



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO**



**TERAPIA COMBINADA DE CARVACROL COM TREINAMENTO
FÍSICO AERÓBIO REDUZ O RISCO CARDIOVASCULAR DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

HERIKSON ARAUJO COSTA

São Luís - MA

2021

HERIKSON ARAUJO COSTA

**TERAPIA COMBINADA DE CARVACROL COM TREINAMENTO
FÍSICO AERÓBIO REDUZ O RISCO CARDIOVASCULAR DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Prof. Dr. Natalino Salgado Filho

Co-orientador (a): Prof^a. Dr^a. Rachel Melo Ribeiro

São Luís – MA

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

ARAUJO COSTA, HERIKSON.

TERAPIA COMBINADA DE CARVACROL COM TREINAMENTO FÍSICO
AERÓBIO REDUZ O RISCO CARDIOVASCULAR DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS / HERIKSON ARAUJO COSTA. -
2021.

103 f.

Coorientador(a): RACHEL MELO RIBEIRO.

Orientador(a): NATALINO SALGADO FILHO.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
SÃO LUIS, 2021.

1. Carvacrol. 2. Risco cardiovascular. 3.
Treinamento físico aeróbio. I. MELO RIBEIRO, RACHEL. II.
SALGADO FILHO, NATALINO. III. Título.

HERIKSON ARAUJO COSTA

**TERAPIA COMBINADA DE CARVACROL COM TREINAMENTO
FÍSICO AERÓBIO REDUZ O RISCO CARDIOVASCULAR DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para aprovação e obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Prof. Dr. Natalino Salgado Filho

Co-orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Rachel Melo Ribeiro

Aprovada em: 25 /03 /2021

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Rachel Melo Ribeiro (Coorientadora)
Universidade Federal do Maranhão

Examinador I
Prof. Dr. Samuel Penna Wanner
Universidade Federal de Minas Gerais

Examinador II
Prof. Dr. Thiago Teixeira Mendes
Universidade Federal do Maranhão

Examinador III
Prof. Dr. Antônio Marcus de Andrade Paes
Universidade Federal do Maranhão

Examinador IV
Prof^ª. Dr^ª. Rosane Nassar Meireles Guerra Libério
Universidade Federal do Maranhão

Poema: *eu tenho fé e acredito na força do professor.*

“Um guerreiro sem espada, sem faca, foice ou facão, armado só de amor segurando um giz na mão. O livro é seu escudo que lhe protege de tudo que possa lhe causar dor, por isso eu tenho dito, que tenho fé e acredito na força do professor. A luta por igualdade, contra o racismo, contra o preconceito burro, homofobia, machismo, a luta pelo respeito de quem tem amor no peito, é a luta do educador por um mundo mais bonito; tenho fé e acredito na força do professor. O professor que é um arquiteto de sonhos, um engenheiro do futuro, um motorista da vida dirigindo no escuro, um plantador de esperança, plantando em cada criança um adulto sonhador. Nesse mundo tão cruel, somente a educação mata a fome da miséria, combate a corrupção e é possível até que mude o sistema de saúde desse povo sofredor. Eu insisto, eu repito, tenho fé e acredito na força do professor. É tanta solidariedade doando o seu saber, tirando da própria mente para outra mente crescer, salvando e guiando vidas por estradas tão compridas com mais espinhos que flor; em poesia eu recito, tenho fé e acredito na força do professor. Porém não sinta vergonha, não se sinta derrotado, se o nosso país vai mal, você não é culpado. Nas potencias mundiais são sempre heróis nacionais e por aqui sem valor. Mesmo tristes, são eles quem constroem a nossa nação. Há se fizessem justiça, sem corpo mole ou preguiça, lhe dando o real valor, eu daria um grande grito, tenho fé e acredito na força do professor. Na força de quem é forte, mesmo sendo enfraquecido por não ser valorizado, por não ser reconhecido, por quem estar lá no poder, assistindo padecer sem ouvir nosso clamor. Há se fosse diferente, há se até o presidente se curvasse ao professor”.

Bráulio Bessa.

Dedico este trabalho aos meus pais, Jusselino Moreno Costa e Antônia Auricélia Araujo Costa, que em sua enorme sabedoria e dedicação, me proporcionaram a oportunidade de estudar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela sua infinita misericórdia e sabedoria ao permitir que meu caminho neste curso de pós-graduação fosse cruzado por pessoas que fizeram dessa, uma jornada mais amena.

Ao Prof. Dr. Mário Sevílio, que me aproximou do “universo” da pós-graduação e me apresentou ao Prof. Dr. Natalino Salgado, o qual aceitou o desafio de me orientar no desenvolvimento desta pesquisa. Sempre solícito e demonstrando preocupação com a qualidade do nosso trabalho, o Prof. Dr. Natalino nunca mediu esforços para viabilizar as melhores condições para este fim.

Ao grupo LACORE, coordenado pelo Prof. Dr. Cristiano Teixeira Mostarda, e aos professores Dr. Rui Oliveira, Dr. Romão Borges, Dr^a. Marilene Borges e Dr^a. Flávia Vidal, que abriram as portas de seus laboratórios, viabilizando a execução do nosso protocolo experimental.

Aos colegas, Prof. Dr. Thiago Mendes e Prof. Dr. Francisco Navarro, pelo incentivo e parceria de sempre; à Prof^ª. Daiane Pereira e aos alunos de iniciação científica, Gabriel Oliveira, Vinicius Mendes e Jhônata Moura, pela dedicação durante todas as etapas deste estudo.

Dedico este parágrafo para agradecer aos professores, Dr. Carlos Dias, e Dr^a. Rachel Ribeiro, que sempre se fizeram presentes e me apoiaram de maneira incondicional, tornando o caminho para mim menos árduo. A Prof^ª. Dr^a. Rachel Ribeiro (minha Co-orientadora), em especial, colaborou de forma significativa com o meu amadurecimento científico durante todo o processo de formação nesta pós-graduação. Sempre de bom humor e com disposição a ensinar, ela abdicava de seus finais de semana, férias, feriados e família para estar conosco no laboratório, realizando experimentos, corrigindo os artigos e ajudando a gerar resultados. Portanto, a Prof^ª. Dr^a. Rachel Ribeiro, é grande merecedora desses agradecimentos.

Por fim, é importante lembrar que tudo seria mais difícil se eu não tivesse o apoio da minha família e da minha noiva, Vicenilma Martins, que esteve comigo nos momentos de angústia, me dizendo que tudo iria se resolver; e ela sempre esteve perto, fazendo dar certo o que eu achava que iria dar errado, por isso, eis aqui os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

1. Introdução	13
CAPÍTULO I	16
2. Referencial teórico	17
2.1 Sistema cardiovascular	17
2.2 Hipertensão arterial sistêmica	17
2.2.1 Classificação e abordagem epidemiológica	17
2.2.2 Fisiopatologia da hipertensão arterial sistêmica	20
Mecanismos de controle vascular da pressão arterial	21
Mecanismo neural de controle da pressão arterial	23
Mecanismo hormonal e natriurético de controle da pressão arterial	24
2.3 Modelo de hipertensão espontânea em ratos	27
2.4 Carvacrol: abordagem química	28
2.4.1 Carvacrol: abordagem toxicológica	30
2.4.2 Uso do carvacrol no tratamento de desordens cardiovasculares	31
2.5 Adaptações ao exercício físico aeróbio	33
2.5.1 Sistema cardiovascular: adaptações agudas ao exercício físico aeróbio	33
2.5.2 Sistema cardiovascular: adaptações crônicas ao treinamento físico aeróbio ...	34
3. Objetivo geral	37
3.1 Objetivos específicos	37
4. Resultados	38
CAPÍTULO II: Artigo de revisão sistemática	39
CAPÍTULO III: Artigo original	59
5. Considerações finais	83
6. Perspectivas futuras	83
7. Referências bibliográficas	84
ANEXO	92
APÊNDICE	97

LISTA DE ABREVIACÕES

Ang (1-7)	Angiotensina (1-7)
Ang II	Angiotensina II
AT1-R	Receptor de Ang II do tipo 1
AVE	Acidente Vascular Encefálico
Ca²⁺	Cálcio
Ca_v	Canais de cálcio voltagem-dependente
Ca_vL	Canais de cálcio voltagem-dependente do tipo L
CO₂	Dióxido de carbono
DAP	Doença Arterial Periférica
DC	Débito Cardíaco
DCV	Doença Cardiovascular
DRC	Doença Renal Crnica
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
HAS	Hipertensão Arterial Sistmica
HPE	Hipotensão Pós-Exercício
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IC	Insuficiência Cardíaca
K⁺	Potássio
MAS-R	Receptor de Ang (1-7)
O₂	Oxignio
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
RVP	Resistência Vascular Periférica
SNA	Sistema Nervoso Autnomo
SRAA	Sistema Renina Angiotensina Aldoesterona
VO₂Mx	Consumo Máximo de Oxignio

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação da pressão arterial de acordo com a VIII Diretriz brasileira de hipertensão	Pag. 18
Tabela 2	Classificação da pressão arterial de acordo a Diretriz europeia de hipertensão	Pag. 18
Tabela 3	Classificação da pressão arterial de acordo com o Colégio americano de cardiologia	Pag. 18
Tabela 4	Classificação dos terpenos baseada na quantidade de unidades de isopreno	Pag. 29
Tabela 5	Classificação de intensidade para exercícios aeróbios	Pag. 34

LISTA DE FIGURAS

- | | | |
|-----------------|---|----------------|
| Figura 1 | Mecanismo de contração vascular e sua inibição por bloqueadores de canais de cálcio voltagem-dependentes. | Pag. 22 |
| Figura 2 | Mecanismo barorreflexo de controle da pressão arterial | Pag. 24 |
| Figura 3 | Representação da ação de angiotensina II e angiotensina (1-7) | Pag. 25 |
| Figura 4 | Estrutura química dos isômeros carvacrol e timol | Pag. 30 |

RESUMO

Introdução: a hipertensão arterial sistêmica (HAS), caracterizada pela sustentação de níveis elevados de pressão arterial, é considerada o principal fator de risco para o desencadeamento de desordens cardiovasculares (DCVs). Portanto, é salutar a investigação de novas terapias, principalmente não-medicamentosas, que possam auxiliar no tratamento da HAS e redução dos riscos cardiovasculares. Nesse contexto, o carvacrol, monoterpene classificado como composto majoritário no orégano, surge como uma opção promissora para uso no tratamento de DCVs, uma vez que já são conhecidas suas propriedades anti-inflamatória, antioxidante, anti-hipertensiva e cardioprotetora. Outra terapia não medicamentosa bastante estudada para o tratamento de DCVs, é o treinamento físico aeróbio, que pode proporcionar efeitos modulares sobre os parâmetros lipídicos, pressão arterial e remodelamento cardíaco. **Objetivo:** investigar se o treinamento físico aeróbio potencializa a redução do risco cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos tratados com 20 mg/kg/dia de carvacrol. **Método:** o delineamento experimental foi composto por seis grupos, 1) grupo controle normotenso (Wistar), 2) controle hipertensivo (SHR), 3) controle positivo tratado com anlodipina (Anl-20mg), 4) grupo tratado com carvacrol (Carv-20mg), 5) tratado com exercício (Exer) e 6) tratados com exercícios e carvacrol (ExerCarv), que realizaram quatro semanas de tratamento e registro semanal de frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média. Antes e ao final do protocolo de tratamento, os animais foram submetidos a realização de um teste de esforço físico máximo em esteira ergométrica. Ao final do tratamento, foram realizados testes de reatividade vascular, além de medidas bioquímicas de glicemia, uréia, creatinina, AST, ALT, triglicerídeos, colesterol total, HDL-C, LDL-C, VLDL-C, cálculos de índices aterogênicos, peso relativo do órgão e análise histopatológica do tecido perivascular cardíaco. **Resultados:** os grupos tratados não experimentaram toxicidade renal e hepática, uma vez que houve redução dos níveis séricos de ureia e AST. O programa de tratamento proposto reduziu desde a primeira semana os níveis pressóricos dos animais hipertensos, sendo a hipertensão controlada após quatro semanas de tratamento. O grupo ExerCarv experimentou maiores magnitudes de redução da PA, quando comparado aos demais grupos, inclusive do grupo tratado com anlodipina (ExerCarv: Δ PAS = $88,17 \pm 10,0$ mmHg; Δ PAD = $66,17 \pm 31,89$ mmHg; Δ PAM = $73,5 \pm 20,0$ mmHg). Ainda podemos observar uma diminuição da reatividade vascular, com os grupos tratados desenvolvendo menos tensão vascular (Emax) ao serem expostos a concentrações cumulativas de noradrenalina e cálcio. O grupo Carv-20mg demonstrou um efeito discreto sobre as variáveis lipídicas, reduzindo apenas os níveis séricos de triglicerídeos, LDL colesterol e índices aterogênicos, enquanto os grupos treinados (Exer e ExerCarv) conseguiram modular todas as variáveis lipídicas independente do uso de carvacrol. Também foi possível observar uma manutenção do peso relativo do coração (g/100g) (Wistar: $0,42 \pm 0,03$; SHR: $0,48 \pm 0,03$; Anl-20mg: $0,39 \pm 0,03$; Carv-20mg: $0,41 \pm 0,04$; Exer: $0,42 \pm 0,02$ e ExerCarv: $0,41 \pm 0,03$), bem como de alterações a nível de tecido cardíaco nos animais tratados, com os animais do grupo SHR não tratado, apresentando hipertrofia do tecido perivascular e cardiomiócitos mais edemaciados. **Conclusão:** quatro semanas de tratamento com carvacrol (via oral) ou treinamento aeróbio, de animais SHR é eficiente para regularização da PA, sendo que a interação entre essas terapias proporciona uma maior magnitude de redução dos níveis pressóricos. Concluímos ainda que o treinamento físico aeróbio modula as variáveis lipídicas associadas ao risco cardiovascular, independente do uso de carvacrol. Por fim, o tratamento com carvacrol e/ou treinamento aeróbio preserva o músculo cardíaco, prevenindo de hipertrofia e desarranjos tissulares relacionados a lesão desse órgão pela hipertensão.

Palavras-chave: Treinamento físico aeróbio, carvacrol, hipertensão, risco cardiovascular.

ABSTRACT

Introduction: systemic arterial hypertension (SAH), characterized by the maintenance of high blood pressure levels, is considered the main risk factor for the triggering of cardiovascular disorders (CVDs). Therefore, it is salutary to investigate new therapies, especially non-medications, that can assist in the treatment of SAH and reduce cardiovascular risks. In this context, carvacrol, a monoterpene classified as a major compound in oregano, appears as a promising option for use in the treatment of CVDs, since its anti-inflammatory, antioxidant, antihypertensive and cardioprotective properties are already known. Another non-drug therapy widely studied for the treatment of CVDs is aerobic physical training, which can provide modular effects on lipid parameters, blood pressure and cardiac remodeling. **Objective:** to investigate whether aerobic physical training enhances the reduction of cardiovascular risk in spontaneously hypertensive rats treated with 20 mg/kg of carvacrol. **Method:** the experimental design was composed of six groups, 1) normotensive control group (Wistar), 2) hypertensive control (SHR), 3) positive control treated with amlodipine (Aml-20mg), 4) group treated with carvacrol (Carv-20mg), 5) treated with exercise (Exer) and 6) treated with exercise and carvacrol (ExerCarv), who underwent four weeks of treatment and weekly heart rate, systolic, diastolic and mean blood pressure. Before and at the end of the treatment protocol, the animals were submitted to a test of maximum physical effort on a treadmill. At the end of the treatment, vascular reactivity tests were performed, in addition to biochemical measurements of blood glucose, urea, creatinine, AST, ALT, triglycerides, total cholesterol, HDL-C, LDL-C, VLDL-C, calculations of atherogenic indexes, weight organ relative and histopathological analysis of cardiac perivascular tissue. **Results:** the treated groups did not experience renal and hepatic toxicity, since there was a reduction in serum urea and AST levels. The proposed treatment program reduced blood pressure levels of hypertensive animals from the first week, with hypertension being controlled after four weeks of treatment. The ExerCarv group experienced greater magnitudes of BP reduction when compared to the other groups, including the group treated with amlodipine (ExerCarv: Δ SBP = 88.17 ± 10.0 mmHg; Δ DBP = 66.17 ± 31.89 mmHg; Δ MAP = 73.5 ± 20.0 mmHg). We can still observe a decrease in vascular reactivity, with the treated groups developing less vascular tension (E_{max}) when exposed to cumulative concentrations of norepinephrine and calcium. The Carv-20mg group demonstrated a discreet effect on lipid variables, reducing only serum levels of triglycerides, LDL cholesterol and atherogenic indexes, while trained groups (Exer and ExerCarv) managed to modulate all lipid variables regardless of the use of carvacrol. It was also possible to observe a maintenance of the relative weight of the heart (g / 100g) (Wistar: 0.42 ± 0.03 ; SHR: 0.48 ± 0.03 ; Aml-20mg: 0.39 ± 0.03 ; Char -20mg: 0.41 ± 0.04 ; Exer: 0.42 ± 0.02 and ExerCarv: 0.41 ± 0.03), as well as changes in the level of cardiac tissue in the treated animals, with the animals in the group Untreated SHR, with hypertrophy of perivascular tissue and more swollen cardiomyocytes. **Conclusion:** four weeks of treatment with carvacrol (orally) or aerobic training, of SHR animals is efficient for regularization of BP, and the interaction between these therapies provides a greater magnitude of blood pressure reduction. We also concluded that aerobic physical training modulates the lipid variables associated with cardiovascular risk, regardless of the use of carvacrol. Finally, treatment with carvacrol and / or aerobic training preserves the cardiac muscle, preventing hypertrophy and tissue disorders related to injury to this organ by hypertension.

Keywords: Aerobic physical training, carvacrol, hypertension and cardiovascular risk.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCVs), são a principal causa de morbimortalidade no mundo (WILLIAMNS *et al.* 2018). Contudo, nem sempre foi assim; do início do século XX até a década de 70, as doenças infecciosas eram consideradas a principal causa de morte no mundo, sendo ultrapassada a partir dos anos 80 pelas DCVs (PRATA, 1992; BRANT *et al.*, 2017).

Essa transição epidemiológica acompanha a revolução industrial, que trouxe mais comodidade para a execução de tarefas do cotidiano e do trabalho, como por exemplo o surgimento de veículos automotivos e melhor acesso a produtos alimentícios industrializados. Esta comodidade pode estar associada a maior prevalência do comportamento sedentário, bem como ao desenvolvimento de dislipidemia, diabetes e hipertensão arterial sistêmica (HAS) (BRANT *et al.*, 2017; LAVIE *et al.*, 2019). Dentre estas, a HAS é considerada o principal fator de risco para as DCVs (LIMA *et al.*, 2016).

A HAS, é caracterizada pela sustentação de valores elevados de pressão arterial sistólica ($PAS \geq 140$ mmHg) e pressão arterial diastólica ($PAD \geq 90$ mm Hg), estando associado ao desenvolvimento de aterosclerose, infarto agudo do miocárdio, remodelamento cardíaco (hipertrofia cardíaca com redução de volume sistólico) e insuficiência cardíaca (WILLIAMS *et al.*, 2018). Assim, o tratamento da HAS está correlacionado a uma redução do risco cardiovascular, como observado em estudos envolvendo o uso de anti-hipertensivos (MAIDA *et al.*, 2016). Portanto, é salutar a investigação de novas terapias que possam auxiliar neste tratamento, principalmente as de caráter não medicamentoso. Neste contexto, o carvacrol se apresenta como uma opção a ser estudada.

O carvacrol, é um monoterpene ($C_{10}H_{14}O$) fenólico, encontrado na maioria das plantas aromáticas, classificado como composto majoritário dos óleos essenciais de orégano e tomilho (NHU-TRANG *et al.*, 2006). Ao carvacrol já foram atribuídas propriedades biológicas que exercem ação anti-inflamatória (LIU *et al.*, 2019), analgésica (WANG *et al.*, 2019), antioxidante (BELLÉS *et al.*, 2019), anticancerígena (BARANAUSKAITE *et al.*, 2017), etc. Em relação aos seus efeitos sobre o sistema cardiovascular, sabe-se que ele atua através do bloqueio dos canais de cálcio voltagem dependente (Ca_{vS}), promovendo vasorrelaxamento e redução da pressão arterial (PA) (AYDIN *et al.*, 2007; DANTAS *et al.*, 2015), bem como

promove modulação lipídica (ARISTATILE et al., 2009; ABD EL AAL et al., 2017), e cardioproteção (YU et al., 2013; CHEN et al., 2017).

Até o presente momento, a maioria dos estudos que se propuseram a investigar os efeitos do carvedilol sobre o comportamento da pressão arterial, utilizaram-se de delineamentos envolvendo animais normotensos e, em alguns casos, induzindo hipertensão por meio de L-NAME (inibidor da enzima óxido nítrico sintase) e angiotensina II, observando tanto efeito hipotensor quanto anti-hipertensivo (AYDIN et al., 2007; DANTAS et al., 2015). Contudo, esses modelos não conseguem mimetizar fielmente os aspectos fisiológicos da hipertensão arterial sistêmica observada em humanos. O estudo de Barretos *et al.* (2020), é o único que utiliza um modelo de hipertensão espontânea (ratos - SHR). Estes autores notaram reduções importantes na pressão arterial após 15 dias de tratamento por via oral, embora não tenham conseguido proporcionar uma regularização dos parâmetros pressóricos.

Em nosso grupo, foi desenvolvido uma investigação do efeito anti-hipertensivo do carvedilol, utilizando ratos espontaneamente hipertensos (SHR), administrando diferentes doses de carvedilol por via oral (20 e 40 mg/kg/dia). Demonstramos que a dose de 20 mg/kg/dia, ofereceu melhor redução da PA, bem como melhores efeitos sobre a tensão vascular, regularizando a PA dos animais após quatro semanas de tratamento (DIAS, 2020).

Outra terapia bastante utilizada como coadjuvante no tratamento da HAS, é o treinamento com exercícios físicos, sendo a maioria dos estudos envolvendo exercícios de predominância aeróbia (BOCALINI et al., 2017). Sabe-se que o exercício aeróbio reduz a PA tanto de maneira aguda (hipotensão pós-exercício - HPE), quanto crônica, tendo efeitos mais pronunciados em indivíduos hipertensos descompensados (BOCALINI et al., 2017). A associação do treinamento aeróbio a anti-hipertensivos, potencializa a regularização da PA e diminui o risco cardiovascular (MAIDA et al., 2016). Entretanto, não existem estudos que associaram o treinamento aeróbio ao uso oral de carvedilol em modelos de hipertensão espontânea.

A partir do que já se sabe a respeito das propriedades biológicas do carvedilol e dos efeitos do exercício físico sobre as variáveis cardiovasculares e metabólicas, esperamos que quatro semanas de treinamento físico aeróbio potencialize a redução dos níveis pressóricos e níveis séricos de colesterol, triglicérides, LDL-C e VLDL-C, bem como promova prevenção da hipertrofia cardíaca presente em modelos de hipertensão não tratada.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do treinamento físico aeróbio sobre a redução do risco cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos tratados com 20 mg/kg de carvacrol. Para tanto, visando uma apresentação mais didática e coesa do problema de estudo desta tese, optamos por organizar sua estrutura na forma de apresentação de artigos, estando-a dividida em três capítulos.

