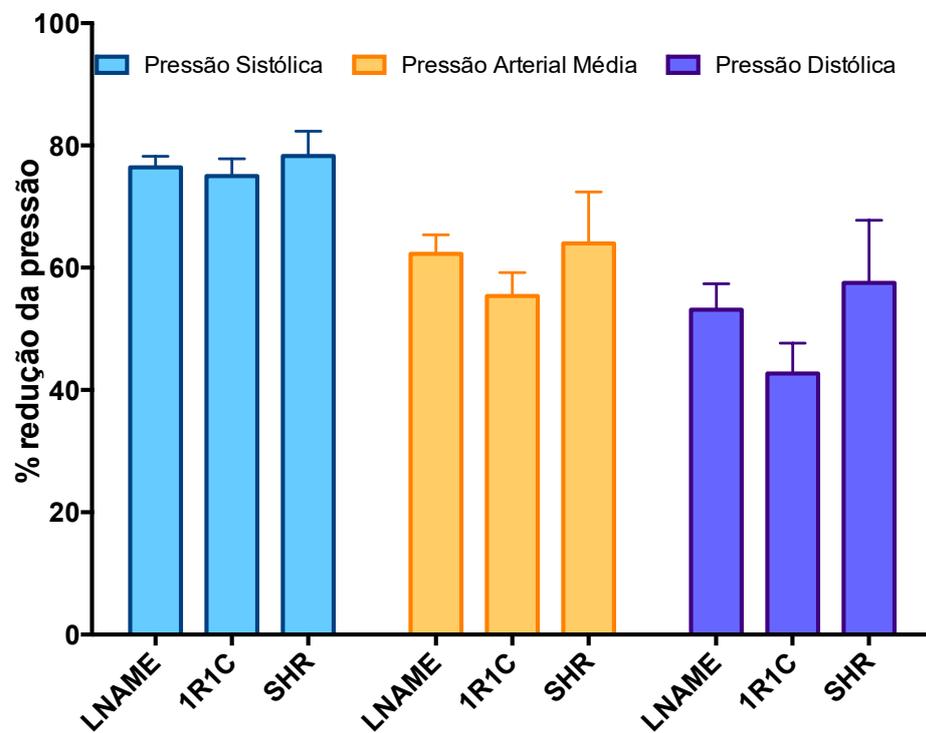


Figura 21: Comparação dos parâmetros cardiovasculares entre os modelos de hipertensão, vascular (L-NAME), renovascular (1R1C) e espontaneamente hipertenso (SHR) antes e depois da administração endovenosa de carvedilol (15 mg/kg). ANOVA= PAS: $F(2,15) = 0,128$; $p = 0,88$; PAM: $F(2,15) = 0,99$; $p = 0,39$; PAD: $F(2,15) = 0,53$; $p = 0,59$

6.4 EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO CENTRAL (VL) DO CARVACROL SOBRE O COMPORTAMENTO DA INGESTÃO DE SÓDIO E ÁGUA EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)

Os animais SHR foram também avaliados quanto ao comportamento de ingestão de sódio e a possível ação do CVC na alteração desta resposta. O CVC foi administrado centralmente no ventrículo lateral nas concentrações de 150 e 300 μ g/2 μ L. Os animais controle receberam óleo de milho no mesmo volume. A análise de variância ANOVA *Two-Way* seguido do pós-teste de Bonferroni mostrou que o carvacrol foi capaz de inibir a ingestão de solução salina de forma significativa, como mostra o painel A da figura 22, na concentração de 300 μ g/2 μ L quando comparado com os animais que receberam óleo de milho a partir do tempo de ingestão de 15min até o período final do experimento que correspondeu a 120min. Em relação à concentração de 150 μ g/2 μ L a microinjeção do CVC de 300 μ g/2 μ L respondeu com inibição a partir do tempo de 30 minutos. A administração de CVC não alterou o comportamento de ingestão de água em nenhum dos tempos entre os grupos como se observa no painel B como era esperado, com base nos dados já descritos na literatura.

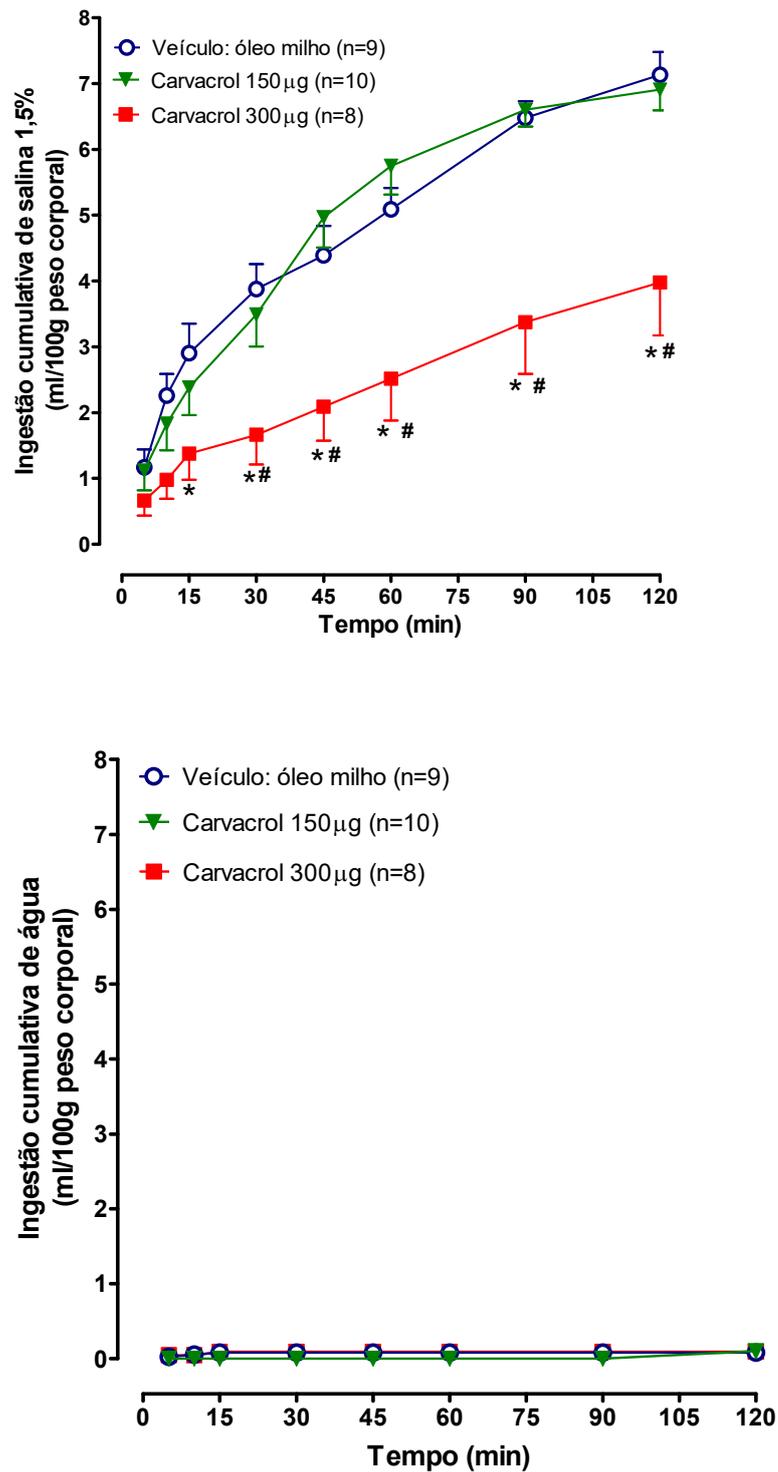


Figura 22. Papel do carvacrol no ventrículo lateral sobre o apetite por sódio em animais SHR depletados deste íon. Os resultados estão expressos como média \pm EPM. O * representa diferença estatística entre os animais tratados com CVC na concentração de 300mg/2mL (n=8) e o grupo controle (n=9). O # mostra diferença estatística na concentração de 150mg/2mL (n=10) de CVC.

6.5 EFEITO HIPOTENSOR DA ADMINISTRAÇÃO CENTRAL (VL) DO CARVACROL EM ANIMAIS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)

Em relação ao efeito central do CVC sob os parâmetros cardiovasculares em animais espontaneamente hipertensos a figura 23 mostra que a microinjeção de CVC nas concentrações de 150 e 300 $\mu\text{g}/2\mu\text{L}$ causaram hipotensão logo em seguida a microinjeção em comparação com o grupo controle. A análise de variância ANOVA *Two-Way* para os valores de pressão arterial seguido do pós-teste de Bonferroni mostrou que houve interação entre os grupos em relação a variável tempo e droga com: interação tempo x droga- $F_{(26,195)}= 1,304$ e $p=0,15$; tempo- $F_{(13,195)} = 3,812$ e $p\leq 0,001$; droga $F_{(2,15)}=15,36$ e $p=0,002$. A figura 24 mostra que o CVC não causou qualquer alteração estatística sobre os valores da FC. A análise de variância para duas vias, seguido do pós teste de Bonferroni mostrou que não houve interação entre os grupos com interação tempo x droga- $F_{(26,195)}=0,8648$, $p= 0,6$; tempo- $F_{(13,195)}= 0,7743$, $p= 0,68$; droga- $F_{(2,15)}=0,3153$, $p= 0,73$.