No capítulo I, descrevemos em uma ampla revisão de literatura (referencial teórico), questões que envolvem a epidemiologia da hipertensão arterial e os mecanismos regulatórios da pressão arterial; abordamos as características fitoquímicas, manejo, cultivo, principais componentes ativos e propriedades biológicas do carvacrol. Ainda evidenciamos as características de um treinamento aeróbio e seus efeitos agudos e crônicos sobre o sistema cardiovascular.

Em seguida buscamos discutir em uma revisão sistemática (artigo de revisão - capítulo II), os principais mecanismos de ação do carvacrol para o tratamento de distúrbios cardiovasculares, chamando a atenção para as concentrações de carvacrol utilizada nos estudos revisados, vias de administração e delineamentos experimentais utilizados.

Por fim, no capítulo III, apresentamos os resultados da nossa pesquisa na forma de um artigo original, que teve como principal achado a maximização de redução da pressão arterial nos animais hipertensos tratados com exercício físico aeróbio e 20 mg/kg de carvacrol administrado por via oral.

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO

REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sistema cardiovascular

A revolução científica do século XVI foi um importante marco para o desenvolvimento do conhecimento sobre o sistema cardiovascular, o qual inicialmente foi elucidado a maneira como o sangue circula e qual a participação da pressão sanguínea para este fim (KRIEGER *et al.* 2013). O sistema cardiovascular, compreendido principalmente por vasos sanguíneos e coração, tem como principal objetivo garantir a demanda metabólica tecidual, tanto em repouso quanto em condições de estresse, como ocorre durante a prática de um exercício físico (HALL, 2011). Para tanto, é necessário controlar a distribuição do débito cardíaco (DC), que ocorre através de adaptações agudas e crônicas de fatores intrínsecos vasculares, neurais e hormonais (SILVERTHORN, 2010). Sendo assim, o sistema cardiovascular é sensível a alterações pressóricas sanguíneas, o que em alguns casos podem estar associadas ao aumento da resistência vascular periférica (RVP) ou até mesmo uma hiperatividade do sistema nervoso simpático (SILVERTHORN, 2010).

As constantes flutuações na pressão arterial (PA), podem ser consideradas normais, desde que as alterações abruptas, como ocorre no pico hipertensivo e na hipotensão, sejam rapidamente restabelecidas. Em caso de elevação sustentada da PA, o sistema cardiovascular pode sofrer sérios prejuízos no que diz respeito a sua homeostase (WILLIAMS *et al.*, 2018). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada pela elevação sustentada da PA ($\geq 140/90$ mmHg), e está associada ao desenvolvimento de remodelamento cardíaco e arterial, levando a insuficiência cardíaca e redução da complacência arterial (HOLLENBERG *et al.*, 2016; MALACHIAS; PLAVNIK; *et al.*, 2016; WILLIAMS *et al.*, 2018).

Portanto, no decorrer deste capítulo será discutido o conceito de HAS, levando em consideração as principais diretrizes mundiais, bem como a questão epidemiológica e aumento do risco cardiovascular. Será abordado também a fisiopatologia da HAS e seu manejo frente a terapias não medicamentosas como o uso do carvedilol e treinamento físico aeróbio.

2.2 Hipertensão arterial sistêmica

2.2.1 Classificação e abordagem epidemiológica

A HAS é considerada uma doença crônica não transmissível de caráter multifatorial e poligênico, tendo como principais fatores de risco o aumento da idade, sexo, hereditariedade, raça, tabagismo, etilismo, alimentação e sedentarismo (WILLIAMS *et al.*, 2018). Em relação a

sua classificação, as atuais diretrizes de hipertensão, europeia e norte-americana, diferem em alguns pontos da diretriz brasileira, contudo todas elas concordam que valores sustentadamente elevados de pressão arterial sistólica (PAS) e de pressão arterial diastólica (PAD), podem levar a prejuízos irreversíveis a tecidos de órgãos alvos como, miocárdio, tecido vascular, cerebral e renal. Estas condições, na maioria das vezes, são assintomáticas em seu estágio inicial (MALACHIAS; PLAVNIK; et al., 2016; CAREY; WHELTON, 2018; WILLIAMS et al., 2018). As Tabelas 1, 2 e 3 abaixo, apresentam as classificações de hipertensão arterial (HA) de acordo com as diretrizes brasileira, europeia e norte-americana, respectivamente.

Tabela 1: Classificação da pressão arterial de acordo com a VIII Diretriz brasileira de hipertensão

Classificação	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)
Normal	≤ 120	≤ 80
Pré-hipertensão	121 - 139	81 - 89
Hipertensão estágio 1	140 - 159	90 - 99
Hipertensão estágio 2	160 - 169	100 - 109
Hipertensão estágio 3	≥ 180	≥ 110
Hipertensão sistólica isolada	≥ 140	< 90

Tabela adaptada da VIII diretriz brasileira de hipertensão (BARROSO et al., 2020).

Tabela 2: Classificação da pressão arterial de acordo com a Diretriz europeia de hipertensão

Classificação	PAS (mm Hg)		PAD (mm Hg)
Ótima ^a	< 120	e	< 80
Normal	120 - 129	e/ou	80 - 84
Normal elevada ^a	130 - 139	e/ou	85 - 89
Hipertensão estágio 1 ^a	140 - 159	e/ou	90 - 99
Hipertensão estágio 2 ^a	160 - 179	e/ou	100 - 109
Hipertensão estágio 3 ^a	≥ 180	e/ou	≥ 110
Hipertensão sistólica isolada ^b	≥ 140	e	< 90

Tabela adaptada da diretriz de hipertensão europeia (WILLIAMS et al., 2018); **a**, classificação de pressão arterial definida de acordo com a medida clínica realizada com o paciente sentado; **b**, a hipertensão arterial sistólica isolada é graduada em 1, 2 ou 3, de acordo com os valores de pressão arterial sistólica nas variações indicadas.

Tabela 3: Classificação da pressão arterial de acordo com o Colégio americano de cardiologia *

Classificação	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)
Normal	< 120	< 80
Elevada	120 - 129	< 80
Hipertensão estágio 1	130 - 139	80 - 89
Hipertensão estágio 2	≥ 140	≥ 90

Tabela adaptada da diretriz de hipertensão do colégio americano de cardiologia (WHELTON et al., 2018); *, baseado em média de duas ou mais medidas em duas ou mais ocasiões.

A classificação dos primeiros estágios de hipertensão parece ser o principal ponto de divergência entre as diretrizes supracitadas. A diretriz europeia entende como normais os valores de PAS entre 120 mmHg e 129 mmHg, enquanto a brasileira e norte-americana qualificam esses valores como pré-hipertensão e pressão elevada, consecutivamente (WHELTON et al., 2018; WILLIAMS et al., 2018; BARROSO et al., 2020). As modificações dos critérios de classificação da hipertensão impactam diretamente na estimativa do risco cardiovascular, que pode levar a modificações na terapia e manejo com o paciente; por exemplo, a decisão de quando iniciar o tratamento farmacológico não se baseia apenas nos valores de pressão arterial, mas sim no cálculo do risco cardiovascular pelo escore global de Framingham, chamado “ASCV risk calculator” (BARROSO et al., 2020).

Nesse contexto, ao considerar a pressão arterial 129/85 mmHg como normal, a diretriz europeia acaba postergando o início do tratamento farmacológico, mas, eles enfatizam que para esse estadiamento de pressão arterial, a primeira intervenção deve ser pautada em uma modificação do hábito de vida, como assumir uma dieta saudável, mantendo-se fisicamente ativo, buscando por uma melhor qualidade de sono, etc. (WILLIAMS et al., 2018). Entretanto, tanto a diretriz brasileira quanto a norte-americana, propunham intervenções farmacológicas mais precoces, visando uma redução das desordens cardiovasculares impostas pela hipertensão (WHELTON et al., 2018; BARROSO et al., 2020).

Em 2015 foi registrado em todo o mundo cerca de 1,13 bilhões de pessoas diagnosticadas com hipertensão, apontando para uma prevalência global de 30 - 45%, sendo os homens mais prevalentes do que as mulheres, 24 e 20% respectivamente (LI et al., 2016; LEHTIMÄKI et al., 2018). A alta prevalência da HAS é consistente em todo mundo, e no que diz respeito aos fatores de riscos supracitados, temos maior prevalência dessa enfermidade em indivíduos acima de 60 anos de idade, acometendo cerca de 60% dessa população (WILLIAMS et al., 2018). O envelhecimento populacional somado, principalmente, a péssimos hábitos alimentares e inatividade física, favorece ao aumento do número de pessoas acometidas por HAS, sendo estimado até 2025 um aumento de 15 - 20%, chegando a cerca de 1,5 bilhões de pessoas diagnosticadas (MILLS et al., 2016).

No Brasil, é possível notar uma tendência a redução da prevalência de HAS. Em uma metanálise realizada a partir da revisão de 40 estudos transversais e de coorte, puderam notar uma redução de 5,1% nos diagnósticos de hipertensão nas últimas três décadas, chegando

a 31% de prevalência nos últimos 10 anos (PICON et al., 2017). Dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), demonstraram que cerca de 22 a 25% da população brasileira se autodeclararam hipertensos. Os resultados mais atuais deste mesmo inquérito apontam manutenção desse quadro, fixando a prevalência em 24,7% (VIGITEL, 2014; 2018).

A estabilização na prevalência da HAS no Brasil pode estar ligada ao aumento de facilitadores para adesão em programas de atividade física na atenção básica à saúde, como relatado no estudo de Silva *et al.* (2020). Eles realizaram um estudo transversal no estado de Pernambuco - Brasil, demonstrando que 90,1% dos residentes de áreas urbanas praticavam atividade física a pelo menos um ano, e isso ocorreu devido, principalmente, a uma maior conscientização e preocupação da população com os aspectos voltados a saúde.

Embora, apesar de haver uma estabilização no aumento da prevalência da HAS, é preciso trabalhar para que esses números diminuam, uma vez que a HAS é considerada a principal causa de morbimortalidade por doenças cardiovasculares (DCVs), mantendo uma associação independente com eventos de infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular encefálico (AVE), insuficiência cardíaca (IC), doença arterial periférica (DAP) e doença renal crônica (DRC) (MALACHIAS; PLAVNIK; et al., 2016).

2.2.2 Fisiopatologia da hipertensão arterial sistêmica

A PA pode ser definida como a pressão exercida pelo sangue na parede das artérias durante as fases de contração (sístole) e relaxamento cardíaco (diástole), pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), respectivamente, sofrendo modificações constantes à medida em que há alterações no DC e RVP (SILVERTHORN, 2010; HALL, 2011). O aumento da descarga adrenérgica através da estimulação simpática, acarreta aumento do cronotropismo e inotropismo positivo cardíaco, culminando em aumento do DC e por consequência a PAS, principalmente. Enquanto a vasoconstrição ocasionada tanto por fatores neurais, hormonais e fatores intrínsecos a musculatura lisa vascular, elevam a RVP e principalmente a PAD. Portanto, a manutenção dos níveis pressóricos elevados é ocasionada por disfunções nos mecanismos reguladores do DC e da RVP de maneira isolada ou associada (SILVERTHORN, 2010).

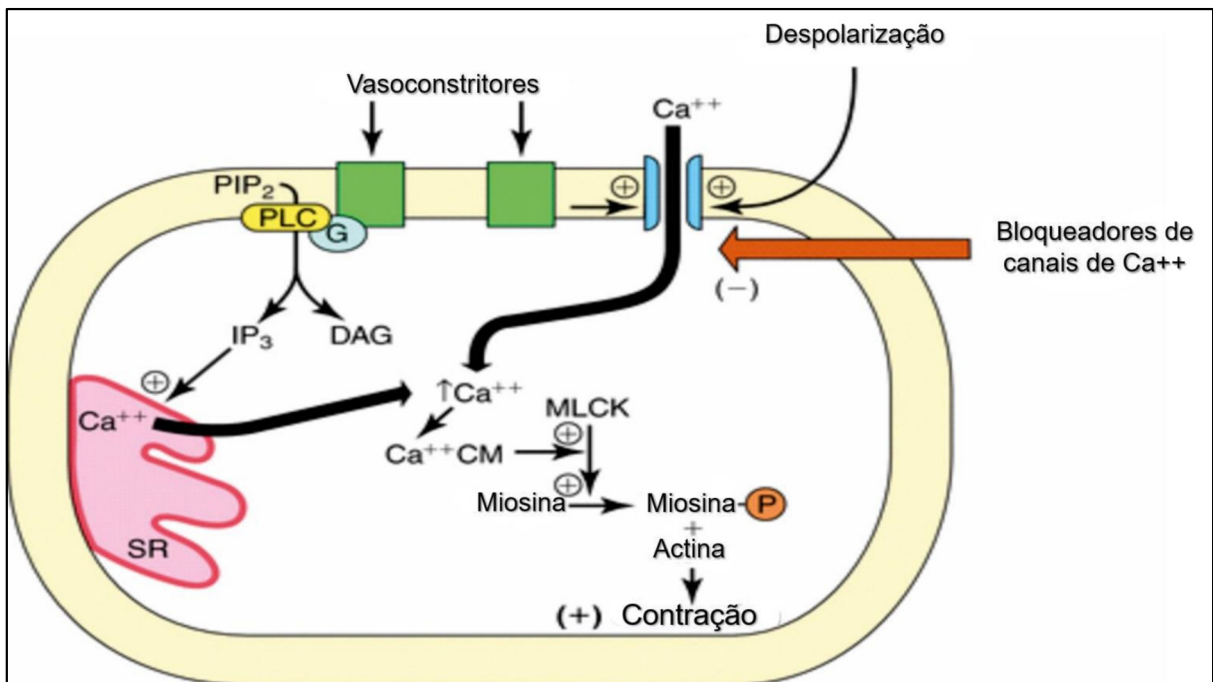
✓ **Mecanismos de controle vascular da pressão arterial.**

Os vasos sanguíneos possuem capacidades de autoajuste do seu diâmetro, promovendo alterações no fluxo sanguíneo e PA. Estas modificações estão ligadas a capacidade contrátil da musculatura lisa vascular, tendo o endotélio um importante papel neste controle. O mesmo tem a capacidade de controlar o tônus da musculatura lisa vascular através da produção de mediadores que podem promover vasodilatação ou vasoconstrição (CARVALHO et al., 2001). O óxido nítrico é considerado o principal fator vasorrelaxante derivado do endotélio, seguido do fator hiperpolarizante e da prostaciclina, enquanto a prostaglandina H₂ (PGH₂), tromboxana A₂, endotelina - 1 (ET-1) e espécies reativas de oxigênios, são os principais fatores de contração derivados do endotélio. Em condições fisiológicas, existe um equilíbrio para a produção dos fatores vasorrelaxantes e vasoconstritores derivados do endotélio, sendo que os fatores vasorrelaxantes são predominantes. Contudo, o aumento demasiado dos fatores vasoconstritores está associado a disfunção endotelial e aumento da PA (CARVALHO et al., 2001; PEREIRA, 2019).

Os ajustes vasculares às alterações no fluxo sanguíneo também são sensíveis às modulações na demanda do sistema energético celular, tendo no aumento do metabolismo e/ou insuficiente aporte de oxigênio, um aumento concomitante de metabólitos vasoativos como adenosina monofosfato (AMP), dióxido de carbono (CO₂) e íons de hidrogênio (H⁺), os quais promovem vasodilatação a fim de aumentar o fluxo sanguíneo tecidual (GUYTON, 2017). Este mecanismo de contração e relaxamento da musculatura lisa, perpassa pelos mesmos mecanismos de contração do músculo estriado esquelético, que depende das concentrações de cálcio citosólico (SILVERTHORN, 2017).

As principais proteínas responsáveis pela contração muscular são os filamentos grossos de miosina e filamentos finos constituídos por actina, troponina e tropomiosina. É importante ressaltar também a importância da calmodolina, proteína carreadora de cálcio no citosol, para a contração muscular, sendo o complexo cálcio-calmodolina um estimulante da hidrólise de ATP na cabeça da miosina, liberando energia necessária para a contração muscular (WAIB; BURINI, 1991; OIGMAN; FRITSCH, 1998). A quantidade de cálcio no citosol depende diretamente de mecanismos reguladores da entrada de cálcio (influxo) e retirada de cálcio (efluxo) da célula, e estes mecanismos estão relacionados à permeabilidade da membrana ao cálcio, através da ativação e inibição dos canais de cálcio voltagem-dependentes (Ca_v), receptor-dependentes (ROCs) e operados por estoque (SOCs); os Cav_s se subdividem em canais

do tipo L, N, P, Q, R e T, sendo que no músculo liso apenas os do tipo L (Ca_vL) são considerados como principais para o influxo de cálcio (MARUHASHI et al., 2019). Os Ca_vL são sensíveis ao bloqueio pelas diidropiridinas, também chamadas “antagonistas dos canais de cálcio”, que promovem vasodilatação ao inibirem a entrada de cálcio para célula (figura 1) (MARUHASHI et al., 2019).



Fonte: Kester *et al.* (2008); Ca^{2+} , Cálcio; CaM , calmodulina; **MLKC**, quinase da cadeia leve de miosina; **IP3**, Inositol fosfato - 3.

Figura 1: Mecanismo de contração vascular e sua inibição por bloqueadores de canais de cálcio voltagem-dependentes.

Os mecanismos de influxo e efluxo de cálcio estão sob o controle do potencial de ação da membrana citoplasmática e de substâncias vasoativas (principalmente neurotransmissores e hormônios) capazes de regular o funcionamento dos canais de cálcio (MOURA, 2016). A bomba de cálcio, bem como a troca $Na^+ - Ca^{2+}$ ($3Na^+$ para cada Ca^{2+}) são os principais mecanismos de influxo e efluxo de cálcio, os quais são estimulados através das concentrações iônicas, que dependem do funcionamento dos canais de potássio (K^+) e da bomba $Na^+ - K^+ - ATPase$. A manutenção da tensão vascular aumentada parece estar relacionada a uma diminuição na condutância ao K^+ , levando a despolarização da célula e abertura dos Ca_vL , levando por consequência ao aumento da PA. Entretanto, é importante observar que existem outros fatores que podem modificar a RVP, os quais são dependentes de estímulos nervosos e hormonais, como por exemplo a modulação simpática nos vasos sanguíneos e a sensibilidade

desses vasos a se contraírem frente a aumentos nas concentrações séricas de angiotensina II e vasopressina (MOURA, 2016; MARUHASHI et al., 2019).

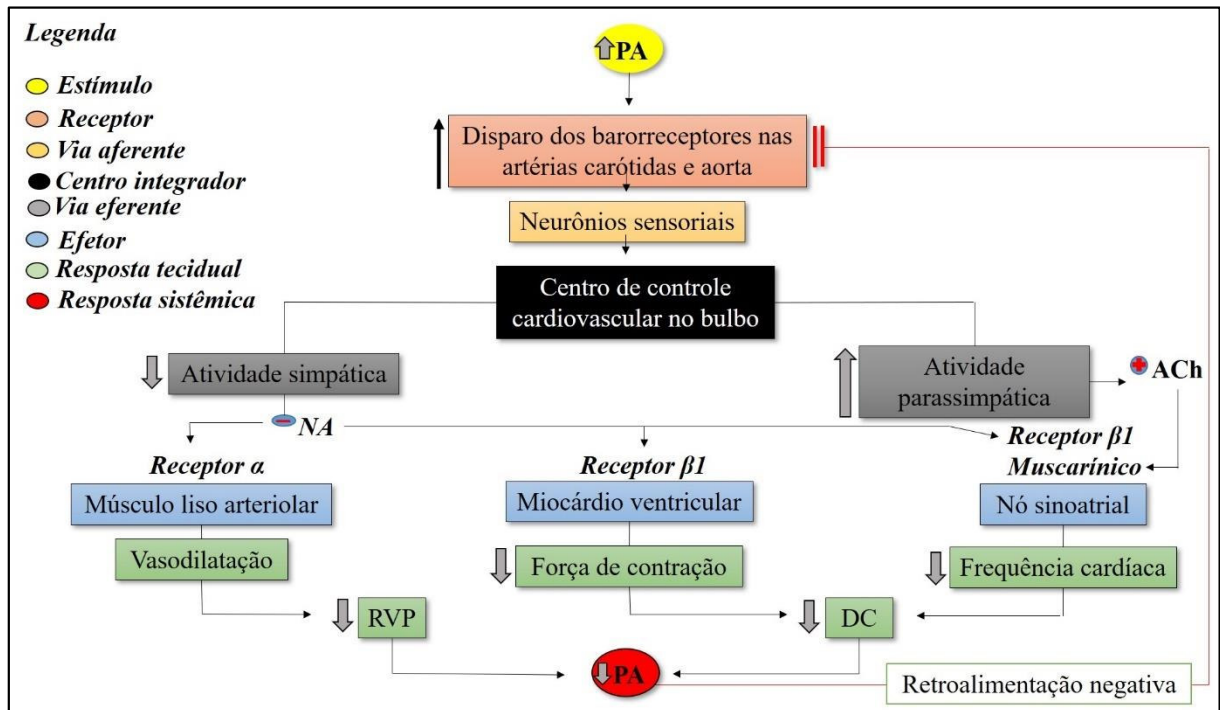
✓ **Mecanismo neural de controle da pressão arterial: ênfase no controle autonômico barorreflexo.**

As flutuações na pressão arterial ocorrem a cada ciclo cardíaco, e o sistema nervoso autônomo (SNA) é responsável pelo monitoramento e ajustes imediatos dessas oscilações hemodinâmicas (KRIEGER, 2013). O SNA é composto por projeções neurais aferentes, eferentes e centro integrador. O centro integrador fica localizado no bulbo, o qual recebe informações a respeito do nível pressórico através de via neurais sensoriais aferentes (quimiorreceptores e barorreceptores) e as processa, elaborando uma resposta efetora que irá culminar em modificações sistêmicas com o propósito de controlar as alterações percebidas nos níveis pressóricos (SILVERTHORN, 2017).

A resposta efetora do SNA ocorre através de modulações das projeções simpáticas e parassimpáticas desse sistema. O aumento da atividade simpática está associado a maior liberação de noradrenalina para o coração e vasos sanguíneos, o que leva aumento na frequência cardíaca, vasoconstrição e elevação da PA, enquanto que as projeções parassimpáticas estão voltadas principalmente para o coração, liberando acetilcolina, que ao interagirem com os receptores muscarínicos promoverão redução da frequência cardíaca e por consequência reduzirá o débito cardíaco e a PA (GUYTON, 2017; SILVERTHORN, 2017).

Os barorreceptores, também conhecidos como mecanorreceptores, estão localizados na parede dos seios carotídeos e no arco aórtico. O aumento da pressão sobre a parede desses vasos promove um aumento na deformação na membrana das terminações nervosas dos barorreceptores, que projeta essa informação ao centro de controle cardiovascular no bulbo (figura 2). As vias aferentes advindas dos barorreceptores se projetam para o núcleo do trato solitário (NTS), inibindo as vias neurais simpáticas, ocasionando uma interrupção na liberação de noradrenalina. Esta resposta reflexa é capaz de diminuir tanto o débito cardíaco quanto a resistência vascular periférica, diminuindo assim a PA (SILVERTHORN, 2017). A diminuição da sensibilidade barorreflexa leva a hiperatividade simpática e ao aumento sustentado dos níveis pressóricos (KRIEGER, 2013). Esta hiperatividade simpática estimula a

produção de renina pelos rins, enzima chave no controle da pressão arterial via sistema renina angiotensina aldosterona (GIESTAS et al., 2010).



Fonte: adaptado de Silverthorn, (2017); PA, pressão arterial; NA, noradrenalina; ACh, acetilcolina; RVP, resistência vascular periférica; DC, débito cardíaco.

Figura 2: Mecanismo barorreflexo de controle da pressão arterial.

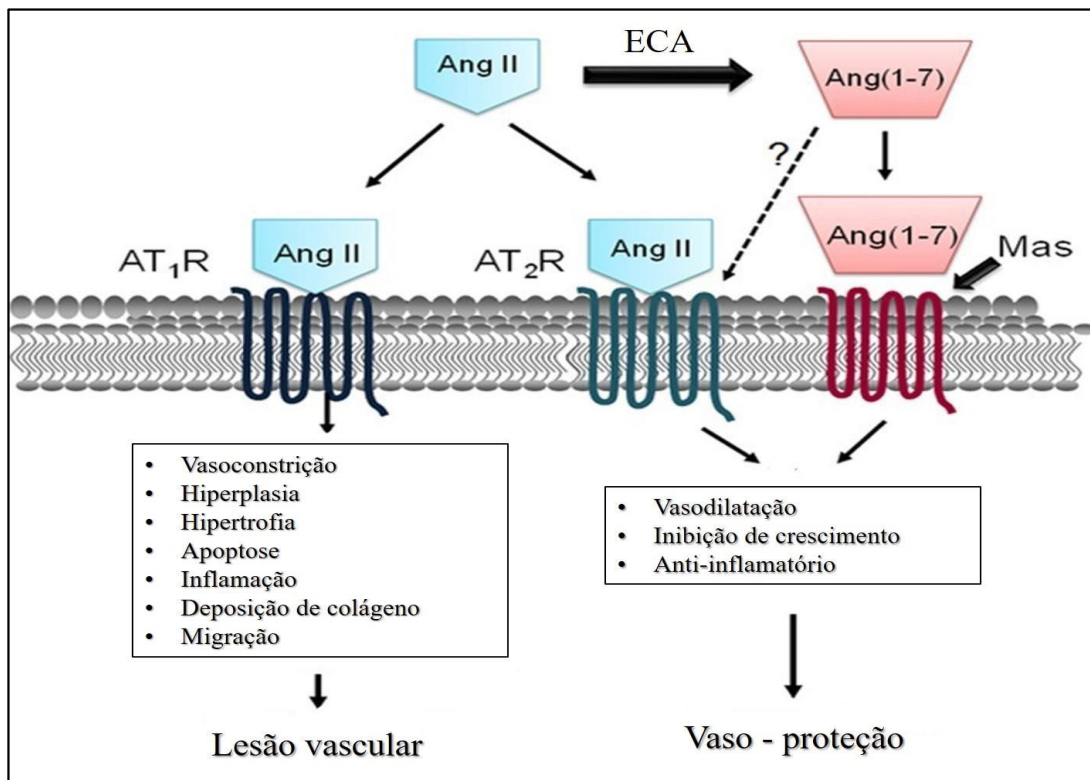
✓ **Mecanismo hormonal e natriurético de controle da pressão arterial: ênfase no sistema renina angiotensina aldosterona**

O sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA), é uma cascata de reações hormonais, responsável por controlar as alterações hidroeletrólíticas. Os principais elementos do SRAA são: renina, angiotensinogênio, angiotensina I, enzima conversora de angiotensina (ECA) e angiotensina II (Ang II) (CALZERRA et al., 2018; TOUYZ; MONTEZANO, 2018).

A renina é uma enzima sintetizada pelos rins em resposta a restrição de sódio, hiperatividade simpática, hipotensão arterial e hipoperfusão renal (ex. desidratação, hemorragia, diarreia). O aumento de citocinas pró-inflamatórias, glicocorticoides e estrogênios, estimulam a síntese de angiotensinogênio pelo fígado, o qual serve de substrato para renina. A renina cliva a porção N-terminal do angiotensinogênio para formar o decapeptídeo inativo, angiotensina I. A ECA é proveniente, principalmente do endotélio capilar dos pulmões, e é responsável por converter cerca de 60% da angiotensina I em angiotensina II, um octapeptídeo

(1-8) biologicamente ativo, sendo o restante de angiotensina II sintetizada a partir da ação de outras enzimas (quinase, catepsina G e outras proteases serinas) (GIESTAS et al., 2010).

A angiotensina II promove efeito vasoconstritor, que se deve a sua ligação a receptores de angiotensina do tipo 1 (AT₁R). Os AT₁R medeiam a maioria dos efeitos fisiológicos e patológicos atribuídos a angiotensina II, levando a vasoconstrição, inflamação, stress oxidativo, transcrição de fatores de crescimento responsáveis pela proliferação celular, e efeitos cardiovasculares (aterogenicidade, inotropismo cardíaco positivo, hipertrofia ventricular e aumento de arritmias) (GIESTAS et al., 2010; SILVA, 2016; TOUYZ; MONTEZANO, 2018). Contudo, existe um heptapeptídeo, a angiotensina (1-7) (Ang (1-7)), sintetizada pela ECA 2, com ações antagônicas a Ang II. A Ang (1-7) atua em receptores específicos (receptor Mas), exercendo função vaso-protetiva, cardioprotetora e anti-inflamatória, podendo diminuir a PA e os riscos para doenças cardiovasculares (TOUYZ; MONTEZANO, 2018). A Figura 3 abaixo, apresenta um resumo da ação da Ang II e Ang (1-7).



Fonte: Touz & Monteiro (2018); **ECA**, enzima conversora de angiotensina; **Ang II**, angiotensina II; **Ang (1-7)**, Angiotensina (1-7); **AT₁R**, receptor 1 de angiotensina II; **AT₂R**, receptor 2 de angiotensina II; **Mas**, receptor de angiotensina (1-7).

Figura 3: Representação da ação de angiotensina II e angiotensina (1-7).

A Ang II circulante regula a pressão arterial por duas maneiras, 1) realizando vasoconstrição das arteríolas e veias, 2) estimulando a retenção de líquido e sódio pelos rins. Sua atuação sobre a retenção hídrica e sódio ocorre por ação direta nas arteríolas renais, promovendo constrição das mesmas, o que diminui o fluxo sanguíneo para os rins, e consecutivamente reduz a pressão nos capilares peritubulares, provocando a rápida reabsorção de água e sódio pelos túbulos renais (GIESTAS et al., 2010; OPARIL et al., 2018; TOUYZ; MONTEZANO, 2018). A Ang II também é um potente estimulante da liberação de aldosterona pelas glândulas adrenais. A aldosterona promove absorção acentuada de água e sódio pelos túbulos renais, o que a longo prazo eleva a PA (OPARIL et al., 2018).

A hiperatividade do SRAA compõe uma das vias da fisiopatologia da hipertensão arterial sistêmica e de outros fatores de risco cardiovascular, como aterosclerose, disfunção endotelial, hipertrofia ventricular, podendo culminar em insuficiência cardíaca. Os mecanismos contrarreguladores desse sistema, parecem estar ligados a interação Ang (1-7) - Mas, bem como a mecanismos inibitórios da ECA e AT₁R (GIESTAS et al., 2010; OPARIL et al., 2018).

Como mencionado anteriormente, o SRAA é responsável também por promover modificações hidroeletrólíticas, relacionadas diretamente ao controle homeostático da osmolaridade plasmática de sódio. Esta propriedade natriurética do SRAA juntamente a síntese dos peptídeos natriuréticos atrial (ANP) e ventricular (BNP) pelo coração, compõem o mecanismo de controle hidroeletrólítico, capaz de modificar o volume plasmático por meio do aumento da excreção de sódio pelos rins (MARIN-GREZ et al., 1986; YOSHIBAYASHI et al., 1996)

O mecanismo de controle a longo prazo da PA, tem relação direta com a capacidade dos rins em eliminar sódio o suficiente para manter um volume plasmático favorável aos níveis normais de PA. Isso ocorre porque o aumento do volume plasmático está associado a concentrações aumentadas de sódio no plasma, o que eleva os níveis de PA. Este volume plasmático aumentado também promove aumento da pré - carga no átrio direito e ventrículo direito, induzindo a síntese de ANP e BNP (SARZANI et al., 2008).

Tanto o ANP quanto o BNP estão envolvidos diretamente no controle da PA. Ambos promovem ações sobre o SRAA, apresentando ações antagônicas à Ang II sobre o tônus vascular; inibem a secreção de renina e aldosterona, bem como a reabsorção de sódio no túbulo renal. Ainda nos rins, o ANP estimula a secreção de sódio, aumentando a taxa de filtração glomerular, reabsorção de água e sódio no túbulo proximal (CLERICO et al., 2006; SARZANI

et al., 2008). A nível central, no hipotálamo, o ANP suprime o apetite por sal e a liberação do hormônio antidiurético pela neuro-hipófise (SAMSON et al., 1987).

2.3 Modelo de hipertensão em experimentos com animais: foco no modelo de hipertensão espontânea (SHR)

A busca por um modelo de hipertensão em animais que melhor mimetize a hipertensão essencial no ser humano, é um passo importante para a melhor compreensão da fisiopatologia, bem como do desenvolvimento de terapias que auxiliem no controle nos níveis elevados de pressão arterial. A descoberta de Hering em 1927 de que a desnervação sino-aórtica aguda, em animais de experimentação, levava ao aumento da PA, proporcionou o surgimento e a defesa da hipótese de que a disfunção barorreflexa pudesse ser a causa da hipertensão essencial no homem (HERING, 1927). A partir desse trabalho, diversos pesquisadores no mundo começaram a propor outros modelos para estudar hipertensão em animais.

Dois aspectos merecem destaque nos modelos de hipertensão com experimentação animal, 1) modelos que levam em consideração a fisiopatogenia, elencando os mecanismos responsáveis pela elevação da PA; 2) modelos de hipertensão que não se preocupam com os mecanismos por trás da elevação da PA. Estes últimos parecem serem mais aceitos para estudos que envolvam reações adversas ou adaptativas ao estado hipertensivo, buscando elucidar principalmente as consequências da hipertensão, como por exemplo as lesões de órgãos alvos e disfunções vasculares (FAZAN JR et al., 2001).

Alguns modelos de hipertensão em animais, foram desenvolvidos a partir de uma intervenção que causasse o mal funcionamento ou prejuízo total de um mecanismo de controle da PA. Assim, surge os modelos neurogênicos e renovasculares que irão promover hipertensão por prejudicar a resposta aferente de barorreceptores, levando a hiperatividade simpática, e reduzir drasticamente o fluxo sanguíneo para os rins (GOLDBLATT et al., 1934; LUPU et al., 1972). Tanto o modelo neurogênico quanto o modelo renovascular, proporcionaram o desenvolvimento de estudos que ajudaram a elucidar a importância dessas vias para o controle da PA, bem como a buscarem terapias direcionadas a esses mecanismos que auxiliem no controle da hipertensão. Contudo, esses modelos não são capazes de mimetizar a hipertensão primária em humanos, uma vez que em humanos a causa da hipertensão é multifatorial, não dependendo da disfunção de apenas um mecanismo de controle (FAZAN JR et al., 2001).

Nesse contexto, surge um modelo de hipertensão genética em ratos desenvolvido por Okamoto e Aoki em 1963, conhecido como hipertensão espontânea (SHR). Esta cepa configura um dos modelos mais estudados na literatura pertinente, devido principalmente à similaridade da sua fisiopatogenia com a hipertensão essencial em humanos, embora a hipertensão em humanos não seja causada exclusivamente por fatores genéticos (OKAMOTO; AOKI, 1963). O modelo de hipertensão espontânea possibilita estudar diversas terapias com alvo tanto na regularização dos mecanismos de controle da PA, quanto nos órgãos alvos afetados nesse modelo. A hipertrofia cardíaca patogênica induzida pela hipertensão é uma característica encontrada nos SHR, por exemplo (THOMAS et al., 1997).

Dessa forma, os animais espontaneamente hipertensos, começam a desenvolver hipertensão a partir da quinta semana de vida, já apresentando valores pressóricos que caracterizam a hipertensão entre a 7^a e 15^a semanas, com níveis pressóricos altos estabilizados entre a 20^a e 28^a semanas (YAMORI, 2013). Neste modelo é possível observar aumento da resistência vascular periférica, hiperatividade simpática, hiperatividade do SRAA, bem como desbalanço de fatores natriuréticos, gerando lesão em órgãos alvos e disfunção vascular, o que torna este modelo uma das principais escolhas para estudo da hipertensão (FAZAN JR et al., 2001)

2.4 Carvacrol: abordagem química

A cerca de 3500 anos, os óleos essenciais são explorados, tendo suas propriedades aplicadas principalmente na indústria de cosmético e alimentícia (DE MATOS et al., 2019). Em geral, os óleos essenciais são constituídos por terpenos e seus derivados, e estes são derivados do metabolismo secundário de diversos organismos, principalmente os vegetais, em que eles são responsáveis pela produção do sabor e aroma de uma planta (CORREIA et al., 2008).

Quimicamente, os terpenos podem ser definidos como alcenos naturais, ou seja, constituídos por uma ligação dupla carbono-carbono, sendo o isopreno a menor unidade dos terpenos, constituído pela ligação de cinco carbonos (FELIPE; BICAS, 2017). Todos os outros terpenos conhecidos são oriundos da junção de cadeias de isopreno, em que a combinação de dois isoprenos dará origem aos monoterpenos (FELIPE; BICAS, 2017), conforme apresentado na Tabela 4 abaixo:

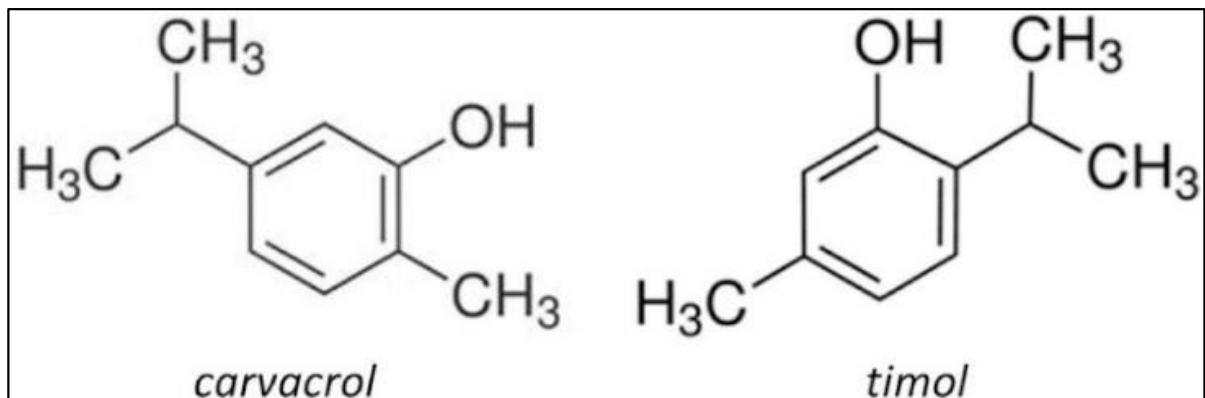
Tabela 4: Classificação dos terpenos baseada na quantidade de unidades de isopreno

Classificação	Bloco de isopreno	Quant. carbonos	Exemplo
Hemiterpenos	01	05	Isopreno (monômero empregado na fabricação de borracha), prenol (odor frutado e utilizado na fabricação de perfumes) e ácido isovalérico (aroma característico de “queijo velho/chulé”).
Monoterpenos	02	10	Limoneno (aroma característico de fruta cítrica) e α -terpineol (aroma característico floral/pinho).
Sesquiterpenos	03	15	Farneseno (“diesel da cana”), nootkatona (aroma característico de toranja) e bisabolol (essência de camomila).
Diterpenos	04	20	Esteviosídeo (produção de adoçante natural a base de stevia) e sclareol (proveniente da sálvia - <i>Salvia sclarea</i>)
Triterpenos	06	30	Esqualeno (encontrado no óleo de fígado de tubarão)
Tetraterpenos	08	40	Carotenoides como o β -caroteno (pigmento da cenoura) e a zeaxantina (pigmento predominante em vegetais amarelos).
Politerpenos	> 08	> 40	Látex (borracha natural)

Fonte: Adaptado de Felipe e Bicas, (2017).

O carvacrol (5-isopropil-2-metil-fenol) é um monoterpreno de peso molecular 150,21 g/mol; encontrado em diversas plantas aromáticas, sendo o principal componente dos óleos essenciais de orégano e tomilho. O gênero *Thymus* (tomilho), uma planta aromática e medicinal, inclui numerosas espécies com características botânicas diferentes e uma ampla heterogeneidade química. A denominação “orégano” é atribuída a um vasto número de espécies em mais de uma dúzia de gêneros em diferentes famílias (NHU-TRANG et al., 2006).

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais de tomilho estão relacionadas ao seu grande teor fenólico, sendo utilizado como um desinfetante oral em preparações farmacêuticas e agente flavorizante em produtos alimentícios (AHMED, 2014). Os principais constituintes de monoterprenos oxigenados são os compostos fenólicos timol e seu isômero, carvacrol (Figura 6) (KIMURA et al., 2006).



Fonte: Google imagens

Figura 4: Estrutura química dos isômeros carvacrol e timol.

As condições climáticas e de solo, época de colheita e quantidade de água a qual a planta é exposta, são fatores que determinam o conteúdo de carvacrol produzido por estas plantas (CHAMI et al., 2004). Aparentemente, estes fatores favorecem a formação de um isômero ou de outro. Borges et al. (2012), avaliaram o rendimento e a composição do óleo essencial de tomilho *Thymus vulgaris L.* cultivados na região de Curitiba – PR. O método de hidrodestilação em aparelho Clevenger foi utilizado para a extração do óleo essencial das partes aéreas da planta fresca nos tempos de 1, 2 e 3h. Um total de 33 compostos foram identificados e quantificados. Dentre estes, os majoritários foram timol, p-cimeno, carvacrol, γ terpineno, linalol e borneol. O melhor tempo de extração para o rendimento do óleo essencial foi de 3h.

2.4.1 Carvacrol: abordagem toxicológica

Ao carvacrol, já foram atribuídas uma variedade de propriedades biológicas, que vão desde as ações anti-inflamatórias (LIU et al., 2018), antimicrobianos (REIS et al., 2018), analgésicas (WANG et al., 2019), anticancerígenas (ARUNASREE, 2010; BARANAUSKAITE et al., 2017), antioxidantes (BELLÉS et al., 2019), até às ações sobre o sistema cardiovascular, promovendo relaxamento vascular, cardioproteção e redução da pressão arterial (AYDIN et al., 2007; EARLEY et al., 2010; DANTAS et al., 2015; CHEN et al., 2017), sendo sendo reconhecido como uma substância segura pela *Food and Drug Administration* (FDA) (VERA; CHANE-MING, 1999; THOMPSON et al., 2003; SANTOS et al., 2011).

Em relação a sua toxicidade, sabe-se que a dose letal para ratos, quando administrada via oral, é de 810 mg/kg de massa corporal (HAGAN et al., 1967), enquanto que a dose letal em camundongos, quando administrada via intraperitoneal ou intravenosa, é

estimada entre 73,3 a 80 mg/kg de massa corporal, com os animais experimentando diminuição da atividade motora espontânea e sonolência antes da morte (ANDERSEN, 2006). Em coelhos, a aplicação dérmica de 2700 mg/kg/dia de massa corporal é estimada como uma dose letal (MCOMIE et al., 1949), enquanto que em cachorros essa dose é de 0,31 g/kg/dia de massa corporal (ANDERSEN, 2006).

2.4.2 Uso do carvacrol no tratamento de desordens cardiovasculares

As desordens cardiovasculares são caracterizadas por perda de função e ineficiência de uma ou mais variáveis do sistema cardiovascular, que podem levar ao colapso desse sistema. Dentre essas, destacam-se as desordens que incidem sobre a homeostase vascular, hemodinâmica e cardíaca, levando desde a disfunção endotelial e aumento da tensão vascular, até a hipertensão arterial sistêmica, culminando em eventos como infarto agudo do miocárdio, hipertrofia cardíaca e insuficiência cardíaca (WILLIAMS et al., 2018). Nesse contexto, o carvacrol aparece como uma alternativa viável no combate a essas desordens.

Alguns estudos que se propuseram a investigar as propriedades cardiovasculares do carvacrol, evidenciando alguns de seus mecanismos de ação. Nos vasos sanguíneos, o carvacrol atua principalmente, bloqueando os canais de cálcio voltagem-dependente, reduzindo o influxo de cálcio para a célula, o que diminui a tensão vascular (DANTAS *et al.* 2015). A esta propriedade vasorrelaxante do carvacrol, atribui-se efeito hemodinâmico, uma vez que a redução da tensão vascular está associada a diminuição da resistência vascular periférica, o que diminui a pressão arterial.

Os primeiros resultados de redução da PA pela administração de carvacrol, foram apresentados por Aydin *et al.* (2007), em que foi verificado de maneira aguda que a aplicação de carvacrol, via intraperitoneal em animais normotensos, reduz a pressão arterial de maneira significativa. Eles ainda observaram um efeito anti-hipertensivo do carvacrol, ao conseguirem regularizar a pressão arterial de ratos tratados com 10 mg/kg/dia de L-NAME (inibidor da síntese de óxido nítrico). O mecanismo pelo qual o carvacrol promovia redução da PA, foi elucidado por Dantas *et al.* (2015), em que eles observaram uma bradicardia e redução dose-dependente da PA, após serem administradas na veia as doses de 1, 5, 10 e 20 mg/kg/dia de carvacrol. Este trabalho apontou apenas efeito hipotensor do carvacrol, sendo essa resposta atribuída principalmente ao relaxamento dos vasos sanguíneos através do bloqueio dos canais de cálcio dependente de voltagem, não explicando como o carvacrol promoveu bradicardia.

Em relação às suas propriedades cardioprotetoras, o carvacrol tem efeitos principalmente sobre a atenuação e/ou prevenção do remodelamento cardíaco, com redução de deposição de colágeno tipo I (ADAPALA et al., 2013) e diminuição do tamanho de cardiomiócitos (JAMHIRI et al., 2019), bem como proporciona prevenção ao infarto agudo do miocárdio, sendo demonstrado redução da área de infarto em animais tratados previamente com carvacrol (YU et al., 2013). As propriedades atribuídas ao carvacrol sobre o controle das desordens cardiovasculares estão apresentadas e discutidas no capítulo II deste manuscrito, o qual se refere a uma revisão dos mecanismos de ação do carvacrol sobre essas desordens.

Ainda é preciso mais estudos que se proponham a estudar essas propriedades cardiovasculares atribuídas ao carvacrol, principalmente utilizando modelos de hipertensão que melhor mimetize a hipertensão humana. Em estudos recentes do nosso grupo (DIAS, 2020), em que ratos espontaneamente hipertensos foram submetidos a quatro semanas de tratamento, via oral, com carvacrol (20 e 40 mg/kg/dia), conseguimos mostrar que o carvacrol também está envolvido com modulações sobre a expressão de receptores da Ang II e Ang (1-7), bem como melhora da sensibilidade barorreflexa espontânea, sendo os melhores resultados atribuídos a dose de 20 mg/kg. Contudo, não encontramos outros estudos na literatura com essa proposta, e ainda é desconhecido se o carvacrol pode, de maneira isolada ou associado a outras terapias anti-hipertensivas, diminuir a atividade de enzimas chaves do sistema renina angiotensina, regularizando a PA e reduzindo os riscos ao sistema cardiovascular.