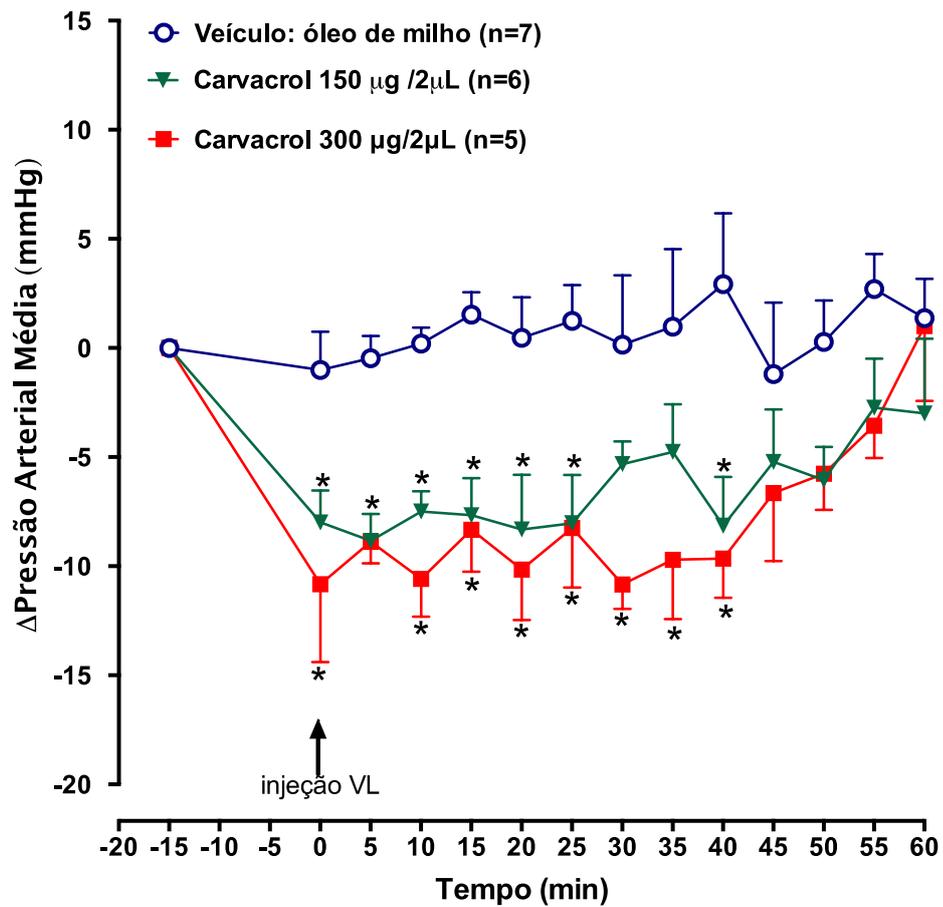


Figura 23. Papel do carvacrol no ventrículo lateral sobre os valores da pressão arterial média em animais espontaneamente hipertensos. O * representa diferença estatística entre os animais tratados com CVC na concentração de 150 (n=6) e 300mg/2mL (n=7) e o grupo controle (n=6).

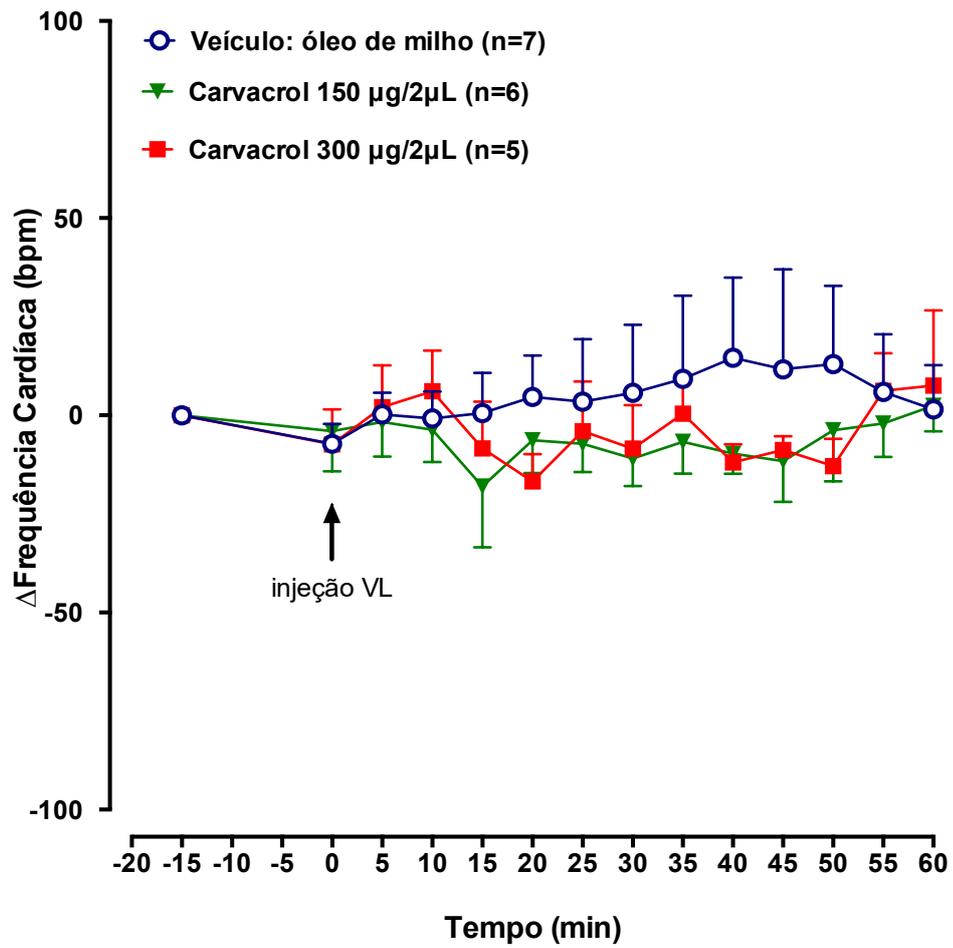


Figura 24. Papel do carvacrol no ventrículo lateral sobre os valores frequência cardíaca em animais espontaneamente hipertensos. O * representa diferença estatística entre os animais tratados com CVC na concentração de 150 e 300 $\mu\text{g}/2\mu\text{L}$ e o grupo controle.

7 DISCUSSÃO

Os dados do presente trabalho mostram que a administração endovenosa do carvacrol induz hipotensão e bradicardia nos modelos experimentais de hipertensão por inibição crônica do óxido nítrico, no renovascular e na hipertensão espontânea. Além disso, verificamos que o carvacrol, injetado no ventrículo lateral, inibe o apetite por sódio em animais espontaneamente hipertensos e reduz os valores de pressão arterial sem alterar a frequência cardíaca.

A hipertensão é um dos maiores fatores de risco para doenças cardiovasculares principalmente, porque os mecanismos fisiopatológicos que levam ao aumento da pressão arterial são complexos e envolvem múltiplos sistemas biológicos, entre eles, a disfunção endotelial, o desbalanço na produção de espécies reativas de oxigênio, a remodelagem arterial e a inflamação vascular (MONTEZANO *et al.*, 2015). Apesar da grande quantidade de estudos, a fisiopatologia da hipertensão ainda permanece incerta, sendo bastante provável a inter-relação de diversos fatores, que juntos, contribuem para a elevação da pressão arterial. Entre os parâmetros mais estudados estão os fatores genéticos, principalmente no que tange a identificação dos genes que participam da gênese da hipertensão, os fatores comportamentais, tais como, sedentarismo, comportamentos alimentares, como a ingestão de sal, singularmente em indivíduos com predisposição genética; a obesidade que tem sido associada a alterações nos valores de lipídeos e intolerância à glicose; a resistência a insulina e a hiperinsulinemia uma vez que aumentam a atividade do sistema nervoso simpático e a reabsorção renal de sódio; bem como o sistema renina-angiotensina-aldosterona e o sistema nervoso simpático (NOBRE *et al.*, 2013).

O uso de modelos experimentais de hipertensão tem se tornado chave no estudo da fisiopatologia da hipertensão uma vez que se assemelham às complicações cardiovasculares que ocorrem em humanos (SARIKONDA *et al.*, 2009). Entre a gama de modelos já descritos na literatura apenas três foram utilizados no presente estudo: hipertensão espontânea, (SHR- *spontaneous hypertensive rats*, na sigla inglesa) os quais mimetizam a hipertensão essencial presente em humanos; o segundo modelo foi o de inibição crônica de óxido nítrico e por fim o modelo de hipertensão renovascular do tipo 1rim/ 1 clipe desenvolvido por

Goldblatt e colaboradores em 1934, os quais se assemelham à hipertensão secundária presente nos humanos (FAZAN, JR; DA SILVA; SALGADO, 2001).

Os primeiros tratamentos voltados à hipertensão datam a partir de 1876 quando foi descoberto, por Ambard, que os pacientes hipertensos apresentavam baixa excreção urinária de sódio. Em 1922, Allen, adotou a padronização de dieta com baixo teor de sódio para pacientes hipertensos. A ampliação das pesquisas permitiu o desenvolvimento de fármacos que favorecessem o controle da hipertensão (RAMOS, 1998). Segundo a Organização Mundial de Saúde, 70% da população de países desenvolvidos utilizam a medicina alternativa para o tratamento de doenças (AL DISI; ANWAR; EID, 2016). O grande destaque a ser feito para explicar o crescente uso de plantas na farmacoterapia é exatamente a complexa composição química presente nas plantas garantindo-lhes múltiplas aplicações (CARMONA; PEREIRA, 2013). O Instituto Central de Pesquisas com Drogas dos EUA (CDRI) avaliou aproximadamente 2000 espécies de plantas com diversidade de ações biológicas que incluem, antidiabética, antibactericida, antifúngica, anticoncepcional, anti-inflamatória, antitumoral, anit hipertensiva, entre outras ações (FABRICANT; FARNSWORTH, 2001).

No Brasil, através da portaria do Ministério da Saúde GM/MS nº 971 é criada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS abrangendo além da fitoterapia, a homeopatia, a medicina tradicional/chinesa/acupuntura e a medicina antroposófica no contexto do Sistema Único de Saúde (SUS). Esse avanço representa um incentivo à pesquisa e ao consequente desenvolvimento de fármacos provenientes de plantas medicinais e de fitoterápicos em virtude da grande biodiversidade existente no país (FIGUEREDO; GURGEL, GURGEL JR., 2014).