2.5 Adaptações ao exercício físico aeróbio

2.5.1 Sistema cardiovascular: adaptações agudas ao exercício físico aeróbio

O exercício físico é caracterizado como um estresse capaz de levar agudamente a um desequilíbrio da homeostase, uma vez que, esse estímulo gera um aumento instantâneo do gasto energético, exigindo do organismo, como um todo, adaptações agudas que possam ajudar a suprir a demanda metabólica estabelecida (BRUM et al., 2004). Exemplificando, a contração muscular durante uma corrida, produz grandes quantidades de calor, impondo ao corpo o desafio de impedir um superaquecimento. Em adição, esse mesmo exercício aumenta de maneira significativa a necessidade de oxigênio e substratos energéticos para o músculo em atividade, bem como há aumentos substanciais na produção de CO₂. Essas alterações devem ser contrapostas com aumentos da respiração (ventilação pulmonar) e redirecionamento do débito cardíaco para a pele e músculo ativo (BRUM et al., 2004). Estes ajustes são classificados como adaptações agudas ao exercício físico.

Em suma, as alterações cardiovasculares agudas ao exercício aeróbio, tem o objetivo, principalmente, de aumentar o aporte de oxigênio e nutrientes para o músculo esquelético, bem como de reduzir as concentrações de CO₂ na circulação e a temperatura corporal. Para isso, é preciso haver ajustes que envolvam o sistema nervoso autônomo (SNA), através da modulação simpática nos vasos, permitindo uma redistribuição do fluxo sanguíneo para áreas metabolicamente mais ativas (LIMA et al., 2011; SANTOS; COSTA, 2020).

Os exercícios aeróbios são classificados como aqueles que estimulam predominantemente o metabolismo oxidativo, como por exemplo, a caminhada, corrida, natação, ciclismo entre outros. A regularidade na prática desses exercícios e a manipulação de suas variáveis (frequência, intensidade, duração e volume), caracteriza o treinamento físico aeróbio (CAPUTO et al., 2009), em que a manipulação dessas variáveis, pode otimizar a promoção de adaptações crônicas ao treinamento aeróbio. A frequência de treino é caracterizada pela quantidade de vezes semanal em que é realizado o treinamento; a intensidade está relacionada a exigência mediante a qual se realiza um exercício na unidade de tempo, podendo ser representado em percentuais, em tempo, entre outros; por exemplo, 85% da velocidade máxima de corrida ou do consumo máximo de oxigênio (VO_{2máx}); a duração, é o tempo que se leva para executar a sessão de treinamento; e o volume, é o número de exercício em um período de tempo, que pode ser diário, semanal, mensal ou anual, sendo expresso em número de quilômetros, de toneladas de peso, de horas de treino, do número de saltos, etc. (BARBANTI, 2017). Dentre essas variáveis, a manipulação da intensidade de treinamento parece ser um fator preponderante para a determinação das adaptações crônicas ao treinamento físico.

A intensidade de um exercício é estimada a partir do conhecimento a respeito do que seria um esforço máximo, como ocorre no teste progressivo máximo em esteira ou bicicleta ergométrica, que serve para avaliar a capacidade cardiorrespiratória, estimando (testes indiretos) ou determinando (ergoespirometria) o VO_{2máx} (BARBANTI, 2017). Neste exemplo a intensidade poderia ser determinada a partir de um percentual do VO_{2máx}; é importante ressaltar a importância de outras variáveis que possam auxiliar na determinação da intensidade de um exercício, a saber: frequência cardíaca máxima, velocidade máxima atingida em teste de esforço e limiar de lactato (RONDON et al., 1998; BRANCO et al., 2008; SANTHIAGO et al., 2008).

Alguns dos métodos de avaliação e prescrição do treinamento aeróbio supracitados, também são utilizados da mesma forma em delineamentos pré-clínicos utilizando modelo de experimentação com animais. Existem protocolos de avaliação do esforço máximo adaptados para ratos, utilizando-se o $VO_2Máx$ e velocidade máxima de corrida em esteira ergométrica, bem como a máxima fase estável de lactato, tanto em protocolos em esteira quanto em piscina (FREITAS et al., 2010; MENEZES et al., 2010; CAPALONGA, 2014; MOREIRA, 2017).

Estes são alguns exemplos de métodos de avaliação da capacidade máxima aeróbia e determinação da intensidade de um exercício aeróbio; a tabela 5 abaixo apresenta as classificações de intensidade com base em algumas dessas variáveis:

Tabela 5: Classificação de intensidade para exercícios aeróbios

Intensidade	VO₂ Máx.	FC Máx.	Vel Máx
Leve	30 - 49%	30 - 59%	< 40%
Moderado	50 - 74%	60 - 79%	40 – 75%
Vigoroso	≥ 75%	≥ 80%	≥ 75%

Fonte: adaptado de McArdle *et al.* (2016); **VO₂ Máx**, Consumo máximo de oxigênio; **FC Máx**, Frequência cardíaca máxima; **Vel Máx**, Velocidade máxima alcançada em teste de esforço.

O Colégio Americano de Medicina do Esporte (ACSM, 2014), sugere uma frequência mínima de três vezes por semana de exercícios aeróbios, acumulando o mínimo de 150 minutos de exercício em intensidade moderada ao longo da semana. Contudo, a “posologia” de exercícios aeróbios para hipertensos é de no mínimo 30 minutos por dia (todos os dias), em intensidade moderada (MALACHIAS; BARBOSA; et al., 2016; CARVALHO et al., 2020).

As recomendações supracitadas se justificam pelos benefícios oriundos da prática regular de exercícios físicos, que promovem melhora na qualidade do sono, aumento de desempenho cognitivo, preservação ou melhora das habilidades motoras, o que culminam em uma melhor qualidade de vida (MEDEIROS et al., 2017; ROPKE et al., 2018; BRAGA et al., 2019). Em relação às adaptações sobre o sistema cardiovascular, os benefícios do exercício aeróbio se estendem desde as adaptações morfológicas no coração e vasos sanguíneos, até às adaptações fisiológicas, que envolvem principalmente a manutenção da homeostase hemodinâmica (MCARDLE et al., 2016).

2.5.2 Sistema cardiovascular: adaptações crônicas ao treinamento físico aeróbio

As principais adaptações morfológicas que o treinamento aeróbio imprime sobre o sistema cardiovascular, estão voltadas para o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca (MORGANROTH et al., 1975; STEDING et al., 2010; HASHIMOTO et al., 2011; MELO, 2017). Uma das características do treinamento aeróbio é o aumento da pré-carga ao miocárdio, ou seja, aumento do volume sanguíneo ao coração, que estimula a adição em série de sarcômeros, resultando em aumento da câmara cardíaca (principalmente de ventrículo esquerdo), sem prejuízo de função, caracterizando uma hipertrofia excêntrica, sendo essa a principal diferença morfológica, entre a hipertrofia cardíaca fisiológica estimulada por treinamento físico e a hipertrofia cardíaca patológica estimulada pela hipertensão, em que esta última leva a uma redução do volume ventricular (HASHIMOTO et al., 2011).

Alguns estudos apresentam diferenças nas sinalizações moleculares entre esses tipos de hipertrofia cardíaca, associando a hipertrofia cardíaca patológica a alterações na expressão da miosina de cadeia pesada (β -MHC e α -MHC), adicionada ao aumento da expressão do gene da alfa-actina esquelética (α -actina esquelética) e do fator natriurético atrial (ANF) (IZUMO et al., 1988; CHIEN et al., 1991). Por outro lado, o treinamento físico aeróbio normaliza esses níveis gênicos em patologias, indicando que a hipertrofia mediada pelo treinamento apresenta um perfil molecular diferente do encontrado em doenças cardíacas (BARAUNA et al., 2008; GARCIARENA et al., 2009).

A nível vascular, o principal benefício do treinamento físico aeróbio é a melhora da função endotelial, que está relacionada com o aumento da atividade da enzima óxido nítrico-sintase, aumentando, conseqüentemente, a liberação de óxido nítrico. Este mecanismo pode ser induzido pelo estresse de cisalhamento, resultante do maior fluxo sanguíneo observado durante os exercícios aeróbios (PONTES JÚNIOR et al., 2010). O treinamento físico aeróbio também promove aumento da vascularização muscular (angiogênese) e remodelamento vascular. Estas adaptações têm o intuito de aumentar o aporte de sangue para a musculatura ativa, a fim de carrear mais nutrientes e oxigênio e retirar mais metabólitos do metabolismo energético, aumentando assim o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2Máx.}$) (MCARDLE et al., 2016).

As adaptações crônicas ao treinamento físico aeróbio sobre o sistema cardiovascular, acompanhadas pelas adaptações sobre o sistema nervoso autônomo, como a redução da hiperatividade simpática e aumento da atividade parassimpática, levam a um melhor controle das variáveis hemodinâmicas, como redução da frequência cardíaca de repouso e

submáxima, redução da resistência vascular periférica, o que resulta em melhor controle sobre a flutuação da pressão arterial, ajudando a diminuir o risco para doenças cardiovasculares (PONTES JÚNIOR et al., 2010; KRIEGER, 2013).

Sabe-se que o exercício físico promove redução da pressão arterial de maneira aguda, sendo esse fenômeno conhecido como hipotensão pós-exercício (HPE). Alguns estudos apontam que esta redução pressórica pode perdurar por até 20 horas, sendo mais pronunciada em indivíduos hipertensos descompensados (CARVALHO et al., 2015). Os mecanismos envolvidos na HPE, estão relacionados a combinação da redução da atividade simpática cardíaca e vascular, aumento da liberação de óxido nítrico, bem como da atividade parassimpática, refletindo em redução da resistência vascular periférica e débito cardíaco (PONTES JÚNIOR et al., 2010; DE BRITO et al., 2015; BOCALINI et al., 2017). Estes ajustes fazem do exercício físico uma ferramenta não farmacológica, que pode ser usada tanto na prevenção quanto no tratamento da hipertensão arterial sistêmica e outras comorbidades cardiovasculares.

No trabalho conduzido por Carvalho *et al.* (2015), foi observado reduções significativas na pressão arterial de idosas hipertensas submetidas a protocolos distintos de exercício aeróbio (ambos os protocolos tiveram a intensidade moderada e duraram 42 minutos). Bocalini *et al.* (2017), realizaram um estudo, a fim de tentar entender se as condições hemodinâmicas basais influenciariam na magnitude de redução da pressão arterial após uma sessão de exercício aeróbio (75% do $VO_{2Máx}$). Para tanto, eles estabeleceram três grupos, a) Normotenso, b) Hipertenso sem tratamento e c) Hipertenso tratado. As reduções mais pronunciadas de pressão arterial, ocorrerão no grupo de hipertensos não tratados, levando os autores concluir que a condição hemodinâmica basal é um fator determinante que influencia a magnitude da HPE.

As alterações agudas ao exercício físico e adaptações crônicas ao treinamento físico aeróbio, como discutido anteriormente, demonstram que o organismo responde de maneira sistêmica ao estímulo provocado pelo exercício físico, promovendo adaptações em todas as vias de controle da pressão arterial, bem como prevenção da hipertrofia cardíaca, comumente observada na hipertensão descompensada. O treinamento aeróbio também é capaz de modular as variáveis lipídicas associadas ao aumento do risco cardiovascular (KAZEMINASAB et al., 2017). Somando esses fatores às propriedades já conhecidas do carvacrol sobre as desordens

cardiovasculares, hipotetizamos que a terapia combinando treinamento aeróbio e carvedilol pode potencializar a redução do risco cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos.

1. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o efeito do treinamento físico aeróbio sobre a redução do risco cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos tratados com 20 mg/kg/dia de carvedilol.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar os efeitos da combinação exercício aeróbio – carvedilol sobre comportamento da pressão arterial e frequência cardíaca,
- ✓ Analisar os efeitos da combinação exercício aeróbio – carvedilol sobre a reatividade vascular,
- ✓ Investigar se a combinação exercício aeróbio – carvedilol é eficiente para a modulação de parâmetros lipídicos,
- ✓ Avaliar os efeitos da combinação exercício aeróbio – carvedilol sobre os índices de lesão e remodelamento cardíaco.

4. RESULTADOS

CAPÍTULO II

ARTIGO DE REVISÃO

REVISTA: Current Vascular Pharmacology

QUALIS CAPES: B1 na Medicina I

Fator de impacto: 2,62

Status: Submetido

Propriedades biológicas do carvedilol nas desordens cardiovasculares: uma revisão dos mecanismos de ação

Herikson Araujo Costa^{1, 2}, Vicenilma de Andrade Martins³, Rachel Melo Ribeiro^{1,3,5}, Carlos José Moraes Dias^{1,2}, Cristiano Teixeira Mostarda^{1,2,4} e Natalino Salgado Filho^{1,5}.

1 – Professor da Universidade Federal do Maranhão (UFMA);

2 – Laboratório de Adaptações Cardiovasculares ao Exercício (LACORE) – UFMA;

3 – Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia – UFMA,

4 – Departamento de Educação Física – UFMA;

5 – Departamento de Ciências Fisiológicas – UFMA.

Autor correspondente: Herikson Araujo Costa, Av. General Arthur Carvalho, S/N, Condomínio Gran Village Brasil 1, Bloco 11^a, Ap 203, Turu, São Luís – MA, Brasil. CEP: 65066-320; Contato: +5598988265465, e-mail: herikson.costa@ufma.br

RESUMO

Introdução: as desordens cardiovasculares (DCVs) são a principal causa de morbimortalidade no mundo. Portanto, é salutar a investigação de novas terapias para o controle e tratamento dessas desordens. Nesse contexto, o carvacrol surge como um fitoquímico de potencial terapêutico importante. **Objetivo:** discutir e descrever os principais mecanismos do carvacrol sobre as desordens cardiovasculares. **Método:** realizou-se uma busca de trabalhos originais no PubMed, Google acadêmico, Bireme e Scielo, associando a palavra carvacrol aos descritores: pressão arterial, hipertensão, hipotensão, vaso relaxamento, vascular, cardioproteção, ataque cardíaco, infarto do miocárdio e lesão isquêmica, sendo encontrados 74, e destes, 17 permaneceram para análise. **Resultado:** o principal mecanismo de controle de pressão arterial do carvacrol, é por meio do bloqueio dos canais de cálcio, promovendo vaso relaxamento e redução da pressão arterial. Alguns trabalhos mostraram que animais tratados com carvacrol obtiveram diminuição da área de infarto, menor deposição de colágeno, menores concentrações séricas de marcadores de lesão cardíaca, bem como diminuição da expressão de proteínas envolvidas nas vias de apoptose celular, evidenciando seu papel cardioprotetor. **Conclusão:** o carvacrol apresenta propriedades biológicas importantes para o tratamento de DCVs. Contudo, a maioria dos efeitos descritos são referentes ao tratamento por via intraperitoneal e intravenosa, sendo limitado os trabalhos que investigaram os efeitos do carvacrol pela via oral. É importante ressaltar também que os efeitos hipotensores e anti-hipertensivos, foram observados, na maioria dos estudos, em animais normotensos, demonstrando a necessidade de continuação dos trabalhos com modelos de hipertensão espontânea, o que mimetizaria melhor a hipertensão arterial sistêmica observada em humanos.

Palavras - chave: carvacrol, hipotensão, vaso relaxamento e cardioproteção.

ABSTRACT

Introduction: cardiovascular disorders (CVDs) are the main cause of morbidity and mortality worldwide. Therefore, it is beneficial to investigate new therapies for the control and treatment of these disorders. In this context, carvacrol appears as a phytochemical with important therapeutic potential. **Objective:** discuss and describe the main mechanisms of carvacrol on cardiovascular disorders. **Method:** a search for original articles was carried out on PubMed, Google Scholar, Bireme and Scielo, associating the word carvacrol to the descriptors: blood pressure, hypertension, hypotension, vessel relaxation, vascular, cardioprotection, heart attack, myocardial infarction and ischemic injury, found, 74 of these, 17 remained for analysis. **Results:** Carvacrol's main blood pressure control mechanism is by blocking calcium channels, promoting vessel relaxation and reducing blood pressure. Some studies have shown that animals treated with carvacrol obtained a decrease in the infarction area, less collagen deposition, lower serum concentrations of cardiac injury markers, as well as a decrease in the expression of proteins involved in the cellular apoptosis pathways, evidencing their cardioprotective role. **Conclusion:** carvacrol has important biological properties for the treatment of CVDs. However, most of the effects described are related to the treatment by intraperitoneal and intravenous routes, being limited the works that investigated the effects of carvacrol by oral route. It is also important to note that the hypotensive and antihypertensive effects were observed in most studies in normotensive animals, demonstrating the need for further work with spontaneous hypertension models, which would better mimic the systemic arterial hypertension observed in humans.

Keywords: carvacrol, hypotension, relaxation vessel and cardioprotection.

1. Introdução

As desordens cardiovasculares (DCVs) são as principais causas de morbidade e mortalidade no mundo¹, proporcionando um custo demasiado para a sociedade com o tratamento medicamentoso, internações clínicas e procedimentos cirúrgicos². Portanto, é salutar a descoberta de novas intervenções, principalmente as de carácter não medicamentoso, que possam ajudar no tratamento e prevenção dessas desordens.

Nesse contexto, aumenta o interesse pelo uso de fitoterápicos com propriedades biológicas que os tornam ferramentas potenciais para o tratamento das DCVs³⁻⁶. Assim, o carvacrol, que é um monoterpene (C₁₀H₁₄O) fenólico, originado do tomilho, orégano e manjerona, pertencente a uma classe de fenóis que apresentam uma unidade de dez carbonos e que estão presentes nos óleos essenciais de muitas plantas (*Origanum vulgare*, *Pepperwort*, *Bergamota selvagem*, *Satureja*, *Origanum marjorana*, *Nigella sativa* e *Tequila*)^{12,13}, surge como uma alternativa de estudos, uma vez que algumas propriedades e mecanismos de ação já foram descritos na literatura, a saber: ações anti-inflamatórias⁷, antimicrobianos⁴, analgésicas⁶, anticancerígenas^{8,9}, antioxidantes¹⁰, vasorrelaxantes, hipotensora, anti-hipertensiva e cardioprotetoras^{3,11}.

Em relação às propriedades do carvacrol sobre o sistema cardiovascular, pode-se observar que o principal mecanismo de ação é através do bloqueio dos canais de cálcio, acarretando um relaxamento do vaso e reduzindo a pressão arterial^{14,15}. Esse mecanismo pode conferir cardioproteção, uma vez que o controle da hipertensão pode diminuir as chances de ocorrer remodelamento cardíaco³. Contudo, existem poucos trabalhos originais que se propuseram a investigar o efeito do carvacrol, enquanto composto isolado, bem como, é escasso na literatura trabalhos de revisão que descrevam os mecanismos por trás dos efeitos desse composto relacionados às respostas cardiovasculares. Portanto, o principal objetivo desse trabalho foi discutir e descrever os principais mecanismos que expliquem os efeitos do carvacrol sobre as desordens cardiovasculares.

2. Método

Este trabalho é uma revisão narrativa dos efeitos do carvacrol sobre as desordens cardiovasculares, destacando-se hipertensão e desordens isquêmicas cardíacas. Para a busca dos artigos analisados, a palavra carvacrol foi empregada junto aos seguintes descritores: pressão arterial, hipertensão, hipotensão, vaso relaxamento, vascular, cardioproteção, ataque cardíaco,

infarto do miocárdio e lesão isquêmica, utilizando como base de dados o PubMed, Google acadêmico, Scielo e Bireme, sendo incluídos todos os artigos originais, *In Vivo* e *In Vitro*, na língua inglesa. Foram utilizados os critérios de exclusão listados abaixo:

- Trabalhos de revisão;
- Trabalhos que não abordaram no abstract o efeito do carvacrol sobre as variáveis representadas pelos outros descritores;
- Trabalhos que utilizaram o extrato de plantas ao invés do composto isolado, carvacrol.

Dessa forma, dos 74 artigos encontrados na busca, 65 foram trabalhos originais e 09 foram artigos de revisão (Figura 1). Ao final, após aplicar os outros critérios de exclusão, 17 trabalhos foram incluídos para análise.

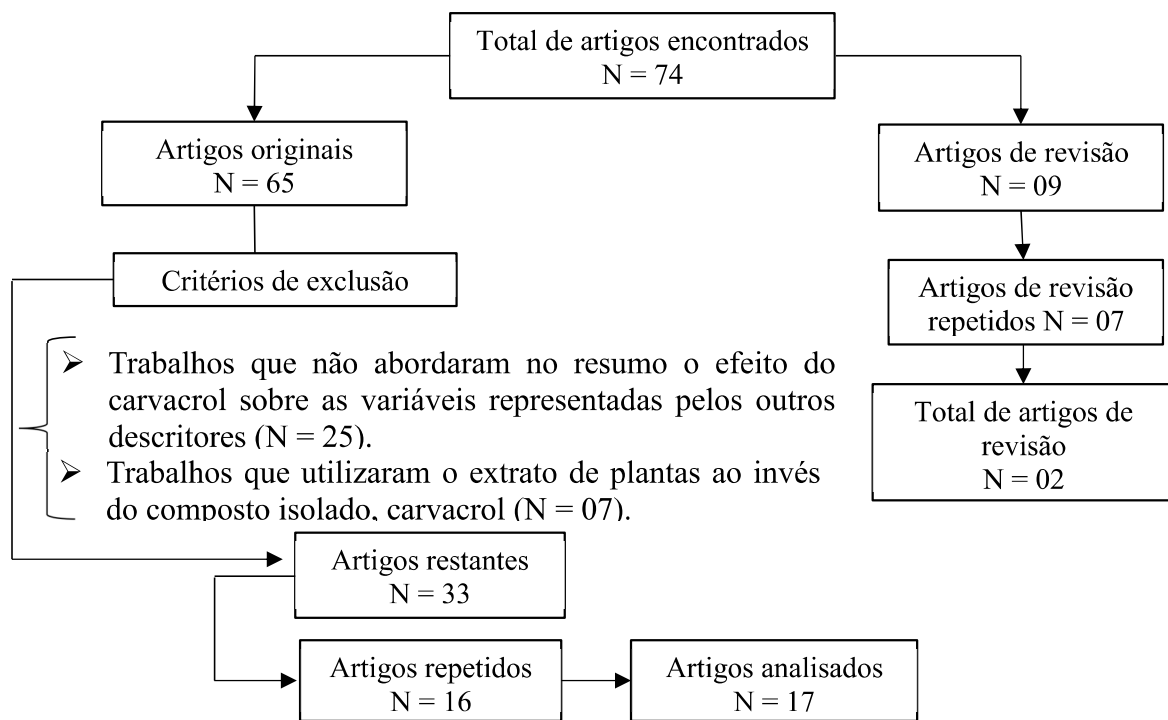


Figura 1: Esquema representativo da busca de artigos

Segue abaixo a tabela 1, que demonstra, em resumo, os efeitos do carvacrol sobre a pressão arterial, evidenciando a dose de carvacrol utilizada nos estudos; sua via de administração; a espécie animal estudada; o delineamento dos trabalhos; os principais resultados e suas citações.