O uso das plantas medicinais no tratamento de doenças cardiovasculares tem sido relatado em pacientes com hipertensão arterial, angina, aterosclerose, insuficiência venosa e arritmia. Como exemplo de plantas destinadas a este fim, podemos citar o uso da raiz da *Rauwolfia serpentina*, rica no alcalóide reserpina, descrita primeiramente pelos indianos em 1931, como eficaz no tratamento da hipertensão. A partir desta planta foi possível a descrição da reserpina como a primeira droga originária das plantas, usada em larga escala, no tratamento da hipertensão. A reserpina reduz o débito cardíaco, a resistência vascular periférica, a frequência cardíaca e a secreção de renina, sendo exatamente por isso, descrita como agente antihipertensivo (MASHOUR; LIN; FRISHMAN, 1998).

No presente trabalho investigou-se os efeitos cardiovasculares do carvacrol (CVC) um monoterpene predominante em muitos óleos essenciais da família Labiateae, incluindo as espécies *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* e *Corydothymu*, sendo o maior componente da fração do óleo essencial do orégano (GUIMARÃES *et al.*, 2010; MELO *et al.*, 2011). A literatura tem descrito uma ampla diversidade de atividades biológicas associadas ao carvacrol, tais como: antimicrobiana, antitumoral, antimutagênica, antígenotóxica, analgésica, antiespasmódica, anti-inflamatória, antiparasitária, angiogênica, antiplaquetária, inibição da acetilcolinesterase, antielastase, inseticida, antihepatóxica e hepatoprotetora, ansiolítico e antidepressivo, além de inibir a corrente de sódio voltagem dependente (GUIMARÃES *et al.*, 2010). É importante ressaltar, que este espectro de ações do CVC depende das doses utilizadas e do tipo de modelo experimental, *in vivo* ou *in vitro*.

A descrição dos efeitos anti-hipertensivo proveniente das plantas contribui desta forma para o desenvolvimento de fármacos pelas indústrias farmacêuticas (LIU; HUANG, 2016; TIRAPELLI, *et al.*, 2010). As principais classes de fármacos anti-hipertensivos têm como principal objetivo reduzir o débito cardíaco e ou a resistência vascular periférica com consequente redução da pressão arterial. Além disso, estes fármacos podem atuar também na inibição da contratilidade do miocárdio ou na redução da pressão de enchimento ventricular (FOËX; SEAR, 2004). Os agentes anti-hipertensivos são classificados conforme seu mecanismo de ação em diuréticos; inibidores da angiotensina; antagonistas de receptores adrenérgicos; bloqueadores do canal de cálcio e vasodilatadores de ação direta (NOBRE *et al.*, 2013; MARTELLI; LONGO; SERIANI, 2008).

A restrição do uso de sal na dieta foi descrita como primeira estratégia no controle do processo hipertensivo sendo este controle, através do uso de drogas, possível a partir de 1950 com o desenvolvimento dos diuréticos, que são divididos em quatro grupos conforme o seu local de ação no túbulo renal entre eles tem os diuréticos de alça, tais como a furosemida, que inibem o transporte de eletrólitos na alça ascendente de Henle, com pronunciada ação diurética e consequente redução do DC, porém podem diminuir a tolerância à glicose e aumentar a concentração de lipídios no soro (NOBRE *et al.*, 2013; MARTELLI; LONGO; SERIANI, 2008; NIGRO; FORTES, 2005).

Outra abordagem terapêutica importante está associada ao sistema renina-angiotensina-aldosterona os fármacos atuantes neste sistema podem agir: na secreção da renina renal; como antagonista da renina; como inibidores da conversão de angiotensina I em angiotensina II ou como antagonistas do receptor de angiotensina II. Os inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) inibem a biossíntese de angiotensina II, ao se ligarem ao subtipo AT1 dos receptores de angiotensina II, desta forma reduzindo a liberação de aldosterona do córtex adrenal com importante ação anti-hipertensiva. Um dos principais efeitos adversos observados pelo uso de inibidores da ECA é a tosse seca e persistente, provavelmente associada à inibição da cininase II, e muito menos comum o angioedema das membranas mucosas, podendo ocasionar um processo anafilático (OIGMAN; FRITSCH, 1998).

Além disso, observa-se também o uso de medicamentos que agem diretamente no sistema nervoso central inibindo a atividade de grupos neuronais envolvidos no controle da pressão arterial. Entre eles, temos os bloqueadores adrenérgicos que foram descritos inicialmente em 1958, que atuam reduzindo a contratilidade do miocárdio, bem como sobre a frequência e débito cardíaco, principalmente por exercerem seus efeitos sobre os receptores beta adrenérgicos presentes no complexo justaglomerular reduzindo desta forma a secreção de renina com consequente redução dos níveis circulantes de angiotensina II, contudo, uma suspensão de forma brusca do uso destes medicamentos está associado a taquicardia, angina de peito e infarto do miocárdio (NOBRE *et al.*, 2013; MARTELLI; LONGO; SERIANI, 2008; TIBIRIÇÁ; LESSA, 2005).

Após os experimentos de Ringer em 1883, em coração isolado, foi observado que o íon cálcio era fundamental para a manutenção da atividade celular sendo posteriormente observada a sua importância no processo de contração muscular. O estudo farmacológico de dilatadores coronários favoreceu a descoberta dos antagonistas dos canais de cálcio (GODFRAIND, 2017). Os estudos de eletrofisiologia mostram que os antagonistas dos canais de cálcio têm sua ação com maior efetividade sobre os canais de cálcio do tipo L, abundantes tanto na musculatura cardíaca quanto no leito vascular, controlando a passagem do íon cálcio com consequente redução da entrada deste íon e reduzindo o tônus vascular, mais precisamente nos leitos arteriais, sendo por isso, também utilizado como agente anti-hipertensivo (GODFRAIND, 2017; NOBRE *et al.*, 2013; MARTELLI;

LONGO; SERIANI, 2008). Como efeito adverso estes bloqueadores podem levar a uma excessiva vasodilatação, depressão cardíaca ou aumento proeminente da atividade simpática (NOBRE *et al.*, 2013; MARTELLI; LONGO; SERIANI, 2008).

O grande problema na farmacoterapia da hipertensão é a perda da eficácia dos medicamentos, a necessidade da politerapia e os efeitos adversos. Nossos estudos foram pautados no entendimento de mais um possível contribuinte para o tratamento da hipertensão no futuro, que possa apresentar menos ações adversas, que foi o carvacrol um monoterpene altamente lipofílico com diversidades de ações biológicas que podem reduzir os impactos da hipertensão, tais como, ação antioxidante e efeito anti agregante plaquetário ao favorecer a diminuição dos níveis de tromboxano A₂ nas plaquetas (ALAGAWANY, *et al.*, 2015; KARKABOUNAS, *et al.*, 2006). Os dados do presente estudo contribuem, para o conhecimento das ações biológicas do CVC mostrando o seu efeito hipotensor e bradicárdico e efeito inibitório sobre o apetite por sódio em modelos experimentais de hipertensão que simulam a hipertensão presente em humanos. E desta forma, posteriormente este monoterpene, talvez, possa ser utilizado como mais uma ferramenta farmacológica, importante, no tratamento da hipertensão.

No presente trabalho os resultados mostram que no modelo de hipertensão vascular experimental induzido pelo tratamento crônico com L-NAME o CVC, injetado de forma endovenosa, apresentou efeito hipotensor e bradicárdico. Neste modelo de hipertensão a inibição da produção dos fatores relaxantes derivados do endotélio, mas precisamente o óxido nítrico, funciona como mecanismo chave na gênese desta hipertensão, sendo descrito como mecanismo de disfunção endotelial (KOPINCOVÁ; PÚZSEROVÁ; BERNÁTOVÁ, 2012).

A enzima NOS-sintase oxida o aminoácido L-arginina formando o NO, que por sua vez, favorece a síntese do Guanosina 3', 5'-cíclica monofosfato (GMPcíclico) com conseqüente desfosforilação da cadeia leve de miosina levando à diminuição da concentração citosólica de cálcio e relaxamento da musculatura vascular (LINDER *et al.*, 2005; SHARMA *et al.*, 2012). A inibição da ação da NO-sintase pelo L-NAME aumenta a atividade do sistema simpático e do sistema renina-angiotensina-aldosterona promovendo uma hipertensão persistente e progressivo dano no sistema cardiovascular e renal, tanto em modelos animais, quanto em humanos (ZHOU; FROHLICH, 2007). A hipertensão experimental em ratos pode ser

induzida pelo tratamento crônico com L-NAME, em média por 7 dias, sendo utilizada administração orogástrica na concentração de 5mg/0.1ml/100g/peso. Esta hipertensão é associada à vasoconstrição renal, com consequente diminuição da taxa de filtração glomerular e aumento da pressão glomerular sendo acompanhada de aumento dos níveis de albumina na urina, glomerulosclerose e fibrose intersticial (JOVER; MIMRAN, 1993). De acordo com Salgado *et al.*, (2009) neste modelo de hipertensão nos primeiros dias de tratamento já é possível observar rápida elevação da pressão arterial, a qual é dependente da dose de L-NAME administrada com valores de pressão sistólica em torno de 160 mmHg. Verifica-se nesta hipertensão experimental anormalidade no relaxamento vascular dependente do endotélio em vasos de condutância e em vasos de resistência (CREAGER, RODDY, 1993).

Park; Kario; Wang (2015), em recente revisão, mostram que vários estudos associam a disfunção endotelial com hipertensão, incluindo alteração dos fatores vasoconstritores e diminuição da biodisponibilidade de NO. Schlaich *et al.*, (2004) estudando indivíduos normotensos, mas com predisposição genética à hipertensão e indivíduos hipertensos observaram que o transportador de L-arginina, fator importante na síntese do NO, apresenta alteração nesses dois grupos. Nossos dados mostraram que a ação do CVC no modelo de hipertensão induzido pelo tratamento crônico com L-NAME, reduziu em até 80mmHg os valores da pressão diastólica, levando-nos a inferir que sua ação hipotensora possa envolver a alteração da função endotelial. Estes dados estão de acordo com o encontrado o trabalho de Dantas *et al.*, (2015), onde é observado que em ratos normotensos o relaxamento vascular da artéria mesentérica superior, *in vitro*, após incubação com CVC ocorria via inibição do influxo de cálcio em parte associado aos canais TRP. em outro estudo observou-se que a ação vasodilatadora endotelial do CVC nas artérias cerebrais está associado ao influxo de cálcio via canais TRPV3 causando hiperpolarização da membrana da célula muscular lisa confirmando o papel da disfunção endotelial na gênese da hipertensão uma vez que tem como principal ação a diminuição da produção de substâncias vasodilatadoras (EARLEY; GONZALES; GRACIA, 2010). Apesar dos mecanismos de ação não terem sido testados no presente trabalho, podemos inferir a importante ação do CVC na hemodinâmica uma vez que causa queda da pressão arterial diastólica com Δ de -77 ± 11 mmHg sugerindo seu efeito vasodilatador.

Nossos dados também mostraram que o CVC, foi capaz de induzir resposta bradicárdica severa com queda em torno de com $\Delta 296 \pm 37$ bpm no modelo de hipertensão induzido pelo tratamento crônico com L-NAME, Dantas *et al* (2015) também sugere que em animais normotensos o CVC causa bradicardia de forma direta sobre o coração também com possível envolvimento dos canais TRP. esperava-se que após a ação hipotensora do carvacrol, como resposta reflexa, houvesse uma inibição tônica da atividade simpática para a região dos vasos e do coração, com aumento da atividade vagal e conseqüentemente uma taquidicardia reflexa para que houvesse o retorno dos valores normais da pressão arterial, contudo, observamos tanto um processo hipotensor quanto um processo bradicárdico, o que pode nos levar a deduzir que o CVC possa agir diretamente sobre o coração com ação também na atividade dos barorreceptores, contudo estas hipóteses não foram testadas havendo a necessidade de estudos adicionais.

Em um segundo modelo de hipertensão investigado no presente trabalho demonstrou-se que o CVC endovenoso induz hipotensão e bradicardia em ratos com hipertensão renovascular 1 rim/1 clipe. A hipertensão do tipo 1R-1C, tem início com a estenose da artéria renal esquerda, por ser de mais fácil visualização, com conseqüente retirada do rim contralateral, levando à diminuição da taxa de filtração glomerular e aumento da pressão arterial. O aumento da pressão arterial ocorre via mecanismos homeostáticos regulatórios em relação ao volume plasmático com aumento do DC e da RPT (HALL, 1991). A hipertensão do tipo 1R-1C é caracterizada pela expansão do volume plasmático, decorrente da retenção de sódio, inicialmente o fluxo sanguíneo no rim com estenose arterial é reduzido com um rápido aumento da atividade da renina plasmática com transiente retenção de sódio, além disso, ocorre aumento dos níveis de norepinefrina sendo associada ao aumento da atividade simpática (PICKERING, 1989; HALL, 1991).

As alterações na circulação de renina, AI, AII podem induzir vasoconstrição arterial, hipertrofia cardíaca e vascular contribuindo para o desenvolvimento de complicações renais e cardiovasculares (MASCOLO *et al.*, 2017). O SRAA tem ação, tanto central, quanto periférica. A nível central a ativação dos receptores da AT1 pode levar à liberação de noradrenalina e na periferia a ativação dos receptores AT1 tem ação direta sobre as células musculares lisas vasculares e favorece a vasoconstrição (CHAPPELL, 2015; GUIMARÃES; PINHEIRO, 2005). No modelo de

hipertensão renovascular o aumento da AII ativa diferentes áreas do encéfalo incluindo o bulbo ventrolateral rostral, o núcleo paraventricular e o núcleo supraóptico. Segundo Campos *et al.*, (2015), esta atividade da AII pode explicar o aumento da atividade simpática neste modelo de hipertensão. A AII também tem importante contribuição para manutenção da pressão sanguínea em situações onde há alteração do volume extracelular, tais como, processos hemorrágicos e desidratação (MENDOZA-TORRES *et al.*, 2015; HALL, 1991). Como no presente estudo verificamos que neste modelo de hipertensão, com base nos dados descritos na literatura, há uma dependência do sistema renina-angiotensina-aldosterona sendo possível sugerir que o CVC module e ou interfira na ação vasoconstritora da AII desde que foi observada queda proeminente da PAD de -69 ± 8 mmHg.

É importante destacar que no contexto da fisiopatologia da hipertensão renal em humanos, pacientes com hipertensão renal apresentam alterações da função simpática cardíaca (JUNG; LEE; KIM, 2004). Esta associação entre a disfunção do sistema nervoso simpático e manutenção do processo hipertensivo datam desde a década de 1940 quando se mostrou que a simpatectomia lombar e ressecção esplânica poderiam ser empregadas no tratamento da hipertensão (CAMPOS *et al.*, 2015). Diversos trabalhos têm associado a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), gerados pela redução incompleta do oxigênio molecular na cadeia respiratória, com a fisiopatologia da hipertensão. A AII age sobre a NADPH oxidase favorecendo a produção do ânion superóxido O_2^- que reduz a biodisponibilidade de NO aumentando a vasoconstrição. Verificou-se adicionalmente que os ânions superóxidos (O_2^-) funcionam como importantes mensageiros intracelulares para a resposta da AII em nível central favorecendo a sua atividade simpatoexcitatória. Sendo esta ação garantida pelo aumento da resposta dos canais de cálcio voltagem dependente com conseqüente diminuição da resposta dos canais de potássio, resultando em maior descarga neuronal no SFO, PVN e RVLM sendo esta alta excitação simpática um dos fatores da fisiopatologia da hipertensão (CHAN; CHAN, 2012; OLIVEIRA-SALES *et al.*, 2008; MENDOZA-TORRES *et al.*, 2015).

Oliveira-Sales *et al* (2008) demonstraram que na hipertensão renovascular do tipo 2R-1C há uma excessiva produção de ROS no RVLM que inibe os antioxidantes endógenos, tais como a glutathiona, tendo um papel importante na manutenção dos altos valores de pressão e no aumento da atividade simpática, e que a administração de vitamina C, um agente antioxidante, reduz os valores da pressão

sanguínea neste modelo hipertensivo. Podemos sugerir desta forma, que outra possível ação do CVC na resposta hipotensora seja via inibição da atividade da AI, que pode estar associada a sua ação antioxidante, como mostra Samarghandian *et al.*, (2016) onde o tratamento com CVC favorece o aumento na quantidade de espécies antioxidantes no cérebro, fígado e rins de animais submetidos ao estresse de restrição.

Nossos dados também demonstraram que o CVC foi capaz de induzir bradicardia no modelo de hipertensão renovascular. Sabe-se que o controle da pressão arterial envolve tanto, mecanismos de regulação que operam a curto quanto, a longo prazo sendo o barorreflexo o principal mecanismo de controle a curto prazo (SANTOS; HAIBARA, 2002). E que tanto em modelos animais, tais como o renovascular, quanto em humanos há uma atenuação desta resposta durante o processo hipertensivo o qual foi comprovado pelos estudos de Tsyrlin *et al* (2013) os quais mostraram que a elevação da pressão arterial sistólica no modelo de hipertensão renovascular do tipo 2R/1C está associada à diminuição da sensibilidade da resposta barorreflexa. Em relação à resposta bradicárdica podemos sugerir que o CVC esteja atuando sobre barorreflexo, sendo necessário a desnervação sino aórtica para melhor caracterização.

Estudos com outros produtos derivados de plantas também mostram efeitos cardiovasculares importantes como exemplo, podemos citar o trabalho de Choi *et al.*, (2016) que avaliaram a ação da quecercina, um flavanoide comum em vegetais, frutas e vinho, promove relaxamento nos anéis da aorta em animais com hipertensão renovascular. Amat *et al.*, (2014) estudando a *Dioscorea opposita Thunb*, também conhecida como inhame chinês, em animais com hipertensão 2R-1C observou-se redução da pressão sanguínea e prevenção da hipertrofia ventricular no modelo de hipertensão 2R-1C. Guimaraes *et al.*, (2015) mostraram que em animais com hipertensão renovascular 2R-1C o tratamento com atorvastatina e sildenafil previnem a hipertrofia aórtica causada por este modelo de hipertensão provavelmente devido a diminuição do TGF β e das metaloproteinases, fatores importantes no processo de deposição de colágeno durante o desenvolvimento da hipertensão. Ainda segundo estes autores estas drogas aumentam a biodisponibilidade de NO e GMP cíclico favorecendo a melhora do quadro clínico. Sendo assim, o CVC, mediante as suas ações sobre o modelo renovascular do tipo 1R-1C tanto na pressão arterial, quanto na frequência cardíaca,

pode ser também promissor para a melhora do quadro clínico da hipertensão, com necessidade de mais estudos que clarifiquem as suas ações.