Tabela 1: Efeitos do carvacrol sobre a pressão arterial

Dose (via de administração)	Espécie animal	Delineamento	Resultados	Autor
1, 10, 20, 50, 100 e 500 µg/kg. (i.p)	Ratos (Sprague-Dawley)	Estudo <i>In Vivo</i> , com avaliação do efeito anti-hipertensivo em hipertensão induzida por L-NAME. Verificação do efeito hipotensor por medida de pressão direta.	↓PA (100 µg/kg) tanto no grupo controle quanto no grupo que foi induzido hipertensão por L-NAME.	Aydin <i>et al.</i> (2007) ¹⁵
1, 5, 10 e 20 mg/kg. (i.v)	Ratos (Wistar)	Estudo <i>In Vivo</i> , com verificação do efeito hipotensor por medida de pressão direta.	↓PA e ↓FC (-6±3; -35±5; -57±7; -84±4 mmHg e -8±3; -87±33; -240±35; -303±21 bpm), respectivamente.	Dantas <i>et al.</i> (2015) ¹⁴
25, 50 e 100 mg/kg. (Intravenosa); 100 mg/kg. (i.p)	Camundongos (C57B1/6)	Estudo <i>In Vivo</i> , com verificação do efeito hipotensor por medida de pressão direta.	↓PA apenas para administração via venosa. – PA para a dose administrada via intraperitoneal.	Feketa <i>et al.</i> (2015) ¹⁶
50 mg/kg (oral)	Ratos (SHR)	Estudo <i>In Vivo</i> , investigação do efeito crônico do carvacrol (encapsulado com β-ciclodextrina) sobre parâmetros hemodinâmicos.	↓ PAS e PAD após 15 dias de tratamento, com efeito mais pronunciado no grupo tratado com o complexo β-ciclodextrina – carvacrol.	Barreto <i>et al.</i> (2020) ¹⁷
20 mg/kg (oral)	Ratos (SHR)	Ensaio <i>In Vivo</i> : análise de quatro semanas de tratamento com carvacrol e exercício físico aeróbio sobre parâmetros hemodinâmicos.	↓ PAS e PAD após quatro semanas de tratamento, com efeito mais pronunciado no grupo ExerCarv.	Costa <i>et al.</i> (2021) ¹⁸

–, sem efeito; ↓, redução; ↑, aumento; **i.p.**, intraperitoneal; **i.v.**, intravenoso; **PA**, pressão arterial; **PAS**, pressão arterial sistólica; **PAD**, pressão arterial diastólica; **FC**, frequência cardíaca; **L-NAME**, inibidor da enzima óxido nítrico sintase; **ExerCarv**, grupo tratado com exercício e carvacrol.

Como demonstrado na Tabela 1, ainda são poucos os trabalhos que abordam os efeitos hemodinâmicos do carvacrol; alguns estudos mostram tanto efeitos anti-hipertensivos quanto efeitos hipotensores¹⁴⁻¹⁶. Para tanto, com exceção dos trabalhos de Barreto *et al.* (2020)¹⁷ e Costa *et al.* (2021)¹⁸, os outros estudos foram conduzidos utilizando animais normotensos, todavia, a ausência de um modelo de hipertensão arterial sistêmica limita as investigações sobre os efeitos anti-hipertensivos.

O primeiro trabalho a demonstrar um efeito do carvacrol sobre a pressão arterial, foi um estudo conduzido por Aydin *et al.* (2007)¹⁵, no qual eles se utilizaram de ratos normotensos (Wistar), dividindo-os em cinco grupos, a saber: grupo 1, *sham*, grupo 2, controle (tratado com DMSO), grupo 3, tratado com 10 mg/kg de L-NAME (inibidor da síntese de óxido nítrico), grupo 4, tratado com carvacrol e grupo 5, tratado com L-NAME mais carvacrol. Foram administradas diversas doses de carvacrol (1, 10, 20 50, 100 e 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$) via intraperitoneal, observando efeito hipotensor e anti-hipertensivo somente na dosagem de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$; a dosagem de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ foi descrita como tóxica aos animais. Neste experimento foi demonstrado uma redução imediata da pressão arterial média (PAM) e pressão arterial sistólica (PAS) tanto no grupo controle (redução abaixo dos valores normais), quanto no grupo que teve hipertensão induzida por L-NAME (retorno aos valores basais da PAS após cinco minutos da administração de carvacrol), caracterizando assim, os efeitos hipotensor e anti-hipertensivo do carvacrol.

Na pesquisa realizada por Dantas e *et al.* (2015)¹⁴, foi observada uma bradicardia e redução dose-dependente da pressão arterial (PA), após serem administradas na veia as doses de 1, 5, 10 e 20 mg/kg de carvacrol. Este trabalho apontou apenas efeito hipotensor do carvacrol, sendo essa resposta atribuída principalmente ao relaxamento dos vasos sanguíneos através do bloqueio dos canais de cálcio dependente de voltagem, não explicando como o carvacrol promoveu bradicardia.

Já no estudo de Feketa *et al.* (2015)¹⁶, foi testada a hipótese de que o carvacrol poderia promover hipotermia, entretanto, a fim de avaliar a toxicidade desse composto eles conseguiram observar efeitos sobre a pressão arterial em camundongos C57Bl/6. Para tanto eles administraram carvacrol na dosagem de 100 mg/kg via intraperitoneal e 25, 50 e 100 mg/kg via intravenosa. Os autores não observaram efeitos sobre a PA quando a via de administração do carvacrol foi intraperitoneal, contudo, quando administrado via intravenosa, pode-se observar uma redução dose-dependente (-26 ± 4 , -36 ± 4 e -58 ± 5 mmHg, respectivamente). Vale enfatizar que todos os trabalhos supracitados utilizaram medida direta da PA, via cateter, aumentando a confiabilidade dos resultados discutidos.

Barreto *et al.* (2020)¹⁷, foram os primeiros pesquisadores a proporem um delineamento utilizando um modelo com ratos espontaneamente hipertensos (SHR), visando avaliar os efeitos de 21 dias de tratamento com carvacrol (via oral) sobre a pressão arterial. Eles comparam o efeito anti-hipertensivo do carvacrol livre com formulações de carvacrol associado

a β - ciclodextrina (CARV/ β -CD), e observaram reduções na pressão arterial, em ambos os grupos, após o 15º dia de tratamento, sendo os efeitos mais pronunciados no grupo CARV/ β -CD. Estes autores também apontaram reduções significativas na tensão vascular e evidenciaram uma propriedade anti-inflamatória do carvacrol, ao observarem redução de IL-1 β e aumento de IL-10. Já no estudo de Costa *et al.* (2021)¹⁸, os animais espontaneamente hipertensos tratados com 20 mg/kg de carvacrol por via oral, tiveram seus níveis pressóricos regularizados após quatro semanas, assemelhando-se ao grupo normotenso e grupo tratado com anlodipina (20 mg/kg), anti-hipertensivo usado como controle positivo do carvacrol.

Alguns trabalhos citados anteriormente atribuíram o vasorrelaxamento, como o principal mecanismo que justifica o efeito hipotensor e anti-hipertensivo do carvacrol. Entretanto, já se sabe de outros mecanismos a nível vascular atribuídos ao carvacrol. Um resumo destes estudos está apresentado na Tabela 2 abaixo:

Tabela 2: Efeitos do carvacrol sobre a musculatura lisa vascular

Dose (via de administração)	Espécie animal	Delineamento	Resultados	Autor
10 ⁻⁴ M	Ratos (Sprague-Dawley)	Estudo <i>In Vitro</i> da reatividade vascular frente a exposição de anéis da aorta a diferentes doses de KCl, Phe e CaCl ₂ .	– Efeito vascular; descarte do envolvimento dos α -adrenoreceptores no mecanismo hipotensor descrito para o carvacrol, exclusão da participação dos canais de cálcio tipo L na MLV.	Aydin <i>et al.</i> (2007) ¹⁵
10 ⁻³ M	Ratos (Wistar)	Estudo <i>In Vitro</i> da reatividade vascular frente a concentrações de KCl; Phe e Ca ²⁺ após 5 minutos de exposição ao carvacrol.	Inibição da contração dos anéis aórticos induzida por KCl. ↓ magnitude da contração em 68%.	Peixoto <i>et al.</i> (2010) ¹⁹
100 μ mol/L	Ratos (Wistar)	Ensaio <i>In Vitro</i> . Investigação da via das vias responsáveis por hipercontração de anéis de aorta.	↓ contração isométrica em 50 % e ↑ contração isométrica em 50% na ausência de carvacrol.	Shabir <i>et al.</i> (2014) ²⁰
10 ⁻⁸ e 3x10 ⁻⁴ M	Ratos (Wistar)	Ensaio <i>In Vitro</i> . Investigação do relaxamento de anéis de artéria	↑ vasorelaxamento; – vasorelaxamento na presença de KCl; os canais de potássio não	Dantas <i>et al.</i> (2015) ¹⁴

		mesentérica frente ao estresse com carvacrol, Phe, KCl, Bay K 8644 e U46619.	interferem no vasorelaxamento induzido pelo carvacrol; ↓ concentração-dependente das contrações induzidas por Bay K 8644 (200 nM).	
(0,03 – 3µM)	Ratos (Sprague-Dawley)	Ensaio <i>In Vitro</i> – cultura de células (artéria aorta).	↓ migração e proliferação das células musculares lisas; ↓ ERO e inibição da via MAPK.	Lee <i>et al.</i> (2015) ²¹
(25 e 50 µM)	Homo Sapiens	Ensaio <i>In Vitro</i> – cultura de células (medula óssea).	↑ sobrevivência e migração celular; ↑ neovascularização; ↑ FvW e VE-caderina.	Matluobi <i>et al.</i> (2018) ²²
10 e 20 mg/kg (i.p)	Camundongos (C57BL/6J)	Efeito do carvacrol sobre a massa corporal e glicose sérica; e investigação sobre as vias de remodelamento da MLV.	↓ adelgaçamento e hipercontratibilidade da aorta; ↓ MLV; ↓ glicose sérica; ↑ da atividade da via P13K/Akt; ausência de diferenças entre as doses de 10 e 20 mg/kg de carvacrol.	Liu <i>et al.</i> (2020) ²³
05 e 10 mg/kg (oral)	Camundongos (C57BL/KsJ db/db)	Investigação do efeito protetor do carvacrol contra inflamação endotelial em camundongos diabéticos.	↓ lesão endotelial; ↓ insulina; ↓ p-InsR e p-IRS-1; ↓ NFκB, IL-1β, IL-18, IL-6 e TNF-α; ↓ fibrose vascular.	Zhao <i>et al.</i> (2020) ²⁴
20 mg/kg (oral)	Ratos (SHR)	Ensaio <i>In Vitro</i> : reatividade da artéria mesentérica a concentrações cumulativas de Ca ²⁺ e NOR.	↓ Tensão vascular; sugere efeito inibitório do carvacrol tanto β-adrenérgico quanto bloqueio de canais de Ca ²⁺ .	Costa <i>et al.</i> (2021) ¹⁸

–, sem efeito; ↓, redução; ↑, aumento; **i.p.**, intraperitoneal; **i.v.**, intravenoso; **PA**, pressão arterial; **PAS**, pressão arterial sistólica; **PAD**, pressão arterial diastólica; **FC**, frequência cardíaca; **L-NAME**, inibidor da enzima óxido nítrico sintase; **KCl**, cloreto de potássio; **MAPK**, proteína quinase ativada por mitogênio; **EROS**, espécies reativas de oxigênio; **IL-1β**, interleucina - 1β; **IL-10**, interleucina -10; **IL-18**, interleucina - 18; **IL-6**, interleucina - 6; **TNF-α**, fator de necrose tumoral-α; **p-InsR**, receptor de insulina fosforilado; **p-IRS-1**, substrato do receptor de insulina - 1; **NF-kB**, fator de transcrição nuclear-κB; **Ca²⁺**, cálcio; **NOR**, noradrenalina.

A patofisiologia da hipertensão e complicações cardiovasculares tem envolvimento de alterações no sistema nervoso autonômico simpático e aumento da resistência vascular periférica (RVP)²⁵. A norepinefrina exerce ação vasoconstrictora mediante regulação das concentrações intracelulares de cálcio. Esse agente vasoconstrictor medeia uma resposta

contrátil na musculatura lisa vascular (MLV), via ativação de receptores α 1-adrenérgicos acoplados a proteínas G. Essa ativação induz a formação de segundos mensageiros como o inositol trifosfato (IP3), que corrobora para o aumento das concentrações de cálcio intracelular na VSM^{26,27}. A manutenção da vasoconstrição depende do influxo de cálcio do espaço extracelular por canais de cálcio dependente de voltagem (CAVs) ou operados por receptores ROCCS. Contudo, agentes contráteis como o cloreto de potássio (KCl), produzem aumento significativo do cálcio intracelular por ativação de CAVs²⁸. Nesse contexto, vem sendo estudado as propriedades do carvacrol sobre a modulação da resposta contrátil na MLV.

A Tabela 2 acima, traz alguns estudos que se propuseram a estudar alguns desses mecanismos. Aydin *et al.* (2007)¹⁵, verificaram o efeito do carvacrol (10^{-4} M) em anéis de aorta isolada de ratos Sprague-Dawley, adultos, frente a diferentes ferramentas farmacológicas contráteis, a dizer o KCl, fenilefrina (Phe), um agonista α 1-adrenérgico e cloreto de cálcio (CaCl_2). A curva concentração-resposta para Phe nesse estudo mostrou hipercontração na presença de carvacrol (10^{-4} M). Em contrapartida, o carvacrol não interferiu nas concentrações induzidas por KCl e CaCl_2 . Dessa forma, os autores descartam que o carvacrol exerça modulação vascular por bloqueio de receptores adrenérgicos ou envolvimento de CAVs.

Por outro lado, Peixoto *et al.* (2010)¹⁹, avaliaram os efeitos do carvacrol (10^{-3} M) em anéis de aorta isolada de ratos Wistar, mostrando primeiramente que o carvacrol produziu contração aórtica não significativa no tônus basal em repouso. Adicionalmente, os autores mostraram que a pré-exposição dos anéis de aorta, com endotélio intacto ao carvacrol (10^{-3} M) durante cinco minutos, promove inibição da contração induzida por KCl (60mM) de maneira dependente de concentração. Essa resposta vasorrelaxante também foi verificada na contração induzida por Phe, em condições sem cálcio com endotélio intacto.

Peixoto *et al.* (2010)¹⁹, por meio de curvas concentração-resposta para o cálcio em artéria aorta despolarizada por KCl, demonstraram que o carvacrol (10^{-3} M) também reduziu a magnitude da contração em 68%. Corroborando com estes resultados, a pesquisa realizada por Costa *et al.* (2021)¹⁸, apresentou reduções significativas na tensão vascular de ratos espontaneamente hipertensos tratados (via oral) previamente por quatro semanas com carvacrol (20 mg/kg). Nessa oportunidade, os autores expuseram anéis de artéria mesentérica a curvas concentração-resposta para o cálcio e para noradrenalina, sugerindo efeito inibitório dos canais de cálcio e receptores β -adrenérgicos.

Em outra série experimental conduzida por Peixoto et al, (2010)¹⁹, os anéis de aorta contraída por ativador de proteína quinase C (PKC) e dibutirato de forbol (PDB) (1 μ M); o carvacrol (10⁻³M) promoveu redução de 53% da resposta máxima da curva controle. Em conjunto, os resultados sugerem que o carvacrol atua na via de sinalização para o cálcio, mais especificamente na PKC. Desta forma, os autores mostraram que o carvacrol (10⁻³M) é vasorelaxante, ou por deprimir o influxo de cálcio ou por interferir na liberação de cálcio via inositol trifosfato (IP₃) no retículo.

Posteriormente o carvacrol foi avaliado na modulação da vasoconstricção induzida por chumbo (PbII) em artéria aorta de ratos²⁰. Neste estudo, os autores mostraram que o carvacrol (100 μ mol/L) promove redução em 50% e 42% da contração isométrica Phe-induzida na ausência ou presença de PbII 1 μ mol, respectivamente. Na ausência de carvacrol, evidenciou-se que a magnitude da resposta contrátil ao PbII aumentou 50%. Devido o chumbo promover ativação das espécies reativas de oxigênio e inibição da síntese de NO, os autores sugerem o efeito do carvacrol sobre a hipercontração chumbo-induzida em aorta de ratos, no qual envolve a síntese de NO e inibição das espécies reativas de oxigênio.

O carvacrol também tem sido discutido como agonista e antagonistas de diferentes receptores da superfamília de receptores TRP (receptores de potencial transitório), bem como de canais de cálcio dependente de voltagem (CAVs). Para verificar o envolvimento do carvacrol nesses canais, Dantas *et al.* (2015)¹⁴, avaliaram o carvacrol em artéria mesentérica de ratos pré-contráidas com Phe (10 μ M). O carvacrol (10⁻⁸ e 3x10⁻⁴M) induziu vasorrelaxamento em anéis de artéria mesentérica com e sem endotélio funcional. Na presença de U46619 (10 μ M), um análogo sintético de prostaglandina PGH₂ e agonista do receptor de tromboxano A₂, ou na presença de KCl (80 mM), o carvacrol não modificou o padrão vasorrelaxante. Foi observado que este mecanismo envolvia a participação de canais de potássio. Para tanto, utilizaram preparações de artéria mesentérica pré-contráidas com KCl (20 mM) ou TEA (1 mM), cujo resultados mostram que a inibição de canais de potássio não interfere no vasorrelaxamento induzido pelo carvacrol. Em continuidade, a fim de descartar a participação dos canais de potássio ativados por cálcio de alta condutância (BKCa), verificou-se o efeito relaxante do carvacrol na presença de iberiotoxina, cujo resultados excluem a participação desses canais.

Outros mecanismos relacionados a contração da MLV, foram investigados por esses pesquisadores¹⁴. As curvas concentração-resposta para o cálcio foram deslocadas para a

direita e tiveram sua resposta máxima reduzida em $49,1 \pm 7,86\%$ e $26,38 \pm 7,63\%$, para carvacrol 10^{-4} M e carvacrol 3×10^{-4} M, respectivamente. O carvacrol reduziu de maneira concentração - dependente as contrações induzidas por Bay K 8644 (200 nM), sugerindo envolvimento de CAVs. Estes autores ainda observaram que em artérias despolarizadas por KCl 60 mM, frente à nifedipina, um bloqueador de CAVs, e/ou ácido ciclopiazônico, um inibidor das reservas de Ca^{2+} -ATPase (SERCA), apresentando uma redução da contração induzida pelo CaCl_2 . Neste mesmo estudo ainda foi possível observar uma resposta do carvacrol relacionada ao influxo de cálcio por inibição de SOCs (canais de cálcio operados por estoque) e envolvimento do TRPM7 (Receptor de potencial transitório, subfamília M, membro 7), um componente funcional dos SOCs.

Posteriormente Lee *et al.* (2015)²¹, baseado na propriedade do carvacrol sobre o estresse oxidativo, verificaram a capacidade do monoterpene em afetar a migração e proliferação de células da MLV de aorta de ratos. Nesse mesmo estudo avaliaram o efeito do carvacrol (0,03 – 3 μ M) na neoformação da camada íntima de carótida de ratos após lesão induzida. Os resultados em conjunto sugerem um potencial efeito inibidor na migração e proliferação de células da MLV, provavelmente por regulação da via MAPK.

Também está sendo atribuído ao carvacrol um potencial angiogênico²², contudo, essa resposta vem sendo verificada em células-tronco mesenquimais humanas através de estudos *In Vitro*, demonstrando que baixas doses de carvacrol (25 a 200 μ M) são capazes de aumentar a sobrevivência das células estaminais mesenquimais e sua taxa de migração. Esses autores revelaram que o carvacrol induz neovascularização, pela detecção da expressão aumentada do fator de transcrição endotelial vascular (VEGF) e do fator de Von Willebrand (FvW), glicoproteína importante na regulação da homeostase vascular, estando envolvida em vias de inflamação.

O carvacrol também apresenta propriedades cardioprotetoras. A Tabela 3 traz um resumo dos artigos que se propuseram a investigar essas propriedades.

Tabela 3: Efeitos do carvedilol sobre as desordens isquêmicas

Dose (via de administração)	Espécie animal	Delineamento	Resultados	Autor
Não informado	Ratos (Sprague-Dawley)	Estudo <i>In Vitro</i> - Cultura de célula: indução de diferenciação de fibroblastos cardíacos por TGF- β 1.	- Diferenciação fibroblástica induzida por TGF- β 1. Correlação positiva da rigidez da MEC com a diferenciação fibroblástica.	Adapala <i>et al.</i> (2013) ²⁹
25, 50 e 100 mg/kg (i.p)	Ratos (Wistar)	Estudo <i>In Vivo</i> : Infarto induzido por ligadura da artéria coronariana descendente anterior esquerda.	↓Área de infarto (37,64%, 26,76% e 23,99%), respectivamente. ↓CK, CK-MB, cTnT e LDH. ↓MDA, SOD, GSH e GSH-PX. ↓caspases-3 e Bax e ↑Bcl-2.	Yu, Liu e Zhu (2013) ³⁰
25, 50 e 100 mg/kg (i.p)	Ratos (Wistar)	Estudo <i>In Vivo</i> e <i>In Vitro</i> : Cultura de cardiomiócitos. Infarto induzido por ligadura da artéria coronariana descendente anterior esquerda.	Maior recuperação da elevação do seguimento ST no ECG no grupo tratado; ↓área de infarto (50 e 100 mg/kg); ↑SOD, ↑CAT e ↓MDA; ↑p-ERK.	Chen <i>et al.</i> (2017) ³
25, 50 e 75 mg/kg (não informado)	Ratos (Wistar)	Ensaio <i>In Vivo</i> : Modelo de hipertensão induzida por angiotensina II; Ensaio <i>In Vitro</i> : hipertrofia cardíaca induzida por sobrecarga.	↓PA, FC e fibrose cardíaca; ↓ ANP mRNA; ↓ tamanho celular; ↓ MDA e ↑ DPPH	Jamhiri <i>et al.</i> (2019) ³¹
10, 30, 100, 300 e 1000 μ M	Humanos e Coelhos (Nova Zelândia)	Ensaio <i>In Vitro</i> . Estudo eletrocardiográfico de tecido cardíaco isolado utilizando o sistema de perfusão de Langerdorff.	↑ intervalo QRS; bloqueio AV; ↓ amplitude da onda T e velocidade de condução no miocárdio ventricular	Almanaityte <i>et al.</i> (2020) ³²
20 mg/kg (oral)	Ratos (SHR)	Análise qualitativa histopatológica de tecido cardíaco.	Preservação da forma e do tamanho do tecido perivascular e dos cardiomiócitos.	Costa <i>et al.</i> (2021) ¹⁸

–, sem efeito; ↓, redução; ↑, aumento; **i.p.**, intraperitoneal; **i.v.**, intravenoso; **PA**, pressão arterial; **FC**, frequência cardíaca; **CK**, creatina quinase; **CK-MB**, creatina quinase – isoforma cardíaca; **cTnT**, troponina cardíaca; **LDH**, lactato desidrogenase; **MDA**, malondialdeído; **SOD**, superóxido dismutase; **CAT**, enzima catalase; **GSH**, enzima glutatona não exudativa; **GSH-PX**, enzima glutatona peroxidase; **p-ERK**, ERK fosforilada; **DPPH**, 2,2-difenil 1-picril-hidrazil; **AV**, átrio ventricular.