No terceiro modelo experimental de hipertensão estudado, hipertensão espontânea (SHR), verificamos que o CVC também causou hipotensão e bradicardia. Esta linhagem de ratos apresenta características comuns à hipertensão essencial que ocorre em humanos. Burgi *et al.*, (2011) verificaram haver aumento da atividade da enzima tirosina hidroxilase no córtex renal e no ventrículo esquerdo dos animais SHR. Além disso, observa-se nestes animais elevação da resistência periférica vascular (TRIPPODO; FROHLICH, 1981), aumento do débito cardíaco e hipertrofia cardiovascular (NICOLANTONIO, *et al.*, 2005), disfunção do sistema nervoso autônomo, associado ao aumento da atividade simpática e diminuição da resposta parassimpática, além de exagerada resposta inflamatória sendo implicada na patogênese da hipertensão (ZUBCEVIC *et al.*, 2014). Nesse contexto Wang *et al.*, (2015) observaram que na 8^o, 16^o e 24^o semana os animais SHR apresentam aumento da densidade de canais de potássio nas células linfocitárias (Kv1.3) os quais estão associados a ativação da resposta imune ao regular a ação dos linfócitos. McCarthy *et al* (2015) observaram que nos animais SHR o receptor “Toll-Like 9” é elevado favorecendo o aumento da pressão sanguínea e disfunção endotelial nestes animais, uma vez que estes receptores estão associados a diminuição da atividade da ATPase de cálcio do retículo sarcoplasmático favorecendo o aumento da concentração citossólica deste íon.

Nossos dados mostraram que o CVC é capaz de diminuir tanto a pressão arterial quanto a frequência cardíaca em SHR. Landa *et al.*, (2009) mostraram que o CVC é capaz de inibir a atividade da COX-2 *in vitro*, enzima importante na biossíntese no ácido araquidônico na cascata inflamatória, Gholijani; Amirghofran (2016) mostraram que o CVC e o timol inibe a resposta imune antígeno-específica das células Th-helper em camundongos tratados previamente com ovoalbumina. Diante da atuação do CVC como importante agente antiinflamatório e considerando a importante associação entre a resposta imune e o processo hipertensivo uma outra hipótese explicativa é que o CVC possa inibir o sistema imune, conseqüentemente reduzido a resposta inflamatória vascular com ação vasodilatadora, contudo devido a fulgacidade da resposta do CVC seria necessário estudo crônico com o CVC para verificação desta hipótese.

Nossos dados também demonstraram que a ação do CVC não foi restrita apenas à pressão arterial, mas também favoreceu uma bradicardia no modelo SHR. Sapru e Wang (1976) mostram em seu artigo que os animais SHR apresentam redefinição dos barorreceptores aórticos achados esses que foram posteriormente confirmados por Valenti *et al* (2009) que mostraram haver diminuição da sensibilidade do barorreflexo em ratos SHR comparados ao seu controle Wistar após teste com fenilefrina. A literatura também tem demonstrado que esta resposta diminuída do barorreflexo está associada à produção de espécies reativas de oxigênio em animais SHR e na hipertensão renovascular (GUIMARAES; CARVALHO; BRAGA, 2012). O qual pôde ser confirmado após o uso do óleo de coco combinado com exercício físico, em animais SHR, com melhora da sensibilidade barorreflexa após redução da produção de espécies reativas de oxigênio (ALVES *et al.*, 2014). Considerando que o CVC apresenta ações antioxidantes podemos sugerir que a ação bradicárdica do CVC, nos animais SHR, envolva a diminuição da produção de espécies reativas de oxigênio e desta forma modulando o sistema barorreflexo, contudo esta hipótese não foi testada havendo necessidade de estudos adicionais.

Buscando-se verificar se a ação do CVC era diferenciada entre os três modelos de hipertensão avaliamos a variação percentual dos valores de pressão sistólica, diastólica e pressão arterial média, após administração do CVC na dose de 15mg/kg sendo possível observar que a ação do CVC foi independente entre os grupos não havendo diferença estatística entre os mesmos. Mostrando que a causa da hipotensão e da bradicardia nos três modelos de hipertensão estudados são semelhantes entre si.

A ingestão de sal também está fortemente associada ao desenvolvimento doenças cardiovasculares e a maior morbidade e mortalidade, sendo importante fator de contribuição para o desenvolvimento da hipertensão, principalmente em hipertensão sensível a ingestão de sal onde há aumento da atividade simpática e aumento da resistência periférica vascular total (STOCKER; MADDEN; SVED, 2010). Diversos trabalhos que mostram que SHR, após depleção de sódio, apresentam consumo maior de sal, quando comparados com os animais normotensos (COOK; MOE, 1989). Ainda no mesmo estudo mostrou-se que este aumento da ingestão de sódio parece ser independente dos valores da pressão

sanguínea bem como do déficit de íon sódio. Os animais SHR começam a apresentar predileção às soluções salinas a partir de duas semanas de idade (COOK; MOE, 1989).

O apetite por sódio é uma condição fisiológica importante para a manutenção da homeostasia eletrolítica o qual pode ser experimentalmente induzido através da utilização de um diurético, a furosemida (LUNDY JR, *et al.*, 2003). Este procedimento experimental foi utilizado neste trabalho no protocolo de ingestão de sódio em SHR, buscando-se avaliar a ação central do CVC sobre o apetite por sódio. Observou-se inibição do comportamento ingestivo de solução salina nos animais SHR induzido pela administração central do CVC.

A Organização Mundial de Saúde recomenda uma ingestão diária de sódio menor que 5 gramas por dia, contudo em muitos países do mundo a quantidade consumida gira em torno de 9-12 gramas por dia, sendo este consumo associado ao aumento da pressão sanguínea, favorecendo a mortalidade decorrente de doenças cardiovasculares (RUST; EKMEKCIOGLU, 2016). Os modelos animais de hipertensão genética são frequentemente utilizados para melhor caracterização da hipertensão sensível ao sódio, sendo o modelo mais comum o dos ratos espontaneamente hipertensos, vale ressaltar que este modelo não é considerado de hipertensão sensível ao sal. A elevação da PA neste modelo pode estar associada à diminuição da regulação do sódio plasmático e ao aumento do tônus vasomotor (RASSLER, 2010).

Segundo Nicolantonio (2004) os animais SHR são um dos poucos modelos experimentais que exibem predileção espontânea e genética por solução salina a qual não está associada ao déficit de íons sódio no organismo. Esse aumento na predileção por sódio nos animais SHR, conforme Pereira-Derderian (2010) leva a uma hiperatividade do SRAA central com conseqüente aumento da expressividade de c-Fos em áreas encefálicas facilitatórias associadas que controlam a ingestão de solução salina hipertônica. Sabe-se que em animais SHR a predileção pelo apetite por sódio, envolve alterações nas concentrações de noradrenalina, tanto no hipotálamo, quanto nos tecidos periféricos (ELY, 1997). Os trabalhos têm também demonstrado que esta preferência não está associada ao fator hipertensivo, sendo, então, o comportamento exagerado por sódio e o processo hipertensivo co-fixados de forma independente durante o processo endogâmico. A nossa hipótese é que a

ação inibitória do CVC seja via inibição central do SRAA e conseqüentemente inibindo o apetite por solução salina hipertônica.

A literatura tem demonstrado que o CVC apresenta efeito central com propriedades ansiolíticas via sistema GABAérgico (PIRES *et al.*, 2015), Mehan *et al.*, (2011) observaram também a ação central do CVC na inibição da recaptação de neurotransmissores monoaminérgicos de forma dose-dependente em camundongos. Desta forma, pode-se inferir que a resposta inibitória do CVC sobre o comportamento ingestivo de sódio esteja associada à alteração da noradrenalina e SRAA central, já que estes fatores são alterados neste modelo de hipertensão, como mostram os dados da literatura. Contudo, são necessárias mais investigações para esclarecer se realmente este é o mecanismo de ação do CVC no sistema nervoso central no comportamento do apetite por sódio.

Verificou-se também que no modelo de hipertensão espontânea o CVC, injetado intracerebroventricularmente, foi capaz de reduzir os valores da pressão arterial sem alteração significativa dos valores da frequência cardíaca. Joca *et al.*, (2012) observaram que o CVC pode bloquear os canais de Na⁺ em neurônios periféricos inibindo a excitabilidade neuronal, sendo este bloqueio dependente da concentração do CVC. Yu *et al.* (2012) demonstraram que a injeção intracerebroventricular de CVC no modelo de isquemia de reperfusão cerebral diminui o déficit neurológico sugerindo um efeito neuroprotetor.

A literatura tem também demonstrado o efeito central do CVC com ação antidepressiva, Melo *et al.*, (2010) mostraram que administração oral do CVC em camundongos diminui o tempo de imobilidade no teste do nado forçado, desse modo observou-se ser um efeito dependente do sistema dopaminérgico. O CVC, devido a sua capacidade lipofílica, apresenta ação anticonvulsivante na região hipocámpal de camundongos e parece que este efeito esteja associado à diminuição na produção de radicais livres. (PIRES *et al.*, 2014).

Com bases nos dados da literatura podemos sugerir que o efeito hipotensor central do CVC, observado no presente trabalho, seja via alteração de monoaminas centrais o que levaria a diminuição da atividade simpática e conseqüentemente à redução dos valores de pressão arterial. Diferente do que foi observado na ação endovenosa do CVC, a administração central do CVC no ventrículo lateral, não alterou os valores da frequência cardíaca, causando apenas efeito hipotensor. Dados da literatura sugerem que as vias de controle da pressão arterial e da

frequência cardíaca são diferenciadas no sistema nervoso, como mostra Dampney (1994) ao indicar quatro classes neuronais envolvidas no controle cardiovascular central entre elas, o neurônio motor preganglionar autonômico que controla a frequência cardíaca e áreas como o bulbo ventrolateral rostral com papel crucial na regulação da pressão sanguínea. Desta forma, podemos inferir que a ação central do CVC esteja apenas associada às regiões que controlam a pressão arterial. Contudo, para esclarecer melhor o mecanismo de ação do CVC no sistema nervoso central é necessário estudos adicionais.

Em síntese nossos dados demonstram que o CVC injetado de forma endovenosa induz hipotensão e bradicardia nos modelos de hipertensão por disfunção vascular, no renovascular e na hipertensão espontânea. Verificamos também, que o CVC inibe o comportamento do apetite por sódio e a pressão arterial em animais espontaneamente hipertensos, após administração no ventrículo lateral. É possível que no futuro, após esclarecimento dos mecanismos de ação do CVC, este possa ser empregado como importante agente anti-hipertensivo, principalmente, devido às suas múltiplas ações biológica, já descrita na literatura, tais como antiinflamatório, antiplaquetário e antioxidante, além dos efeitos demonstrados no presente estudo.