O infarto agudo do miocárdio leva a consequências drásticas no funcionamento do coração, dentre estas, destaca-se o remodelamento cardíaco, provocado pelo aumento da rigidez da matriz extracelular (MEC), decorrente do aumento na diferenciação de células fibroblásticas em células miofibroblásticas³³. Adapala *et al.* (2013)²⁹, foram os primeiros pesquisadores a mostrarem, *In Vitro*, que os mecanismos moleculares que levavam ao aumento da diferenciação de células fibroblásticas tinham como ponto chave a expressão dos canais potenciais do receptor transiente dependente de voltagem (TRPV4), canais sensíveis ao influxo de cálcio, mostrando que o aumento da expressão de TRPV4 estava relacionado ao aumento da liberação de TGF- β 1 na MEC. Essa proteína é responsável por estimular o aumento da proliferação celular de fibroblastos, levando ao aumento da deposição de colágeno e fibrose cardíaca tanto em alterações fisiológicas quanto patológicas, como é o caso do infarto agudo do miocárdio³³. Estes pesquisadores ao inibirem os canais TRPV4, utilizando carvacrol, verificaram que a diferenciação fibroblástica induzida por TGF- β 1 não foi inibida, entretanto a redução da rigidez da MEC esteve correlacionada com uma menor diferenciação dessas células, concluindo que os canais TRPV4 participam do processo de remodelamento cardíaco, tanto por mecanismos mecânicos, interferindo na rigidez da MEC, quanto por mecanismos solúveis (interferindo na liberação de TGF- β 1).

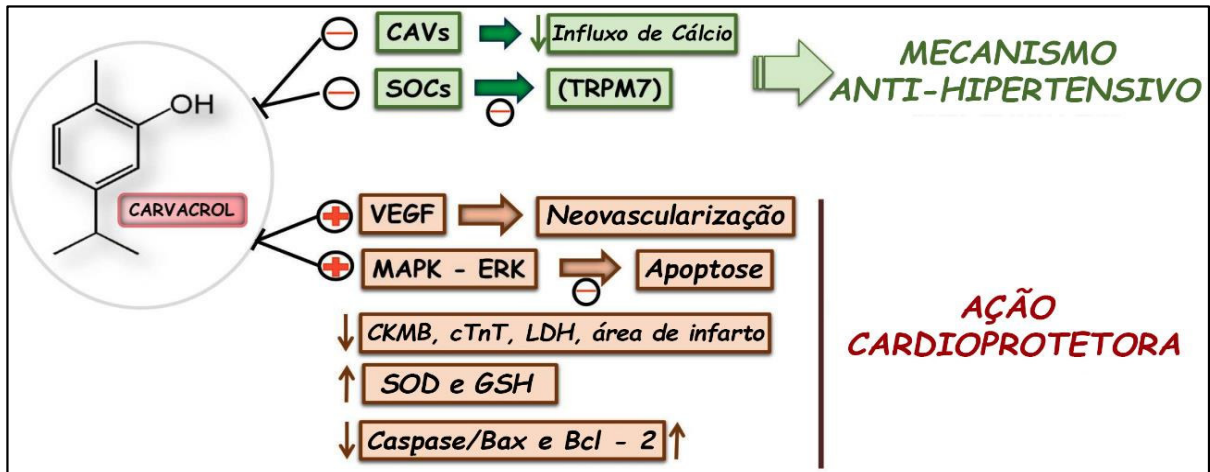
Em um outro trabalho, conduzido por Yu, Liu e Zhu (2013)³⁰, o objetivo foi mostrar a propriedade cardioprotetora do carvacrol a um evento de infarto do miocárdio. Para tanto, os pesquisadores conduziram os experimentos com ratos adultos Wistar (250 – 300 gramas), induzindo infarto via ligadura da artéria coronariana descendente anterior esquerda e os tratando com 25, 50 e 100 mg/kg de carvacrol por sete dias consecutivos. Os primeiros resultados demonstrados nesse estudo, apontaram uma redução da área de infarto nos animais tratados com 25, 50 e 100 mg/kg de carvacrol, tendo área de infarto igual a 31,64%, 26,76% e 23,99% respectivamente. Enquanto no grupo controle a área de infarto foi de 37,33%. O tratamento com carvacrol também foi eficiente para diminuir, drasticamente, as concentrações séricas de creatina quinase (CK), creatina quinase – isoforma cardíaca (CK-MB), troponina cardíaca (cTnT) e da enzima lacto desidrogenase (LDH), quando comparado ao grupo controle.

Ainda foi possível observar efeitos antioxidante e antiapoptótico do carvacrol, sendo o primeiro demonstrado pela redução nos grupos tratados da atividade das enzimas malondialdeído (MDA), superóxido dismutase (SOD), glutathiona não exsudativa enzimática (GSH), bem como da glutathiona peroxidase (GSH-PX) e o efeito antiapoptótico foi evidenciado

pela redução da expressão das proteínas caspases-3 e Bax, bem como pelo aumento dos níveis da proteína Bcl-2, marcadores de apoptose celular. Estes resultados apontam que o carvacrol foi eficiente para atenuar os prejuízos causados pelo infarto agudo do miocárdio. Utilizando o mesmo protocolo para indução de infarto, Chen *et al.* (2017)³, observaram resultados semelhantes aos da pesquisa citada anteriormente. Contudo, só foi conferido cardioproteção, no que diz respeito a diminuição da área de infarto, aos animais tratados com as doses de 50 e 100 mg/kg de massa corporal, não havendo diferença significativa naqueles tratados com 25 mg/kg, quando comparado ao grupo controle.

Chen *et al.* (2017)³, ainda demonstraram efeito antioxidante, com aumento da atividade das enzimas SOD e catalase (CAT), e redução dos níveis de MDA. A eficiência cardioprotetora do carvacrol também foi analisada *In Vitro*, apontando melhor viabilidade dos cardiomiócitos dos animais infartados que foram tratados com carvacrol³. Estes autores ainda se comprometeram em investigar a via de apoptose celular MAPK/ERK, demonstrando que nos animais tratados com carvacrol aumentava a fosforilação da ERK (p-ERK), desativando assim a via de apoptose celular, enquanto que ao inibir a ERK com PD-98059, a propriedade cardioprotetora do carvacrol foi inibida, demonstrando o envolvimento da via MAPK-ERK nos mecanismos anti - apoptóticos do carvacrol³.

Jamhiri *et al.* (2019)³¹, por meio de ensaios *in vivo* e *in vitro*, observaram reduções na fibrose cardíaca e na expressão gênica do peptídeo natriurético atrial, fator chave para a via de remodelamento cardíaco. Enquanto Costa *et al.* (2021)¹⁸, apresentaram resultados qualitativos que evidenciam um papel cardioprotetor do carvacrol sobre o remodelamento cardíaco imposto pela hipertensão arterial. No delineamento experimental proposto por eles, os ratos (SHR) foram tratados (via oral) com 20 mg/kg de carvacrol por quatro semanas. Outra propriedade inerente ao carvacrol foi descrita no trabalho de Almanaityte *et al.* (2020)³², que demonstrou atividade antiarrítmica, ao verificar que o carvacrol aumentou o intervalo QRS e promoveu bloqueio atrioventricular, em corações explantados de coelhos e humanos por meio de um sistema de perfusão de Langerdorff. A Figura 2 abaixo, apresenta um resumo dos mecanismos de ação do carvacrol discutidos previamente.



CAVs, canais de cálcio dependentes de voltagem; SOCs, canais de cálcio operados por estoques; SOD, superóxido dismutase; VEGF, fator de transcrição endotelial vascular; TRPM7, Receptor de potencial transitório, subfamília M, membro 7; MAPK – ERK, quinases reguladas por sinais extracelulares; CKMB, creatina quinase – isoforma cardíaca; cTnT, troponina cardíaca; LDH, lactato desidrogenase; GSH, glutatona não exsudativa enzimática.

Figura 2: mecanismos de ação do carvacrol nas desordens hemodinâmicas e cardiovasculares

3. Conclusão

É possível concluir que o carvacrol tem ação hipotensora e anti-hipertensiva, principalmente quando utilizado as doses de 50 e 100 mg/kg. Essa resposta hemodinâmica parece estar associada, principalmente, ao bloqueio dos canais de cálcio dependente de voltagem. Concluímos também que o carvacrol promove proteção cardíaca, atuando nas vias de remodelamento cardíaco e apoptose, reduzindo fibrose cardíaca e deposição de colágeno, bem como se observa redução da área de infarto e da expressão de marcadores moleculares apoptóticos em ratos normotensos previamente tratados com carvacrol.

4. Perspectivas futuras.

Os mecanismos de ação do carvacrol sobre o sistema cardiovascular (figura 2), demonstram principalmente propriedade anti-hipertensiva e cardioprotetora. Entretanto, no que diz respeito a essas propriedades, ainda existem perguntas importantes a serem respondidas. Pode-se observar que apenas dois trabalhos se propuseram a investigar o efeito hipotensor, anti-hipertensivo do carvacrol usando um modelo de hipertensão espontânea, o que mimetizaria melhor o modelo de hipertensão em humanos, e destes, apenas um demonstrou nesse modelo uma ação cardioprotetora, o que projeta um campo aberto para posteriores investigações.

Outro ponto relevante, é a via de administração e o tempo de exposição ao carvacrol, uma vez, com exceção de dois trabalhos, todos outros fizeram veiculação via intravenosa e/ou intraperitoneal, demonstrando a necessidade de continuar as investigações da via oro-gástrica, bem como as respostas crônicas do tratamento. Isso é importante, porque o

ideal de toda droga é que ela seja autoadministrada pelo seu usuário; nesse sentido, a via oral se apresenta mais viável.

Em relação aos trabalhos que analisaram o efeito hipotensor e anti-hipertensivo do CAR, em alguns foram mostrados efeitos significativos sobre a frequência cardíaca e pressão arterial, entretanto os mecanismos envolvidos na bradicardia observada não foram bem descritos, havendo a necessidade de se investigar melhor esses mecanismos, podendo analisar se o CAR pode estar envolvido de alguma forma com alterações na sensibilidade barorreflexa e modulação do sistema nervoso autônomo, além de mecanismos de regulação pressórica a longo prazo, como o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.

Referências

1. Nascimento BR, Brant LCC, Oliveira G, Malachias M, Reis G, Teixeira R. Epidemiologia das doenças cardiovasculares em países de Língua Portuguesa: dados do "Global Burden of Disease", 1990 a 2016. *Arq Bras Cardiol.* 2018;**110**(6):500-511.
2. Siqueira AdSE, de Siqueira-Filho AG, Land MGP. Análise do impacto econômico das doenças cardiovasculares nos últimos cinco anos no Brasil. *Arq Bras Cardiol.* 2017;**109**(1):39-46.
3. Chen Y, Ba L, Huang W, Liu Y, Pan H, Mingyao E, et al. Role of carvacrol in cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through activation of MAPK/ERK and Akt/eNOS signaling pathways. *European journal of pharmacology.* 2017;**796**:90-100.
4. Reis JH, Gebert RR, Barreta M, Baldissera MD, dos Santos ID, Wagner R, et al. Effects of phytochemical feed additive based on thymol, carvacrol and cinnamic aldehyde on body weight, blood parameters and environmental bacteria in broilers chickens. *Microbial pathogenesis.* 2018;**125**:168-176.
5. Rajput JD, Bagul SD, Pete UD, Zade CM, Padhye SB, Bendre RS. Perspectives on medicinal properties of natural phenolic monoterpenoids and their hybrids. *Molecular diversity.* 2018;**22**(1):225-245.
6. Wang C, Yu T, Fujita T, Kumamoto E. Moieties of plant-derived compounds responsible for outward current production and TRPA1 activation in rat spinal substantia gelatinosa. *Pharmacological Reports.* 2019;**71**(1):67-72.
7. Liu S, Song M, Yun W, Lee J, Kim H, Cho J. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. *Poultry Science.* 2018;.
8. Arunasree K. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine.* 2010;**17**(8-9):581-588.
9. Baranauskaite J, Kubiliene A, Marksa M, Petrikaite V, Vitkevičius K, Baranauskas A, et al. The influence of different oregano species on the antioxidant activity determined using HPLC postcolumn DPPH method and anticancer activity of carvacrol and rosmarinic acid. *BioMed research international.* 2017;**2017**.
10. Bellés M, Alonso V, Roncalés P, Beltrán JA. Sulfite-free lamb burger meat: antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2019;**99**(1):464-472.
11. Earley S, Gonzales AL, Garcia ZI. A dietary agonist of transient receptor potential cation channel V3 elicits endothelium-dependent vasodilation. *Molecular pharmacology.* 2010;**77**(4):612-620.
12. Vera R, Chane-Ming J. Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chemistry.* 1999;**66**(2):143-145.
13. Thompson JD, Chalchat J-C, Michet A, Linhart YB, Ehlers B. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology.* 2003;**29**(4):859-880.
14. Dantas BPV, Alves QL, de Assis KS, Ribeiro TP, de Almeida MM, de Vasconcelos AP, et al. Participation of the TRP channel in the cardiovascular effects induced by carvacrol in normotensive rat. *Vascular pharmacology.* 2015;**67**:48-58.
15. Aydın Y, Kutlay Ö, Ari S, Duman S, Uzuner K, Aydın S. Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. *Planta medica.* 2007;**73**(13):1365-1371.

16. Feketa VV, Marrelli SP. Systemic administration of the TRPV3 ion channel agonist carvacrol induces hypothermia in conscious rodents. *PloS one*. 2015;**10**(11):e0141994.
17. Barreto da Silva L, Camargo SB, Moraes RdA, Medeiros CF, Jesus AdM, Evangelista A, et al. Antihypertensive effect of carvacrol is improved after incorporation in β -cyclodextrin as a drug delivery system. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2020;**47**(11):1798-1807.
18. Costa HA, Dias CJM, Martins VdA, Araujo SAd, Silva DPd, Mendes VS, et al. Effect of treatment with carvacrol and aerobic training on cardiovascular function in spontaneously hypertensive rats. *Experimental Physiology*. 2021;doi:10.1113/EP089235).
19. Peixoto-Neves D, Silva-Alves K, Gomes M, Lima F, Lahlou S, Magalhães P, et al. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2010;**24**(3):341-350.
20. Shabir H, Kundu S, Basir SF, Khan LA. Modulation of Pb (II) caused aortal constriction by eugenol and carvacrol. *Biological trace element research*. 2014;**161**(1):116-122.
21. Lee KP, Sudjarwo GW, Jung SH, Lee D, Lee D-Y, Lee GB, et al. Carvacrol inhibits atherosclerotic neointima formation by downregulating reactive oxygen species production in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 2015;**240**(2):367-373.
22. Matluobi D, Araghi A, Maragheh BFA, Rezabakhsh A, Soltani S, Khaksar M, et al. Carvacrol promotes angiogenic paracrine potential and endothelial differentiation of human mesenchymal stem cells at low concentrations. *Microvascular Research*. 2018;**115**:20-27.
23. Liu Y, Wei J, Ma K-T, Li C-L, Mai Y-P, Qiu X-X, et al. Carvacrol protects against diabetes-induced hypercontractility in the aorta through activation of the PI3K/Akt pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020;**125**:109825.
24. Zhao W, Deng C, Han Q, Xu H, Chen Y. Carvacrol may alleviate vascular inflammation in diabetic db/db mice. *International Journal of Molecular Medicine*. 2020;**46**(3):977-988.
25. Pérez-Vizcaíno F, Cogolludo AL, Villamor E, Tamargo J. Role of K⁺ channel opening and stimulation of cyclic GMP in the vasorelaxant effects of nicorandil in isolated piglet pulmonary and mesenteric arteries: relative efficacy and interactions between both pathways. *British journal of pharmacology*. 1998;**123**(5):847-854.
26. Marín J, Encabo A, Briones A, García-Cohen E-C, Alonso MJ. Mechanisms involved in the cellular calcium homeostasis in vascular smooth muscle: calcium pumps. *Life sciences*. 1998;**64**(5):279-303.
27. Docherty JR. Subtypes of functional α 1-adrenoceptor. *Cellular and molecular life sciences*. 2010;**67**(3):405-417.
28. GURNEY AM. Mechanisms of drug-induced vasodilation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1994;**46**(4):242-251.
29. Adapala RK, Thoppil RJ, Luther DJ, Paruchuri S, Meszaros JG, Chilian WM, et al. TRPV4 channels mediate cardiac fibroblast differentiation by integrating mechanical and soluble signals. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2013;**54**:45-52.
30. Yu W, Liu Q, Zhu S. Carvacrol protects against acute myocardial infarction of rats via anti-oxidative and anti-apoptotic pathways. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2013.;b12-00948.
31. Jamhiri M, Dahaj FS, Astani A, Hejazian SH, Hafizibarjin Z, Ghobadi M, et al. Carvacrol Ameliorates Pathological Cardiac Hypertrophy in Both In-vivo and In-vitro Models. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*. 2019;**18**(3):1380.

32. Almanaitytė M, Jurevičius J, Mačianskienė R. Effect of carvacrol, TRP channels modulator, on cardiac electrical activity. *BioMed research international*. 2020;**2020**.
33. Allawadhi P, Khurana A, Sayed N, Kumari P, Godugu C. Isoproterenol-induced cardiac ischemia and fibrosis: Plant-based approaches for intervention. *Phytotherapy Research*. 2018;**32**(10):1908-1932.

CAPÍTULO III

ARTIGO ORIGINAL

REVISTA: Experimental Physiology
QUALIS CAPES: B1 na Medicina I
Fator de impacto: 2,62
Status: Publicado

Title: Effect of treatment with carvedilol and aerobic training on cardiovascular function in spontaneously hypertensive rats

Short title: Exercise and carvedilol attenuate cardiovascular risk in SHR

Herikson Araujo Costa², Carlos José Moraes Dias^{1,3}, Vicenilma de Andrade Martins³, Sandra Alves de Araujo³, Daiane Pereira da Silva¹, Vinícius S. Mendes⁵, Mário Norberto Sevilio de Oliveira Junior¹, Cristiano Teixeira Mostarda^{1,3,4}, Antônio Carlos Romão Borges^{3,5}, Rachel Melo Ribeiro^{1,5}, Natalino Salgado Filho².

¹ Programa de Pós-graduação em Educação Física, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580;

² Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Federal University of Maranhão, São Luís- MA, Brazil. Zip code: 65085-580;

³ Programa de Pós-graduação de Rede Nordeste de Biotecnologia (Renorbio), Federal University of Maranhão, São Luís- MA, Brazil. Zip code: 65085-580;

⁴ Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto, Federal University of Maranhão, São Luís- MA, Brazil. Zip code: 65085-580;

⁵ Pharmacology Laboratory, Department of Physiological Science, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: :65085-580

***Corresponding author:**

Herikson Araujo Costa,

Rua 1º de maio, nº 17^a, Vila Embratel, São Luís – MA, Brazil; Zip code: 65081 - 258; contact: +5598988265465,

E-mail: herikson.costa@ufma.br

ID ORCID: 0000-0003-1698-9418

New Findings

What is the central question of this study?

The central question of this study was to associate two non-drug therapies, carvacrol and aerobic physical training, in order to demonstrate additive effects on the reduction of cardiovascular risks and control of arterial hypertension.

What is the main finding and its importance?

Our main findings demonstrate that the oral use of carvacrol can control sustained hypertension in SHR, and when this use is associated with aerobic physical training, we can have a more pronounced effect on the reduction pressure values, making these therapies an adjunct option in the drug treatment of hypertension.

Abstract

Systemic arterial hypertension is considered the foremost cardiovascular risk factor, and it is necessary to examine different therapies that help prevent and treat it, especially when associated with other cardiovascular risk factors. In this context, it is known that both carvacrol and aerobic physical training benefit the cardiovascular system. This study investigated the effects of treatment with carvacrol combined with aerobic exercise on hypertensive rats with cardiovascular risk parameters. We used an experimental design and six groups: normotensive control (Wistar), hypertensive control (SHR), positive control treated with amlodipine (Aml-20mg), treated with carvacrol (Carv-20mg), trained with exercise (Exer), and treated with carvacrol (ExerCarv). The treatment lasted for four weeks, monitoring heart rate and systolic blood pressure (SBP) measurements. At the end of the treatment, vascular reactivity tests were performed in addition to biochemical measurements of urea, creatinine, AST, ALT, triglycerides, total cholesterol, HDL-C, LDL-C, VLDL-C, atherogenic indexes, relative heart weight, and histopathological analysis of cardiac perivascular tissue. Significant reductions in SBP were observed after the training period, with ExerCarv showing a greater magnitude of reduction (Δ SBP = 88 ± 10.0 mmHg, 42%). This group also experienced reductions in atherogenic indices and improvement in all analysed lipid parameters, with no differences observed in the Exer group. Findings indicated that the interaction between aerobic exercise and carvacrol offers a greater BP reduction, which is particularly efficient for controlling biochemical parameters of cardiovascular risk, regardless of carvacrol use.

Keywords: Aerobic exercise, carvacrol, hypertension and cardiovascular risk.

1. Introduction

Systemic arterial hypertension (SAH) is a chronic non-communicable disease known for its multifactorial and polygenic character. SAH is highly prevalent worldwide, irrespective of the country's degree of development (Williams *et al.* 2018). SAH is largely associated with aging, heredity, and behavioural factors (e.g. bad diet, smoking, alcoholism, and physical inactivity) that, when linked with lipid and glycaemic disorders, exponentially increase the risk of cardiovascular disease (Mills *et al.* 2016; Williams *et al.* 2018).

The use of antihypertensive and antilipidemic drugs to control SAH and associated risk factors is a method which has already been verified by science. However, new non-drug therapies are being investigated which can bolster treatment and reduce drug use and thus treatment costs. In this context, carvacrol appears as a study option as the use of phytochemicals as complementary medicine is prevalent worldwide and well accepted locally.

Carvacrol is a phenolic monoterpene (C₁₀H₁₄O), present in the essential oils of many plants (*Origanum vulgare*, *Origanum marjorana*, *Nigella sativa*, and *Tequila*) (Vera & Chane-Ming, 1999; Calixto, 2000), which shows great potential as antihypertensive, antilipidemic, and cardioprotective (Aydin *et al.* 2007; Aristatile *et al.* 2009; Caponi *et al.* 2013; Dantas *et al.* 2015; Feketa & Marrelli, 2015; Testai *et al.* 2016; Chen *et al.* 2017; Locatelli *et al.* 2017; Jamhiri *et al.* 2019). However, these effects have not yet been observed in models of spontaneous hypertension using orally administered carvacrol.

Aydin *et al.* (2007) observed the antihypertensive effect of carvacrol in animals with hypertension induced by L-NAME, an inhibitor of nitric oxide synthase. Then Dantas *et al.* (2015) indicated that carvacrol reduces blood pressure (BP) by blocking voltage-dependent calcium channels, promoting vasorelaxation. Caponi *et al.* (2013), on the other hand, managed to reverse metabolic syndrome after 21 days of treatment with carvacrol. While Chen *et al.* (2017), Locatelle *et al.* (2017), and Jamhiri *et al.* (2017), added a cardioprotective property to carvacrol and observed a decrease in collagen deposition in the myocardium, reduction of the infarction area in animals previously treated with carvacrol, and reduced oxidative stress.

Another therapy that can assist in the treatment of SAH and other cardiovascular disorders is physical training. The European Society of Cardiology guide notes the changes in lifestyle for patients with BP staying in the normal - high range (SBP between 130 - 139 mmHg and DBP between 85 - 89 mmHg) (Williams *et al.* 2018). Therefore, adherence to physical

training programs combined with pharmacological treatment seems to be a promising path for the treatment of SAH, alongside lipid parameters associated with increased cardiovascular risk (Caponi *et al.* 2013; Maida *et al.* 2016; Andrade *et al.* 2018).

A recommendation adopted as the first option in antihypertensive therapy is aerobic training, which stimulates adaptations to the cardiorespiratory system and has been deemed efficient in prevention, in addition to the non-pharmacological treatment of SAH, diabetes, dyslipidaemia, and metabolic syndrome (Caponi *et al.* 2013; Andrade *et al.* 2018; Jakovljevic *et al.* 2019; Almeida *et al.* 2020). Physical training promotes a reduction in BP levels, acting in many different ways. In neurons, it stimulates veins to relax and increase the synthesis of nitric oxide (Blanco-Rivero *et al.* 2013; Larsen & Matchkov, 2016). In hormones, it reduces the synthesis of angiotensin II and increases the antagonists of this hormone, such as angiotensin (Almeida *et al.* 2020). On the neuronal level, physical training improves baroreflex sensitivity, reduces sympathetic hyperactivity, and increases parasympathetic modulation (Dias *et al.* 2017).

The combination of aerobic training and medication is already acknowledged as positive in the treatment of SAH and other cardiovascular disorders (Maida *et al.* 2016; Harper *et al.* 2019). There is however a paucity of studies which assess aerobic training alongside the daily use of carvedilol orally to control SAH and reduce cardiovascular risk in spontaneously hypertensive animals. The aim of this study was to investigate the effects of treatment with carvedilol combined with aerobic exercise on hypertensive rats using cardiovascular risk parameters, through the evaluation of hemodynamic, biochemical, and histopathological parameters.

2. Method

2.1 Ethical Approval

Adult male rats, *Rattus norvegicus*, Wistar and spontaneously hypertensive (SHR), weighing $198 \text{ g} \pm 20.65$ and 90 days old, were obtained from the bioterium of the UFMA for the experiment. The animals were housed with controlled temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) and lived in a 12 h light-dark cycle and humidity ranging from 55 – 65 %. Water and industrialised dry food (Nuvilab ®, Paraná, Brazil) were available ad libitum. This study was carried out in strict accordance with the recommendations of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the National Institutes of Health (Health, 1985). The experimental protocols were submitted

to and approved by the Ethics Committee on the Use of Animals from the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA) under registration number 23115.004102/2019-21.

2.2 Experimental Design

Prior to the start of the experiment Wistar ($n = 6$) and SHR ($n = 30$) rats were kept for a period of 15 days to allow them to adapt and were monitored throughout and during the experiment. Then the animals were habituated to the interventions: gavage (oral administration), container for measuring caudal BP (15 days), and treadmill (06 days). Lastly, the SHR were randomly divided into different groups (sex animals/group):

- Normotensive control, treated only with sorbitol (Wistar)
- Hypertensive control, treated only with sorbitol (SHR),
- Positive control, SHR animals treated only with amlodipine (Aml-20mg),
- Group treated with carvedilol only (Carv-20mg),
- Group treated only with physical exercise (Exer.),
- Group treated with exercise and carvedilol (20mg/kg/day), concomitantly (ExerCarv.).

The experimental design is shown in figure 1.

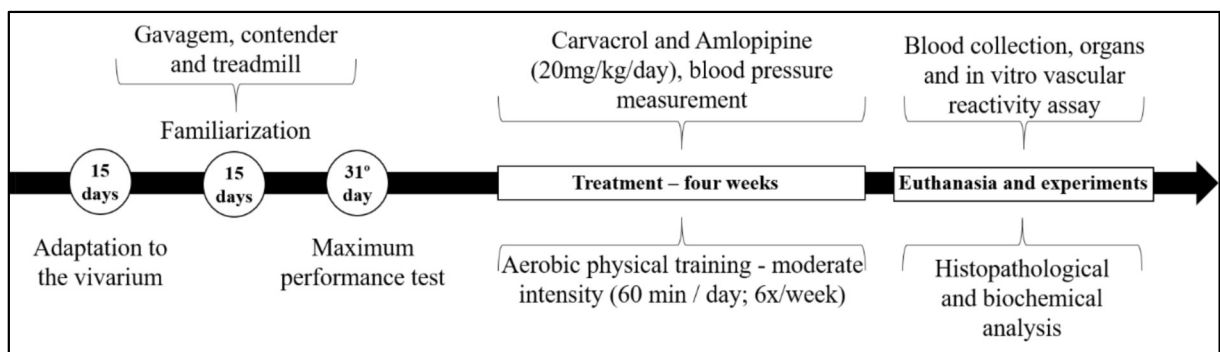


Figure 1: Experimental design

Inclusion criteria: SHR (SBP > 170 mmHg) and normotensive rats of the same age were included.

Exclusion criteria: Animals that failed to complete the physical training program were excluded. Only one animal was not able to get through the adaptation process on the treadmill, and therefore was not included in the group that completed the physical training program.

All considerations regarding the animals' wellness were taken into account, including monitoring signs of toxicity and efforts to minimise distress, as well as the use of

ketamine and xylazine anaesthetics (via intraperitoneal). In all protocols, the animals were euthanised by gradual exposure to CO₂ (by gas inhalation).

2.3 Reagent and Drugs

Norepinephrine hydrochloride, Sorbitol, and Carvacrol were purchased from Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA). All other chemicals were of high analytical grade purity from Merck Darmstadt.

2.4 Treatment Protocol

Before beginning the training protocol, the animals were familiarised with the treadmill (IMBRAMED), without using electric shock, for seven days (30 minutes/day at 8m/min). On the tenth day, they performed a maximal stress test on a treadmill. This started at 5 m/min, with zero degree of inclination and increments of 3 m/min every 3 minutes until each animal was fatigued. Fatigue was defined and the test was interrupted when the animals could not keep up with the speed of the treadmill, as already described in the studies of Roque *et al.* (2013), Qiu *et al.* (2018), and Ye *et al.* (2019). Only the animals in the Exer and ExerCarv groups performed the physical training program, which consisted of four weeks of moderate-intensity aerobic exercise (55 to 70% of the maximum speed obtained in the maximum effort test) performed on a treadmill, with five minutes of warm-up and 55 minutes/day of training, using an adaptation of the continuous aerobic training program described by Jakovljevic *et al.* (2019), which consists of five days of habituation (Monday to Friday – 30 min/day [8 m/min]) and four more weeks of training (6x/week; 55 min/day), always starting with five minutes of warm-up (8 m/min). The training intensity increased every week: Week 1: 10 m/min; Week 2: 12 m/min; Week 3: 13 m/min; and Week 4: 15 m/min.

The intervention in the Wistar and SHR groups consisted only of the administration of 1 ml/day of sorbitol orally. The Aml group was treated with 20 mg/kg/day of oral amlodipine. The Carv and ExerCarv groups were treated with doses of 20 mg/kg/day of carvacrol. The groups that performed exercise (Exer and ExerCarv) followed the training protocol shown in table 1. At the end of the experiment (day 31), the animals were anaesthetised (50 mg/kg ketamine and 10 mg/kg xylazine, i.p.) for subsequent experimental procedures.

2.5 Effect of Prolonged Treatment on the BP and Heart Rate

Hemodynamic parameters were obtained as detailed by Ribeiro *et al.* (2014), with modifications. MAP (mean arterial pressure), SBP (systolic BP), DBP (diastolic BP) and heart

rate (HR) were registered using the indirect tail-cuff plethysmography method. According to this protocol, an appropriately sized occlusion cuff was placed around the tail of the animals and connected to a plethysmograph (LE 5001 Pressure Meter, Panlab, Cornella, Spain). An average of three measurements were obtained for each animal. For BP measurement, the animals were warmed up to 42°C for 3 min in a confinement cage. The animals were first submitted to a period of adaptation for 15 days prior to the experiments and only SHR with an SBP > 170mmHg were selected for this study. Animal weight and food intake were determined weekly. The treatment of the animals was always preceded by BP measurements over the four weeks.

2.6 Effect of Prolonged Treatment on Vascular Reactivity

At the end of the treatment, preparations of the mesenteric artery were obtained as detailed by Ribeiro et al. (2018), and ring segments (3 to 5 mm) of the superior mesenteric artery were placed between stainless steel wires (50 μ m in diameter) and immersed in an organ bath chamber (5 mL) containing Krebs nutritive solution (118 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.2 mM MgCl₂, 1.2 mM NaH₂PO₄, 15.5 mM NaHCO₃, 2 mM CaCl₂, and 11mM glucose, pH 7.4) at 37°C, equilibrated with 5% CO₂/ 95% O₂. The preparations were first equilibrated under the tension of 1.0 g and washed at intervals of 10 min, for 60 min. Changes in the isometric tension of the preparations were measured with an isometric force transducer (PowerLab, ADInstruments Pty. Ltd., Sydney, Australia).

After 60 min of successive washes, the cumulative dose-response curves to NE (10⁻⁹ to 10⁻⁴ M) were constructed. To evaluate the antagonistic action of carvedilol against Ca²⁺, the vascular tissue was stabilised with a Krebs nutritive solution. After 30 min, the fluid from the preparation was replaced with a Ca²⁺-free Krebs solution (60 mM K⁺, nominally Ca²⁺ free). Additionally, after 30 min of successive washes, the basal tone was recovered, allowing to obtain cumulative concentration-response curves to CaCl₂ (10⁻⁶ to 10⁻² M). The concentration necessary to elicit 50% of the maximum response (EC₅₀) was determined using a nonlinear regression analysis. The negative logarithms of the EC₅₀ values (pD₂) were used for statistical analysis. In the experiments involving high extracellular K⁺, Krebs solution containing 60 mM KCl was prepared by replacing an equimolar concentration of NaCl with KCl.

2.7 Biochemical Analysis

The animals were fasted for 12 hours until the blood collection process for biochemical analysis. Blood for glucose analysis was obtained through a cut at the tip of the animals' tail, moments before anaesthesia. This was analysed by a digital glucose monitor On Call® Plus, using specific reactive tapes. Then the animals were anaesthetised and their blood was collected from the abdominal artery of anaesthetised rats into tubes without anticoagulant and centrifuged at 3,500 rpm for 10 min to separate the serum. Creatinine, urea, total proteins, albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and HDL-cholesterol were estimated using standard assay kits (Labtest®, São Paulo, Brazil). The readings were performed on a semiautomated analyser (Bioplus-2000).

Low-density proteins (LDL), very low density (VLDL), as well as atherogenic indices were estimated using the following equations: **[LDL]** = (CT - HDL) - (TG/5); **[VLDL]** = TG/5; **Atherogenic indices:** 1) TC/HDL and 2) TG/HDL.

2.8 Treatment Effect on Estimation of Cardiac Hypertrophy

The heart was removed and washed with ice-cold saline. The dry heart was weighed to obtain the heart weight-to-body weight ratio adapted from subsequent histopathological analysis. Myocardial tissue fixed in buffered formalin was processed for paraffin embedding, sectioned at 5 µm, and mounted on microscope slides. The slides were photographed under an Olympus U-TUIX-2 camera connected to an Olympus CX41 microscope (Tokyo, Japan) to evaluate histoarchitectural changes in the myocardium.

2.9 Statistical Analysis

After confirming the homogeneity and homoscedasticity of the data through the application of the Shapiro-Wilk test, the data were presented in terms of mean and standard deviation. To observe the effect of the treatment and treatment time on BP, a two-way ANOVA was applied, as well as a nonlinear regression analysis to determine differences between the concentration-response curves and calcium and noradrenaline. Thereafter, for biochemical variables and organ relative weight, a one-way ANOVA along with a Tukey post-hoc was used. Finally, Pearson's linear correlation was applied to observe an interaction between the relative weight of the heart and the systolic and mean arterial pressure. The software used was GraphPad Prism 5.0, and significance was set at $p \leq 0.05$.

3. Results

3.1 Effect of Treatment on Weight Variation and Feed Consumption

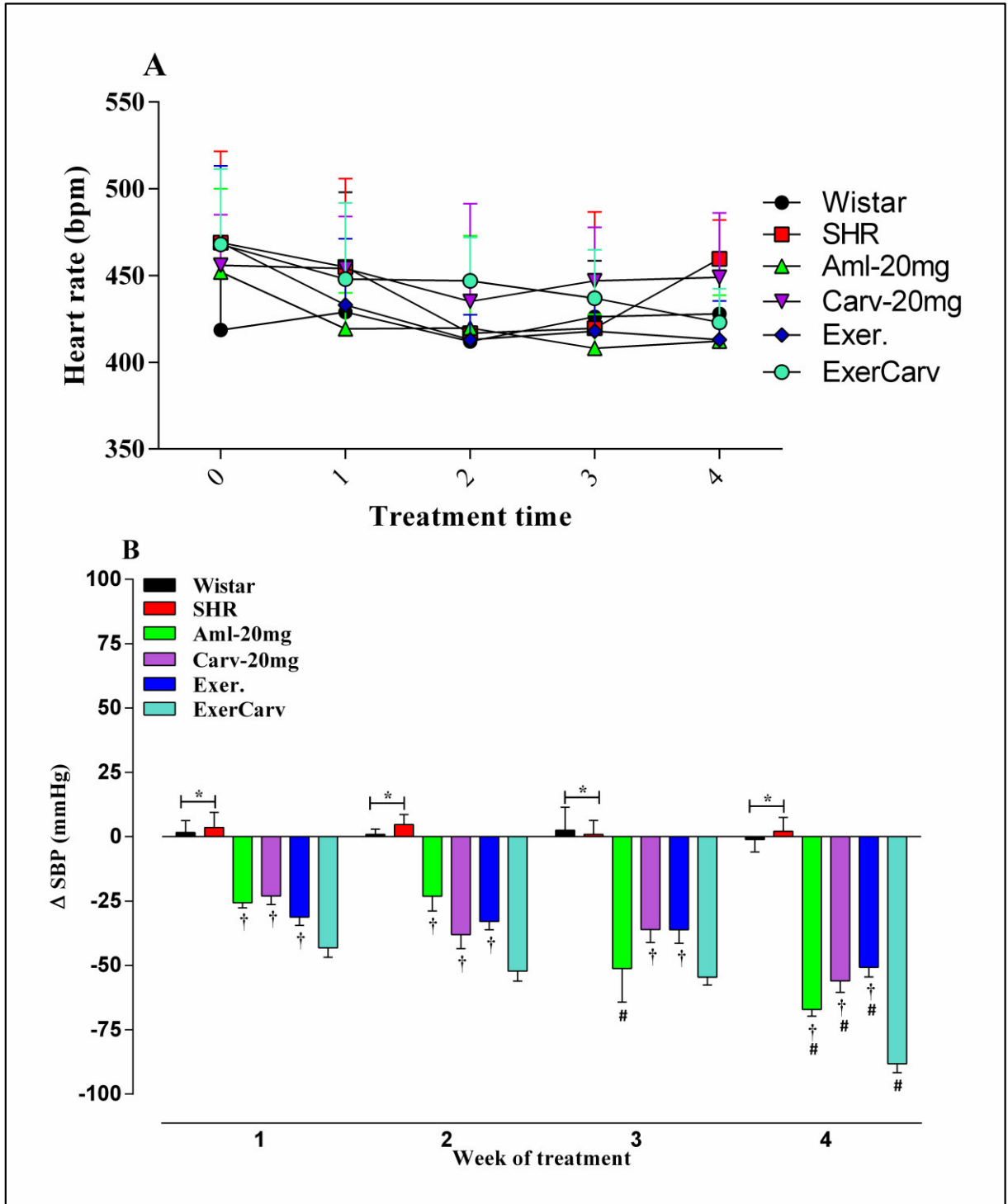
It is observed that none of the interventions modified feed intake and linear weight gain over the weeks of treatment (data presented in complementary materials).

3.2 Effect of Treatment on Physical Performance

Concerning the comparison of physical performance (distance covered in meters) between the baseline and post-training moments in all groups, it can be seen that only the groups, Exer and ExerCarv, who participated in the physical training program, improved their ability to run, increasing their performance by 106.6% (Baseline: 313.8 ± 15.7 meters, Post-training: 667.5 ± 29.5 meters) and 101.9% (Baseline: 334.7 ± 36.8 meters, Post-training: 673.5 ± 49.4 meters), respectively. There was no change in the physical performance of the other groups.

3.3 Effect of Prolonged Treatment on BP and HR

Figure 3 shows the behaviour of HR, as well as the magnitude of reduction in SBP over the four-week treatment. There was no significant difference in HR between groups during this period. However, the reduction in SBP in the treated groups occurred from the first week of treatment until the end of the protocol, during which the ExerCarv group experienced greater magnitudes of reduction than the other groups, especially after the last week of treatment (Δ SBP week 4, Wistar: -1 ± 13.5 mmHg, 1%; SHR: 2 ± 15.03 mmHg, 1%; Aml-20mg: -67 ± 7.2 mmHg, 35%; Carv-20mg: -56 ± 12.4 mmHg, 19%; Exer: -51 ± 10 mmHg, 26% and ExerCarv: -88 ± 10 mmHg, 42%); this suggests an antihypertensive effect on this phytochemical, possibly due to a time-dependent reduction mechanism. The positive control group (Aml-20mg) showed results similar to the ExerCarv group only in the third week of treatment, demonstrating that the combined treatment (ExerCarv) was more efficient. Data regarding delta values of diastolic blood pressure (DBP) and mean arterial pressure (MAP) are available in the complementary material.



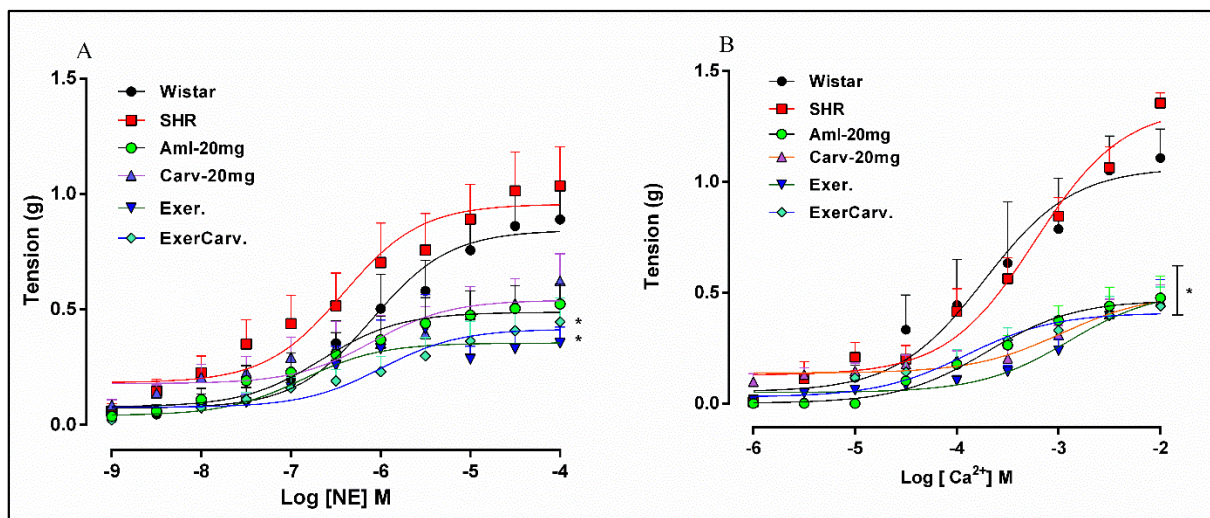
Mean \pm SD; **A**, absolute heart rate values; **B**, delta (Δ) values of SBP; **SBP**, systolic blood pressure; **Wistar**, normotensive control group; **SHR**, hypertensive control group; **Aml-20mg**, positive control group treated with amlodipine; **Carv-20mg**, Carvacrol group; **Exer.**, Exercise group; **ExerCarv.**, Exercise + Carvacrol group; # compared to the previous week; * compared to all groups; † compared to ExerCarv group; two-way ANOVA repeated measures, $p \leq 0.05$.

Figure 2: Effect of treatment on SBP and HR in SHR

3.4 Effect of Prolonged Treatment on Vascular Reactivity

Carvacrol exerted its antihypertensive effect, which interfered with the contractile mechanisms of the vascular musculature, causing rings of mesenteric arteries to isolate from animals treated by gavage for 30 days with 20 mg/kg carvacrol. Cumulative curves were constructed for norepinephrine (NE) or calcium (Ca^{2+}). The results regarding vascular reactivity are shown in Figure 3.

In the cumulative curves for NE (figure 3 - graph A) or Ca^{2+} (figure 3 - graph B), there was a reduction in E_{max} (g/tension) for the Aml-20mg, Exer, and ExerCarv groups, shifting the curve to the right (figure 3): E_{max} - NE (Wistar: 0.9 ± 0.2 ; SHR: 1.0 ± 0.2 ; Aml-20mg: 0.5 ± 0.1 ; Carv-20mg: 0.6 ± 0.1 ; Exer: 0.3 ± 0.1 and ExerCarv: 0.4 ± 0.1), E_{max} - Ca^{2+} (Wistar: 1.1 ± 0.1 ; SHR: 1.1 ± 0.1 ; Aml-20mg: 0.5 ± 0.1 ; Carv-20mg: 0.5 ± 0.1 ; Exer: 0.5 ± 0.1 and ExerCarv: 0.4 ± 0.1).



Mean \pm SD; **A**, concentration-response curve for norepinephrine (NE); **B**, concentration-response curve for norepinephrine (Ca^{2+}), calcium; **Wistar**, normotensive control group; **SHR**, hypertensive control group; **Aml-20mg**, positive control group treated with amlodipine; **Carv-20mg**, Carvacrol group; **Exer.**, Exercise group; **ExerCarv.**, Exercise + Carvacrol group; *, compared to Wistar and SHR groups, nonlinear regression ($p \leq 0,005$).

Figure 3: Concentration-response curve for norepinephrine and calcium in mesenteric arteries of SHR

3.5 Effect of Treatment on Serum Biochemical Parameters

Table 1 shows the values for the biochemical measurements in terms of mean \pm standard deviation (TC, TG, HDL, LDL, VLDL, TC/HDL, TG/HDL, urea, creatinine, ALT and AST). Daily treatment with carvacrol (20 mg/kg) reduced the levels of LDL cholesterol and triglycerides only, with LDL cholesterol being lower than that observed in the Wistar, SHR,

and Aml groups. However, physical exercise promoted more comprehensive changes compared to treatment with carvacrol alone, reducing triglycerides, total cholesterol, non-cholesterol HDL, LDL cholesterol, VLDL cholesterol, and increasing HDL cholesterol levels. No difference between the Exer and ExerCarv groups were found, with their effects being more important than any of the other treatments.

It was also observed that the Aml-20mg, Carv-20mg, Exer, and ExerCarv groups had a reduction in the TC/HDL index, while the TG/HDL index was sensitive only to interventions in the Carv-20mg, Exer, and ExerCarv groups. These last two groups experienced a similar effect, exhibiting a greater magnitude of TG/HDL reduction when compared to the Carv-20mg group, which indicates the absence of a cumulative effect in the ExerCarv group.

Regarding renal and hepatic parameters, the treatment was effective in reducing serum levels of urea and AST, indicating an improvement in renal and liver function in the Aml-20mg, Carv-20mg, Exer, and ExerCarv groups. There were no significant changes in ALT levels.

Table 1. Effect of treatment on serum biochemical parameters in SHR

	Wistar	SHR	Aml-20mg	Carv-20mg	Exer	ExerCarv
TG (mg/dl)	67.9±13.7	79.0±14.3	63.5±16.4	60.2±15.5*	41.0±3.2*#†	40.2±6.5*#†
TC (mg/dl)	62.7±19.0	53.7±4.5	51.2±2.6	54.0±2.9	49.2±4.0#	48.7±2.5#
HDL (mg/dl)	25.0±5.3	20.7±2.4	21.2±6.2	22.7±5.7	27.0±3.2*	26.0±4.1*
LDL (mg/dl)	38.3±17.3	29.2±10.0	28.5±5.1	22.0±4.1*#†	21.0±2.66*#†	22.5±3.4*#†
VLDL (mg/dl)	13.6±2.7	15.8±2.9	14.4±4.7	12.0±3.1	8.2±0.6*	8.0±1.3*
TG/HDL (mg/dl)	2.7±0.3	3.8±0.6#	2.9±1.2	2.2±0.6*	1.5±0.3*	1.6±0.2*
TC/HDL (mg/dl)	2.5±0.8	2.6±0.2	2.2±0.2*	2.2±0.2*	1.8±0.3*#†	1.9±0.3*#†
Urea (mg/ml)	58.5±14.5	59.1±9.6	47.9±8.0*#	47.6±7.2*#	47.9±5.6*#	48.4±8.8*#
Creatinina (mg/ml)	0.8±0.05	0.5±0.05#	0.5±0.05#	0.5±0.1#	0.5±0.05#	0.4±0.1#
ALT (UL/I)	60.7±6.4	67.6±8.2	61.6±7.4	62.2±7.5	62.0±3.2	63.9±7.8
AST (UL/I)	127.5±6.5*	174.6±4.6#	162.2±4.0*#	163.0±2.5#	160.2±2.5*#	161.4±4.9*#

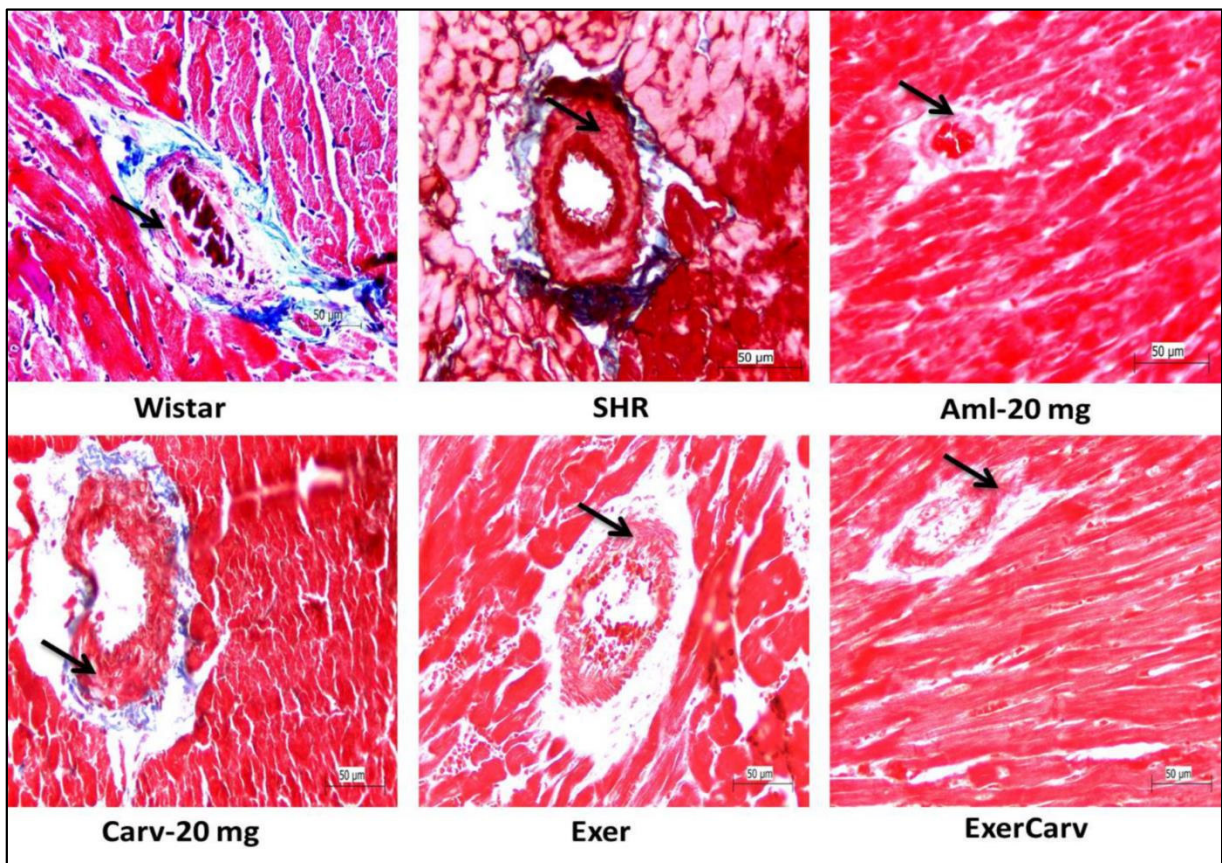
Mean ± SD; Wistar, normotensive control group; **SHR**, hypertensive control group; **Aml-20mg**, positive control group treated with amlodipine; **Carv-20mg**., Carvacrol group; **Exer.**, Exercise group; **ExerCarv.**, Exercise + Carvacrol group; *, compared to SHR group; #, compared to Wistar group; †, compared to Aml; One Way ANOVA $p \leq 0.05$.

3.6 Treatment Effect on Estimation of Cardiac Hypertrophy

The measurement of the relative weight of the heart (g/100g) provided the visualisation of an estimate of cardiac hypertrophy presented in the SHR group (Wistar: 0.4 ± 0.03 ; SHR: 0.5 ± 0.02 ; Aml-20mg: 0.4 ± 0.02 ; Carv-20mg: 0.4 ± 0.03 ; Exer: 0.4 ± 0.02 and ExerCarv: 0.4 ± 0.03) when compared to other groups. The relative weight of the heart in the

SHR group correlated strongly and positively with the absolute SBP values, $r = 0.8$, $p = 0.0001$ (absolute SBP values are available in the complementary material).

The results of the histopathological analysis (Figure 4) show that there were no inflammatory or degenerative changes in all groups in this study. On the other hand, the SHR group exhibited hypertrophy of the tunica media of the cardiac arteries, characterised by smooth muscle hypertrophy, in addition to an increase in the ratio between its thickness and the total diameter of the arteries. The frequency and severity of injuries were higher in this group, with a reduction in these changes particularly observed in animals treated with amlodipine (Aml-20mg), exercise (Exer), and exercise plus carvacrol (ExerCarv). The healthy animals, Wistar, presented normal tissue architecture and no histopathological changes.



Wistar, normotensive control group; **SHR**, hypertensive control group; **Aml-20mg**, positive control group treated with amlodipine; **Carv-20mg**, Carvacrol group; **Exer.**, Exercise group; **ExerCarv.**, Exercise + Carvacrol group.

Figure 4: Qualitative analysis of cardiac tissue in SHR

4. Discussion

Based on previous results showing the chronic and acute effects of aerobic exercise on BP reduction, as well as acute responses on hemodynamic parameters after the intravenous

and intraperitoneal administration of carvacrol in normotensive rats, it was hypothesised that combining a treatment with aerobic exercise and carvacrol could potentiate the reduction of BP and cardiovascular risk parameters in SHR. Our results point to the positive effects of all proposed interventions, with the ExerCarv group experiencing greater reductions in BP.

Hemodynamic responses observed in isolated treatments are already recurring in the literature (Dantas *et al.* 2015; Maida *et al.* 2016; Jakovljevic *et al.* 2019). In the present study, treatment with amlodipine (Aml) and carvacrol (Carv) had their most important effects on BP after the fourth week of treatment. Both amlodipine and carvacrol are antagonists of calcium channel receptors and both equally decreased vascular reactivity to different concentrations of calcium and norepinephrine, leading to a reduction in BP. Additionally, amlodipine and carvacrol were administered orogastrically with no liver and kidney toxicity, making these results an important discovery. To our knowledge, there are no existing studies that have treated hypertensive animals with carvacrol using this route of administration, demonstrating positive hemodynamic effects with the preservation of specific organ function.

The effects of carvacrol on BP are already known, although they refer to intraperitoneal and intravenous administrations in normotensive animals, leading to hypotension in treated animals (Aydin *et al.* 2007; Dantas *et al.* 2015; Feketa & Marrelli, 2015). In the research by Dantas *et al.* (2015), concentrations of 1, 5, 10, and 20 mg/kg of carvacrol were administered intravenously, with an acute dose-dependent BP reduction. These authors also demonstrated the main mechanism of carvacrol action, through in vitro experiments of vascular reactivity, observing effects mainly on voltage-dependent transient calcium receptors (Ca_v s). These data, together with those of Aydin *et al.* (2007), Peixoto *et al.* (2018), and Testai *et al.* (2016), support our results which observed reductions in vascular tension in animals treated with carvacrol.

Regarding the hemodynamic response to aerobic training, the protocol adopted was efficient to normalise the BP of hypertensive animals after four weeks. This sub chronic adaptation was also observed in the study by Jakovljevic *et al.* (2019), which compared the effects of continuous and interval aerobic training of moderate intensity for four weeks; we use the same continuous aerobic training protocol as Jakovljevic *et al.* (2019). Nevertheless, Petriz *et al.* (2015), did not observe BP regularisation after four weeks of aerobic training. This is because the pre-exercise and/or training hemodynamic condition is one of the main factors that

determine the magnitude of BP reduction after exercise and/or training (Bocalini *et al.* 2017). Petriz *et al.* (2015) noted that the animals started the training program with a baseline SBP of 170 mmHg, whereas in our work the animals started physical training with 194 mmHg (Exer) and 210 mmHg (ExerCarv) of SBP; this may be one of the possible explanations for the differences between the results found in both studies.

Our study is the first to investigate the combined effect of aerobic physical training with the concomitant use of carvacrol. The effects of this combination (ExerCarv) were sufficient to normalise BP, providing a greater magnitude of reduction than any of the other treatments. Understanding that aerobic exercise promotes systemic adaptations, such as decreased vascular tension, by reducing the influx of calcium into the cell (Qiu *et al.* 2018; Chen *et al.* 2019), and increased production of nitric oxide (Blanco-Rivero *et al.* 2013), as well as neurohormonal adaptations, via decreased sympathetic hyperactivity and increased baroreflex sensitivity (Moraes-Silva *et al.* 2010; Dias *et al.* 2017; Ferreira-Junior *et al.* 2019), it can also decrease the synthesis of angiotensin II and its vascular effects (Almeida *et al.* 2020; Magalhães *et al.* 2020; Oliveira *et al.* 2020). We believe that these systemic adaptations to exercise, combined with the reduction of vascular tension caused by the blocking calcium channels by carvacrol, may have attributed to the pronounced effects observed in the ExerCarv group. These findings are observed in studies that combined exercise with other antihypertensive drugs. Maida *et al.* (2016) compared groups of SHR who underwent 10 weeks of aerobic training combined with the use of amlodipine and enalapril, indicating normalisation of BP from the fifth week of treatment, with more effective responses for groups treated with exercise and antihypertensive drugs. They reiterated that the combination of antihypertensive drugs with exercise is more efficient in treating SAH.

In terms of the biochemical markers of cardiovascular risk, one of the first studies to demonstrate the effect of carvacrol was the research of Aristatile *et al.* (2009), which after 21 days of treatment with carvacrol (20, 40 and 80 mg/kg) observed significant reductions in markers of liver injury, bilirubin, AST, and ALT. Significant reductions in VLDL-C, LDL-C, total cholesterol, and triglycerides and considerable increases in HDL-C were also observed, having greater effects for the concentration of 20 mg/kg. In a more recent study, Abd El Aal *et al.* (2017) presented improved outcomes from a treatment combining carvacrol with simvastatin to reduce and regulate lipid parameters. They concluded that the use of carvacrol for these purposes potentiates the effect of hypolipidemic drugs, which makes it efficient and safe. Kim

et al. (2013) attribute a hepato-protective property to carvacrol. When observed in mice supplemented for 10 weeks with diets rich in lipids, carvacrol significantly reduced all biochemical parameters of liver cell damage, lipid profile, and inflammatory parameters.

The studies cited partially corroborate our findings, which also observed the preservation of liver and kidney function, as well as a reduction in atherogenic indices and some lipid parameters. However, we did not identify improvements in total cholesterol, non-HDL cholesterol, HDL-C, and VLDL-C levels in animals treated solely with carvacrol.

The administration route used by us (orally) may have provided lower plasma bioavailability of carvacrol when compared to other studies (intraperitoneal or intravenous), which could explain the more discreet effects of carvacrol on lipid modulation found in our study. In contrast, the ExerCarv group showed significant improvements in all parameters analysed. The treatment periods used in previous studies were longer than that proposed in our experimental design, which may partially explain the more attenuated changes in the lipidogram experienced by the Carv group in our research.

Dietary changes and physical exercise can modulate the metabolic profile, and this combination is widely used as an effective strategy for the treatment of diabetes, dyslipidaemia, and metabolic syndrome (Caponi *et al.* 2013; Andrade *et al.* 2016; Kazeminasab *et al.* 2017). Corroborating our findings, Kazeminasab *et al.* (2017), who trained Wistar rats for four weeks, observed an increase in HDL-C and significant reductions in LDL-C, total cholesterol (TC), TC/HDL, and LDL-C/HDL-C, as well as decrease in the activity of the nuclear transcription factor *LXR α* , which is related to the synthesis of cholesterol. Our results support the hypothesis that four weeks of moderate-intensity aerobic physical training benefits lipid modulation, regardless of carvacrol use, since there were no differences between the Exer and ExerCarv groups.

Other cardiovascular risk factors studied in this research were cardiac hypertrophy and atherogenic indexes generated from the lipidogram of these animals. The increase in the relative weight of the heart was positively correlated with SBP, showing that untreated hypertension increases cardiovascular risk, as this hypertrophy is pathological and can lead to heart failure (Locatelli *et al.* 2017). Locatelli *et al.* (2017) demonstrated similar results, showing a greater cardiac mass in the SHR group at the expense of the other treated groups. In this study, it was possible to observe the cardioprotective role attributed to aerobic physical training, since

the trained animals had less replacement of Type III collagen by Type I, at the level of the left ventricle, as well as a smaller diameter of the cardiac fibres. In our study, the histopathological analysis of cardiac perivascular tissue indicates a pattern of normality in all groups, except the SHR group, which mainly presents hypertrophy of the tunica media of the cardiac arteries. This suggests that treatment alone, with carvacrol or combined with exercise, appears to be an effective non-drug strategy for both alleviating hypertension and improving cardio protection.

The cardioprotective role of carvacrol is already known, as per Yu, Liu & Zhu (2013), who reported decreases in the infarction in Wistar rats, as well as a decrease in cardiac injury markers, CK, CKMB, cTnT, and LDH. Chen *et al.* (2017) also observed a reduction of infarction in animals treated with carvacrol, while Jamhiri *et al.* (2019) reported decreased cardiac fibrosis and cardiomyocyte size. The aforementioned studies commonly use the intraperitoneal route for the administration of carvacrol; this renders an important pharmacological characteristic to our results, which is the patient's ease of self-medication, since we use the orogastric route for treatment with carvacrol. Therefore, both carvacrol and aerobic physical training are important non-pharmacological measures capable of reducing BP and other cardiovascular risk factors.

5. Conclusion

The use of orogastric carvacrol is effective in treating hypertension in SHR. However, the interaction between aerobic exercise and carvacrol offers a larger BP reduction. We also concluded that a moderate intensity aerobic training program is more efficient in terms of controlling biochemical parameters of cardiovascular risk, regardless of carvacrol use.

6. Limitations

This study has some limitations that affect our discussions and conclusions. The indirect method of measuring BP and HR may have impaired the accuracy of HR measurements, which may have consequently prevented us from observing the treatment effects on this variable, as already demonstrated by other studies. Failure to quantify the plasma bioavailability of carvacrol is also a limiting factor; additionally, inability to quantify the rates of injury and cardiac hypertrophy in histopathological analyses limited our inferences about these results.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Dr. Antônio Romão Borges and Dr^a Marilene Borges for granting the space and equipment at the Pharmacology Laboratory of the Federal University of Maranhão.

FUNDING

Part of this research was financed by the Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão (FAPEMA), and this aid was contemplated by the public notice 00778/19.

COMPETING INTERESTS

None declared.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The animal treatment protocol was followed at the Cardiovascular Adaptations to Exercise Laboratory (LACORE); in vitro experiments, biochemical and histopathological analyses were performed at the Research and Graduate Laboratory in Pharmacology of the Federal University of Maranhão. All authors contributed to the acquisition, analysis, and interpretation of the data and drafted the work or revised it critically for important intellectual content. All authors approved the final version of the manuscript and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. All persons designated as authors qualify for authorship, and all those who qualify for authorship are listed.

ADDITIONAL INFORMATION

Declaration of Data Availability

All data that support the results in the article are available as Mean \pm SD values, as well as statistical summaries, in an Excel format. These are uploaded on the online platform of Experimental Physiology.

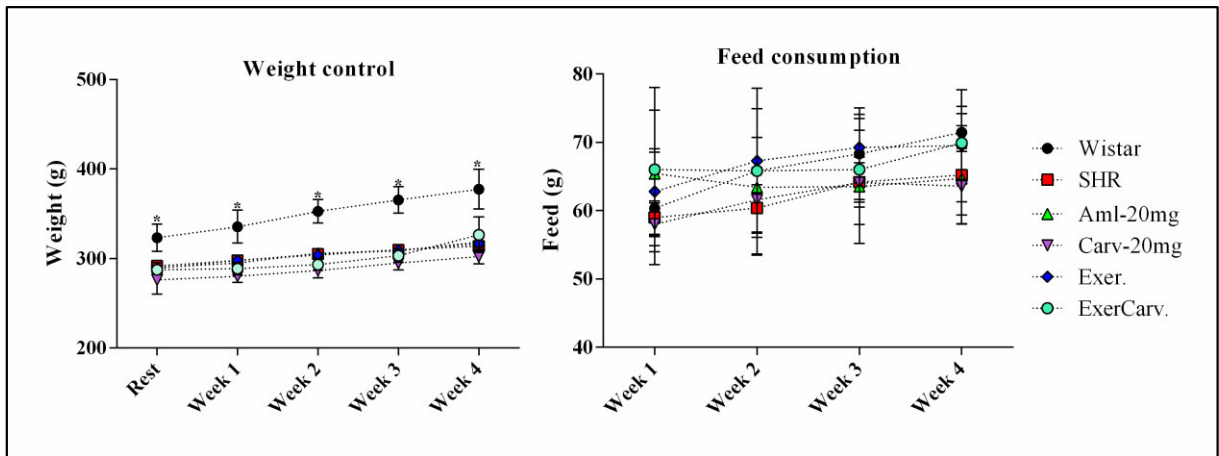
References

- Almeida JA, Motta-Santos D, Petriz BA, Gomes CPDC, Nogueira ME, Pereira RW, Araújo RC, Prestes J & Franco OL (2020). High-intensity aerobic training lowers blood pressure and modulates the renal renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension* **42**, 233-238.
- Andrade EAd, Fett CA, Vieira Junior RC & Voltarelli FA (2016). Exercício físico de moderada intensidade contribui para o controle de parâmetros glicêmicos e clearance de creatinina em pessoas com Diabetes Mellitus tipo 2. *Rev. bras. ciênc. mov* **24**, 118-126.
- Andrade EF, Silva VdO, Moura NOD, Foureaux RdC, Orlando DR, Moura RFd & Pereira LJ (2018). Physical exercise improves glycemic and inflammatory profile and attenuates progression of periodontitis in diabetic rats (HFD/STZ). *Nutrients* **10**, 1702.
- Aristatile B, Al-Numair KS, Veeramanica C & Pugalendi KV (2009). Antihyperlipidemic effect of carvacrol on D-galactosamine induced hepatotoxic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* **20**, 15-28.
- Aydin Y, Kutlay Ö, Ari S, Duman S, Uzuner K & Aydin S (2007). Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. *Planta medica* **73**, 1365-1371.
- Blanco-Rivero J, Roque FR, Sastre E, Caracuel L, Couto GK, Avendaño MS, Paula SM, Rossoni LV, Salaices M & Balfagón G (2013). Aerobic exercise training increases neuronal nitric oxide release and bioavailability and decreases noradrenaline release in mesenteric artery from spontaneously hypertensive rats. *Journal of hypertension* **31**, 916-926.
- Bocalini DS, Bergamin M, Evangelista AL, Rica RL, Pontes FL, Figueira A, Serra AJ, Rossi EM, Tucci PJF & dos Santos L (2017). Post-exercise hypotension and heart rate variability response after water-and land-ergometry exercise in hypertensive patients. *PloS one* **12**, e0180216.
- Calixto J (2000). Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of medical and Biological research* **33**, 179-189.
- Caponi PW, Lehnen AM, Pinto GH, Borges J, Markoski M, Machado UF & Schaan BDA (2013). Aerobic exercise training induces metabolic benefits in rats with metabolic syndrome independent of dietary changes. *Clinics* **68**, 1010-1017.
- Chen Y, Ba L, Huang W, Liu Y, Pan H, Mingyao E, Shi P, Wang Y, Li S & Qi H (2017). Role of carvacrol in cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through activation of MAPK/ERK and Akt/eNOS signaling pathways. *European journal of pharmacology* **796**, 90-100.
- Chen Y, Zhang Y, Shan M, Zhou Y, Huang Y & Shi L (2019). Aerobic exercise-induced inhibition of PKC α /CaV1.2 pathway enhances the vasodilation of mesenteric arteries in hypertension. *Archives of biochemistry and biophysics* **678**, 108191.
- Dantas BPV, Alves QL, de Assis KS, Ribeiro TP, de Almeida MM, de Vasconcelos AP, de Araújo DAM, de Andrade Braga V, de Medeiros IA & Alencar JL (2015). Participation

- of the TRP channel in the cardiovascular effects induced by carvacrol in normotensive rat. *Vascular pharmacology* **67**, 48-58.
- Dias CJ, Anaisse-Azoubel LM, Carneiro E, Rodrigues B, Silva-Filho AC & Irigoyen MC (2017). Comparison of Baroreflex response to acute sessions of strength and aerobic exercises in kidney recipients. *J Exerc Physiol Online* **20**.
- Feketa VV & Marrelli SP (2015). Systemic administration of the TRPV3 ion channel agonist carvacrol induces hypothermia in conscious rodents. *PloS one* **10**, e0141994.
- Ferreira-Junior NC, Ruggeri A, Silva Jr SD, Zampieri TT, Ceroni A & Michelini LC (2019). Exercise training increases GAD65 expression, restores the depressed GABAA receptor function within the PVN and reduces sympathetic modulation in hypertension. *Physiological reports* **7**, e14107.
- Harper SA, Baptista LC, Roberts LM, Wherry SJ, Boxer RS, Hildreth KL, Seay RS, Allman PH, Carter CS & Aban I (2019). Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors Combined with Exercise for Hypertensive Seniors (The ACES Trial): Study Protocol of a Randomized Controlled Trial. *Frontiers in Medicine* **6**.
- Health NIo (1985). *Guide for the care and use of laboratory animals*. National Academies.
- Jakovljevic B, Turnic TN, Jeremic N, Jeremic J, Bradic J, Ravic M, Jakovljevic VL, Jelic D, Radovanovic D & Pechanova O (2019). The impact of aerobic and anaerobic training regimes on blood pressure in normotensive and hypertensive rats: focus on redox changes. *Molecular and cellular biochemistry* **454**, 111-121.
- Jamhiri M, Dahaj FS, Astani A, Hejazian SH, Hafizibarjin Z, Ghobadi M, Moradi A, Khoradmehr A & Safari F (2019). Carvacrol Ameliorates Pathological Cardiac Hypertrophy in Both In-vivo and In-vitro Models. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR* **18**, 1380.
- Kazeminasab F, Marandi M, Ghaedi K, Esfarjani F & Moshtaghian J (2017). Effects of a 4-week aerobic exercise on lipid profile and expression of LXRA in rat liver. *Cell Journal (