PERPECTIVAS DE ESTUDOS FUTUROS

- Modificação da estrutura por encapsulamento do CVC para favorecer a sua maior biodisponibilidade, visto o efeito fugaz nas suas ações sob a forma natural.
- Desenvolvimento de formas de apresentação do CVC em cápsulas gelatinosas, devido ao seu efeito irritante na mucosa oral possibilitando a sua utilização na clínica médica por via oral.
- Verificar os possíveis mecanismos de atuação do CVC nas suas respostas cardiovasculares e no comportamento do apetite por sódio por seguintes vias:
- Verificar se o CVC altera a disponibilidade dos níveis de cálcio na célula muscular vascular nos três modelos de hipertensão estudados.
- Verificar se o CVC apresenta ação vasorrelaxante dependente da ação antioxidante no modelo renovascular de hipertensão e SHR.
- Verificar se o CVC altera a distribuição e a atividade dos receptores de Angiotensina nos modelos renovascular de hipertensão e em SHR.
- Verificar se o CVC altera a atividade do sistema nervoso simpático nos modelos de hipertensão renovascular e em SHR.
- Verificar se o CVC altera a resposta barorreflexa nos três modelos de hipertensão estudados.

REFERÊNCIAS

ALAGAWANY, M. *et al.* Biological effects and modes of action of carvacrol in animal and poultry production and health- A review. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v.3, p. 73-84, 2015.

AL DISI, S.S.; ANWAR, M.A.; EID, A.H. Anti-hipertensive herbs and their mechanism of action: part I. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, p.1-24, 2016.

ALVES, N.F.B. *et al.* Coconut oil supplementation and physical exercise improves baroreflex sensitivity and oxidative stress in hypertensive rats. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 40, p. 393-400, 2015.

ANWAR, M.A.; AL DISI, S.S.; EID, A.H. Anti-hipertensive herbs and their mechanism of action: part II. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, p. 1-25, 2016.

AMAT, N.; *et al.* Aqueous extract of dioscorea opposita thunb. normalizes the hypertension in 2K1C hypertensive rats. **BMC Complementary & Alternative Medicine**, v. 14:36, p. 1-10, 2014.

AYDIN, Y.; *et al.* Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. **Planta Medicine**, v. 73, p. 1365-1371, 2007

ASBAHANI, A.E. *et al.* Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, p. 220-243, 2015.

BASER, K.H.C. Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and Carvacrol Bearing Essential Oils. **Current Pharmaceutical Design**, v.14, p. 3106-3120, 2008.

BASSOLÉ, I.H.N.; JULIANI, H.R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 17, p. 3989-4006, 2012.

BAKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils- A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p. 446-475, 2008

BEEVERS, G.; LIP, G.Y.H.; O' BRIEN, E. The pathophysiology of hypertension. **British Medical Association**, v.322, 2001.

BLUNDY JR, R.F. *et al.* Furosemide-induced food avoidance: evidence for a conditioned response. **Physiology & Behavior**, v.81, p.397-408, 2004. BURGI, K.; *et al.* Tyrosine hydroxylase immunoreactivity as indicator of sympathetic activity: simultaneous evaluation in different tissues of hypertensive rats. **American Journal Regulation Integrative Comparative Physiology**, v. 300, p.R264-R271, 2011.

BRANDÃO, M.G.L.; *et al.* Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16 (3), p.408-420, 2006.

BRASIL. Disponível em:<http://www.plantasmedicinaisefitoterapia.com/plantas-medicinais-do-sus/>. Acesso: 23 jun. 2017.

CAMPOS, R.R; *et al.* Mechanisms of renal sympathetic activation in renovascular hypertension. **Experimental Physiology**, v.100, n.5, p. 496-501, 2015.

CARMONA, F.; PEREIRA, A.M.S. Herbal medicines: old and new concepts, truths and misunderstandings. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.23, n. 2, p.379-385, 2013.

CASTRO, H.G. de. *et al.* Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agrônômica**, v.41, p. 308-314, 2010.

CERVENKA, L. *et al.* Essential role of AT_{1A} receptor in the development of 2K1C hypertension. **Journal of American Heart Association**, v.40, p. 735-741, 2002.

CHAN, S-L; BAUMBACH, G.L. Nox2 Deficiency Prevents Hypertension-Induced Vascular Dysfunction and Hypertrophy in Cerebral Arterioles. **International Journal of Hypertension**, v. 2013, p. 1-8, 2013.

CHAN, S.H.H.; CHAN, J.Y.H. Angiotensin-Generated Reactive Oxygen Species in Brain and Pathogenesis of Cardiovascular Diseases. **Antioxidants and Redox Signaling**, p.1-11, 2012.

CHAPPELL, M.C. Biochemical evaluation of the renin-angiotensin system: the good, bad, and absolute? **American Journal Physiology Heart Circulation**, v.310, p. H137-H152, 2016.

CHASWAL, M. *et al.* Effect of Losartan, an Angiotensin II Type 1 Receptor Antagonist on Cardiac Autonomic Functions of Rats During Acute and Chronic Inhibition of Nitric Oxide Synthesis. **Physiological Research**, v. 61, p. 135-144, 2012.

CHEN, Y. *et al.* . Role of carvedilol in cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through activation of MAPK/ERK and Akt/eNOS signaling pathways. **European Journal of Pharmacology**, 2017.

CHOI, S. *et al.* Mechanisms of phytoestrogen biochanin A-induced vasorelaxation in renovascular hypertensive rats. **Kidney Research in Clinical Practice**, v.33, p.181-186, 2014.

CHOI, S. *et al.* Direct vascular actions of quercetin in aorta from renal hypertensive rats. **Kidney Research in Clinical Practice**, v. 35, p.15-21, 2016.

CIPULLO, J.P. *et al.* Prevalência e Fatores de Risco para Hipertensão em uma População Urbana Brasileira. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.94, p.1-8, 2010.

COLLET, J.A. *et al.* Renal angiotensin II type 1 receptor expression and associated hypertension in rats with minimal SHR nuclear genome. **Physiological Reports**, v.5, p.1-12, 2013.

COOK, V.I.; MOE, K.E. The early ontogeny of sodium appetite in spontaneously hypertensive vs. Normotensive rats. **Physiology & Behavior**, v.46, p.1003-1007, 1989.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**, v.7, p1250-1318, 2000.

DAMPNEY, R.A.L. Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system. **Physiological reviews**, v.74, p.323-364, 1994.

DANIELS, D.; FLUHARTY, S.J. Salt appetite: a neurohormonal viewpoint. **Physiology & Behavior**, v. 81, p. 319-337, 2004.

DANTAS, B.P.V. *et al.* Participation of the TRP channel in the cardiovascular effects induced by carvacrol in normotensive rat. **Vascular Pharmacology**, v. 67-69, p. 48-58, 2015.

DEBBIE, S. *et al.* Pharmacovigilance of herbal medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, p. 513-518, 2012.

DICKHOUT, J.G.; LEE, R.M.K.W. Blood pressure and heart rate development in young spontaneously hypertensive rats. **American Physiology Society**, p. H794-H800, 1998.

DUTRA, R.C. *et al.* Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4-29, 2016.

EKOR, M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. **Frontier in Pharmacology**, v. 4, p. 1-10, 2014.

EUA. <http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---/Isoprene.htm>. Acesso: 23 jun 2017.

FABRICANT, D.S.; FARNSWORTH, N.R. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, p. 69-75, 2001.

FAZAN R, JR.; DA SILVA, J.D.; SALGADO, H.C. Modelos de hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, p. 19-29, 2001.

FEKETA, V.V.; MARRELLI, S.P. Systemic Administration of the TRPV3 Ion Channel Agonist Carvacrol Induces Hypothermia in Conscious Rodents. **Plos One**, v.3, p. 1-14, 2015.

FIGUEREDO, C.A. de.; GURGEL, I.G.D.; JUNIOR, G.D.G. A política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, p. 381-400, 2014.

FRANÇA, I.S.X. de. *et al.* Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.

FURCHGOTT, R.F. Endothelial-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. **Nobel Lecture**, 1998.

GIORGETTI, M. ROSSI, L.; RODRIGUES, E. Brazilian plants with possible action on the Central Nervous System - a study of historical sources from the 16th to 19th century. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 537-555, 2011.

GODFRAIND, T. Discovery and Development of Calcium Channel Blockers. **Frontiers in Pharmacology**, v.8, p. 286, 2017.

GUIMARÃES, A.G. *et al.* Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v.107, p. 949-957, 2010.

GUIMARÃES, D.A. *et al.* Atorvastatin and sildenafil decrease vascular TGF- β levels and MMP-2 activity and ameliorate arterial remodeling in a model of renovascular hypertension. **Redox Biology**, v. 6, p. 386-395, 2015.

GUIMARÃES, S.; PINHEIRO, H. Functional evidence that in the cardiovascular system AT1 angiotensin II receptors are AT1B prejunctionally and AT1A postjunctionally. **Cardiovascular Research**, v. 67, p. 208-215, 2005.

HALL, J.E. Renal function in one-kidney, one-clip hypertension and low renin essential hypertension. **American Journal of Hypertension**, p. 523-533, 1991.

HAMID, A.A.; AIYELAAGBE, O.O.; USMAN, L.A. Essential oils: its medicinal and pharmacological uses. **International Journal of Current Research**, v. 3, p. 86-98, 2011.

HERING, D.; TRZEBSKI, A.; NARKIEWICZ, K. Recent advances in the pathophysiology of arterial hypertension: Potential implications for clinical practice. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej**, v. 127, p. 195-204, 2017.

HOM, S. *et al.* Comparative changes in the blood-brain barrier and cerebral infarction of SHR and WKY rats. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 292, p. R1881-1892, 2007.

HOWELL, S.J.; SEAR, J.W.; FÖEX, P. Hypertension, hypertensive heart disease and perioperative cardiac risk. **British Journal of Anaesthesia**, v. 92, p. 570-583, 2004.

HURLEY, S.W.; JOHNSON, A.K. The biopsychology of salt hunger and sodium deficiency. **Pflugers Archive**, v. 467, n. 3, p. 445-456, 2015.

IDU, M. Science and Technology in the 21st Century: Phytomedicine in Focus. **Research Journal of Recent Sciences**, v. 2, p. 1-7, 2013.

KIANMEHR, M.; REZAEI, A.; BOSKABADY, M.H. Effect of carvacrol on various cytokines genes expression in splenocytes of asthmatic mice. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 19, p. 402-410, 2016.

KOTCHEN, T.A. Historical trends and milestones in hypertension research. A model of the process of translational research. **Hypertension**, v.58, p. 522-538, 2011.

KULLER, L.H. Salt and blood pressure. Population and individual perspectives. **American Journal of Hypertension**, v. 10, 1997.

JIANG, ZS; PU, ZC; HAO, ZH. Carvacrol protects against spinal cord injury in rats via suppressing oxidative stress and the endothelial nitric oxide synthase pathway. **Molecular Medicine Reports**, v.15, p. 5349-5354, 2015.

JOCA, H.C. *et al.* Carvacrol Decreases Neuronal Excitability by Inhibition of Voltage-Gated Sodium Channels. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 1511-1517, 2012.

JOHNSON, A.K.; THUNHORST, R.L. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: Visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.18, p.292-353, 1997.

JOHNSON, A.K. The sensory psychobiology of thirst and salt appetite. **Official Journal of the American College of Sports Medicine**, p.1388-1400, 2007.

JOVER, B.; MIMRAN, A.; Nitric oxide inhibition and renal alterations. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 38, p. S65-S70, 2001.

JUNG, J-Y; LEE, J-U; KIM, W-J. Enhanced activity of central adrenergic neurons in two-kidney,one clip hypertension in Sprague–Dawley rats. **Neuroscience Letters**, v. 369, p.14-18, 2004.

LAURENT, S. *et al.* M. Isobaric compliance of the radial artery is increased in patients with essential hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 11, p. 89-98, 1993.

LEE, K.P, *et al.* Carvacrol inhibits atherosclerotic neointima formation by downregulating reactive oxygen species production in vascular smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, v. 240, p. 367-373, 2015.

LEITE, R.; SALGADO, M.C.O. Increased Vascular Formation of Angiotensin II in One-Kidney, One Clip Hypertension. **Hypertension**, v. 19, p. 575-581, 1992.

LEV-RAN, A.; PORTA, M. Salt and hypertension: a phylogenetic perspective. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 21, p.118-131, 2005.

LESHEM, M. Biobehavior of the human love of salt. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 33, p. 1-17, 2009.

LIARD, J.F. Vasopressin in cardiovascular control: role of circulating vasopressin. **Clinical Science**, v. 67, p. 473-481, 1984.

LIAO, S-J. *et al.* Stroke-prone renovascular hypertensive rat as an animal model for stroke studies: From artery to brain. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 334, p. 1-5, 2013.

LIMA, M. da.S. *et al.* Anti-inflammatory effects of cavacrol: Evidence for a key role of interleukin-10. **European Journal of Pharmacology**, v. 699, p. 112-117, 2013.

LIMAS, C.; WESTRUM, B.; LIMAS, C.J. The Evolution of vascular changes in the spontaneously hypertensive rat. **American Journal of Pathology**, v. 98, p. 354-384, 1980.

LIU, C.; HUANG, Y. Chinese herbal medicine on cardiovascular diseases and the mechanisms of action. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, p. 1-21, 2016.

LOLIO, C.A. de. Epidemiologia da hipertensão arterial. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, p. 425-432, 1990.

LUNDY JR, R.F. *et al.* Furosemide, sodium appetite, and ingestive behavior. **Physiology & Behavior**, v. 78, p. 449-458, 2003.

KARKABOUNAS, S. *et al.* Anticarcinogenic and antiplatelet effects of carvedilol. **Experimental Oncology**, v. 28, n. 2, p. 121-125, 2006.

KRAKOFF, L.R.; ELIJOVICH, F.; BARRY, C. The Role of Vasopressin in Experimental and Clinical Hypertension. **Hypertension and the Kidney: Proceedings of a Symposium** 1985.

KOPINCOVÁ, J.; PÚZSEROVÁ, A.; BERNÁTOVÁ, I. L-NAME in the cardiovascular system-nitric oxide synthase activator? **Pharmacological Reports**, v. 64, p. 511-520, 2012.

MACHADO, B.F.M.T. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapia naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, p. 105-127, 2011.

MACHADO, A.C.; OLIVEIRA, R.C. Medicamentos fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroreira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 283-289, 2014.

MCCARTHY, C.G. *et al.* Circulating mitochondrial DNA and Toll-like receptor 9 are associated with vascular dysfunction in spontaneously hypertensive rats. **Cardiovascular Research**, v. 107, p. 119-130, 2015.

MASCOLO, A. *et al.* New and old roles of the peripheral and brain renin–angiotensin–aldosterone system(RAAS): Focus on cardiovascular and neurological diseases. **International Journal of Cardiology**, v. 227 p. 734–742, 2017.

MASHOUR, N.H.; LIN, G.I.; FRISHMAN, W.H. Herbal medicine for the treatment of cardiovascular disease clinical considerations. **Archives Internal Medicine**, v. 158 n. 20, p. 2225– 2234, 1998.

MECAWI, A.S. *et al.* Developmental programming of thirst and sodium appetite. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 51, p. 1-14, 2014.

MECHAN, A.O. *et al.* Monoamine reuptake inhibition and mood-enhancing potential of a specified oregano extract. **British Journal of Nutrition**, v. 105, p. 1150-1163, 2011.

MELO, F.H.C. *et al.* Antidepressant-like effect of carvacrol (5-Isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement of dopaminergic system. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 25, p. 362-367, 2010.

MENDOZA-TORRES, E. *et al.* ACE2 and vasoactive peptides: novel players in cardiovascular/renal remodeling and hypertension. **Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease**, v.9, n. 4, p. 217-237, 2015.

METCHI, F.M.D. *et al.* Cardioprotective effects of methanol/methylene chloride extract of *Vitexcienkowskii* (Verbaseae) in L-NAME induced hypertension in rats. **European Journal of Integrative Medicine**, 2013.

MONTEZANO, A.C. *et al.* Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 31, p. 631-641, 2015.

NASCIMENTO, NC, FETT-NETO AG. Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: an overview. **Methods in Molecular Biology**, v. 643, p. 1-13, 2010.

NAVAR, L.G. *et al.* Unraveling the mystery of Goldblatt hypertension. **News Physiology Science**, v. 13, p. 170–176, 1998.

NICOLANTONIO, R.DI. Why does the spontaneously hypertensive rat have an exaggerated preference for sweet and salty solutions? An hypothesis. **Journal of Hypertension**, v. 22, p. 1649–1654, 2004.

NICOLANTONIO, R. Di. *et al.* Lack of evidence for a role for either the in utero or suckling periods in the exaggerated salt preference of the spontaneously hypertensive rat. **Physiology & Behavior**, v. 86, p. 500-507, 2005.

NIGRO, D.; FORTES, Z.B. Efeitos farmacológicos dos diuréticos e dos bloqueadores dos canais de cálcio. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 12, p. 103-107, 2005.

NG, C.F. *et al.* The anti-hypertensive effect of Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) and Gegen (*Pueraria lobata*) formula in rats and its underlying mechanisms of vasorelaxation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 1366-1372, 2011.

NOBRE, F. *et al.* Hipertensão arterial sistêmica primária. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v.46, n. 3, p. 256-272, 2013.

OLIVEIRA-SALES, E.B. *et al.* Oxidative stress contributes to renovascular hypertension. **American Journal of Hypertension**, v.21, p. 98-104, 2008.

OPARIL, S.; ZAMAN, A.; CALHOUN, D.A. Pathogenesis of hypertension. **Annals of Internal Medicine**, v. 139, p. 761-776, 2003.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, v. 27, p. 282-293, 1963.

PADUCH, R. *et al.* Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, p. 315-327, 2007.

PARK, J.B.; KARIO K.; WANG, J-G. Systolic hypertension: na increasing clinical challenge in Asia. **Hypertension Research**, v.38, p. 227-236, 2015.

PARMER, R.J.; CERVENKA, J.H.; STONE, R.A. Baroreflex sensitivity and heredity in essential hypertension. **Circulation**, v. 85, p. 497-503, 1992.

PAVIANI, L.C. **Extração com CO₂ a altas temperaturas e fracionamento do óleo essencial de capim-limão utilizando peneiras moleculares**. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Rio Grande do Sul, 2004.

PEREIRA-DERDERIAN, D.T.B. et al. Water deprivation-induced sodium appetite and differential expression of encephalic c-Fos immunoreactivity in the spontaneously hypertensive rat. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 298, p. R1298-R1309, 2010.

PERRICONE, M. et al. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1-6, 2015

PICKERING, T.G. Renovascular hypertension: etiology and pathophysiology. **Seminars in Nuclear Medicine**, v. 19, p. 79-88, 1989.

PIRES, M. J. P. Aspectos históricos dos recursos genéticos de plantas medicinais. **Rodriguésia**, v. 35, p. 61-66, 1984.

PIRES, L.F. *et al.* Neuropharmacological effects of carvacryl acetate on d-aminolevulinic dehydratase, Na⁺, K⁺-ATPase activities and amino acids levels in mice hippocampus after seizures. **Chemico-Biological Interactions**, 2014.

POTTS, J.T.; McKEOWN, K.P; SHOUKAS, A.A. Reduction in arterial compliance alters carotid baroreflex control of cardiac output in a model of hypertension. **American Physiological Society**, p. H1121-H1131, 1998.

QU, C. *et al.* Chronic inhibition of nitric-oxide synthase potentiates endothelium-dependent contractions in the rat aorta by augmenting the expression of cyclooxygenase-2. **The Journal Pharmacology and Experimental**, v. 334, p. 373-380, 2010.

RAGGENBASS, M. Overview of cellular electrophysiological actions of vasopressin. **European Journal of Pharmacology**, v. 583, p. 243-254, 2008.

RAMOS, O. Histórico do tratamento da hipertensão arterial. **Hiperativo**, v. 5, p. 230-232, 1998.

RASCHER, W. Cardiovascular effect of the antidiuretic hormone arginine vasopressin. **Klin Wochenschr**, v. 19, p. 989-990, 1985.

RASSLER, B. The Renin-Angiotensin system in the development of salt-sensitive hypertension in animal models and humans. **Pharmaceuticals**, v. 3, p. 940-960, 2010.

RASTOGI, S.; PANDEY, M.M.; RAWAT, AK.S. Traditional herbs: a remedy for cardiovascular disorders. **Phytomedicine**, p. 1-8, 2016.

RECH, T.H.; VIEIRA, S.R.R.; Hipotermia terapêutica em pacientes pós-parada cardiorrespiratória: mecanismos de ação e desenvolvimento de protocolo assistencial. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 22, n. 2, p. 196-205, 2010.

RITZ, E. Salt- friend or foe? **Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association**, v 21, p. 2052-2060, 2006.

ROCHA, F.A.G. et al. Uso terapêutico da flora na história mundial. **Holos**, v. 1, p. 49-61, 2015.

RUST, P.; EKMEKCIOGLU, C. Impact of Salt Intake on the Pathogenesis and Treatment of Hypertension. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 1-24, 2016.

SAAD, W.A. *et al.* Interaction between supraoptic nucleus and septal area in the control of water, sodium intake and arterial blood pressure induced by injection of angiotensin II, **Pharmacology Biochemical Behavior**, v. 77, p. 667-740, 2004.

SALES, O. B.E.; BOIM, M.A. Mesenchymal stem cells and chronic renal artery stenosis. **American Journal of Physiology - Renal Physiology**, v. 310, p. F6-F9, 2015.

SAMARGHANDIAN, S.; FARKHONDEH, T.; SAMINI, F.; BORJI, A. Protective Effects of Carvacrol against Oxidative Stress Induced by Chronic Stress in Rat's Brain, Liver, and Kidney. **Biochemistry Research International**, v. 2016, p. 1-7, 2016.

SANTOS, M.R.V. *et al.* Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 4, p. 764-771, 2011.

SANJULIANI, A.F. Fisiopatologia da hipertensão arterial: conceitos teóricos úteis para a prática clínica. **Revista SOCERJ**, 2002.

SAPRU, H.N.; WANG, S.C. Modification of aortic baroreceptor resetting in the spontaneously hypertensive rat. **The American Journal of Physiology**, v. 230, p. 64-674, 1976.

SAKLAYEN; M.G.; DESHPANDE, N.V. Timeline oh history oh hypertension treatment. **Frontiers Cardiovascular Medicine**, v. 3, p.1-18, 2016.

SARIKONDA, K.V. *et al.* Experimental animals models of hypertension. **Journal of the American Society of Hypertension**, v. 3, p. 158-165, 2009.

SCHEUER, D.A. Pathways to hypertension. **Journal Physiology**, v. 586, p. 5033, 2008.

SCHLAICH, M.P. *et al.* Impaired L-arginine transport and endothelial function in hypertensive and genetically predisposed normotensive subjects. **Journal of the American Heart Circulation**, v. 110, p. 3680-3686, 2004

SHARMA, D.K. *et al.* Novel diallyldisulfide analogs ameliorate cardiovascular remodeling in rats with LNAME-induced hypertension. **European Journal of Pharmacology**, v. 691, p. 198-208, 2012.

SHARE, L.; CROFTON, JT. Contribution of Vasopressin to Hypertension. **Hypertension**, v. 4, p. III85-III92, 1982.

STEFANAKI, A.; COOK, C.M.; LANARAS, T.; KOKKINI, S. The Oregano plants of Chios Island (Greece): Essential oils of *Origanum onites* L. growing wild different habitats. **Industrial Crops and Products**, v. 82, p. 107-113, 2016.

STOCKER, S.D.; MADDEN, C.J.; SVED, A.F. Excess dietary salt intake alters the excitability of central sympathetic networks. **Physiology & Behavior**, v. 100, p. 519-524, 2010.

SU, Z-J; ZHANG, Z-E. Historic perspectives and recent advances in major animal models of hypertension. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 26, n. 3, p. 295-301, 2005.

SUNTRES, Z.E.; COCCIMIGLIO, J.; ALIPOUR, M. The Bioactivity and Toxicological Actions of Carvacrol. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 304-318, 2015.

SWAMY, M.K.; AKHTAR, M.S.; SINNIAH, U.R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-21, 2016.

THOMAS, L. *et al.* Hemodynamic and Cardiac Anti-Hypertrophic Actions of Clonidine in Goldblatt One-Kidney, One-Clip Rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 41, p. 203-209, 2002.

TIBIRIÇÁ, E.; LESSA, M.A. Medicamentos anti-hipertensivos que atuam no sistema nervosa central. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 12, p. 93-96, 2005.

TIRAPELLI, C.R.; AMBROSIO, S.R.; OLIVEIRA, A.M. de.; TOSTES, R.C. Hypotensive action of naturally occurring diterpenes: A therapeutic promise for the treatment of hypertension. **Fitoterapia**, v. 81, p. 690-702, 2010.

TOBA, H. *et al.* Calcium Channel Blockades Exhibit Anti-Inflammatory and Antioxidative Effects by Augmentation of Endothelial Nitric Oxide Synthase and the Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme in the NG Nitro-L-Arginine MethylEster-Induced Hypertensive Rat Aorta: Vasoprotective Effects beyond the Blood Pressure-Lowering Effects of Amlodipine and Manidipine. **Hypertension Research**, v. 28, p. 689-700, 2015.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S. Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. **Journal of Food Science**, v. 79, p. R1231-R1249, 2014.

TRABACE, L. *et al.* Estrous cycle affects the neurochemical and neurobehavioral profile of carvacrol-treated female rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 255, p. 169–175, 2011.

TUREK, C.; STINTZING, F.C. Stability of essential oils: review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.12, p. 40-53, 2013.

VALENTI, V.E. *et al.* Avaliação da função barorreflexa em ratos jovens espontaneamente hipertensos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 92, p. 216-221, 2009.

VEIGA, JR. V.F.; PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VERMA, R.S. *et al.* Chemical diversity in Indian Oregano (*Origanum vulgare* L.). **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, p. 2054-2065, 2010.

VIVAS, L. *et al.* Neurochemical circuits involved in fluid and cardiovascular regulation: role of serotonin, oxytocin and angiotensinergic systems. In: DeLUCA JR. *et al.* Neurobiology of body fluids homeostasis: Transduction and integration. **Frontiers in Neuroscience**, Taylor and Francis Group, LLC, 2014. cap. 9.

VIKRANT, S.; TIWARI. Essential hypertension- pathogenesis and pathophysiology. **Journal Indian Academy of Clinical Medicine**, v. 2, p. 141-161, 2001.

WANG, L-P. *et al.* The expression and functional evidence for voltage-dependent potassium channel Kv1.3 in lymphocytes during aging in spontaneously hypertensive rats. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, n. 2, p. 2506-2515, 2015.

WIESEL, P. *et al.* Two-kidney, one clip and one-kidney, one clip hypertension in mice. **Hypertension**, v. 29, p. 1025-1030, 1997.

WROBEL, L.J. DUPRÉ, A.; RAGGENBASS, M. Excitatory action of vasopressin in the brain of the rat: role of cAMP signaling. **Neuroscience**, v. 172, p. 177-186, 2011.

YAMAGUCHI, I.; FLYNN, J.T. Pathophysiology of hypertension. **Springer-Verlag Berlin Heidelberg**, 2009.

YU, H.; ZHANG, Z-L.; CHEN, J.; PEI, A.; HUA, F.; QIAN, X.; HE, J.; LIU, C-F.; XU, X. Carvacrol, a Food-Additive, Provides Neuroprotection on Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Mice. **PLoS ONE**, v. 7, p. 1-8, 2012.

ZAGO, A.S.; ZANESCO, A. Óxido nítrico, doenças cardiovasculares e exercício físico. **Arquivo Brasileiro Cardiologia**, v. 87, n. 6, p. 264-270, 2006.

ZEYTINOGLU, H.; INCENSU, Z.; BASER, K.H.C. Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human N-RAS oncogene. **Phytomedicine**, v. 10, p. 292-299, 2003.

ZENG, J.; ZHANG, Y.; MO, J.; SU, Z.; HUANG, R. Two-kidney, two clip renovascular hypertensive rats can be used as stroke-prone rats. **Stroke**, v. 29, p. 1708-1714, 1998.

ZOTTI, M. *et al.* Carvacrol: From Ancient Flavoring to Neuromodulatory Agent. **Molecules**, v. 18, p. 6161-6172, 2013.

ZHONG, Z. *et al.* Carvacrol alleviates cerebral edema by modulating AQP4 expression after intracerebral hemorrhage in mice. **Neuroscience Letters**, 2013.

ZHOU, X.; FROHLICH, E.D. Analogy of Cardiac and Renal Complications in Essential Hypertension and Aged SHR or L-NAME/SHR. **Medicinal Chemistry**, v.3, p. 61-65, 2007.

ZUBCEVIC, J. *et al.* Altered inflammatory response is associated with an impaired autonomic input to the bone marrow in the SHR. **Hypertension**, p. 1-20, 2014.

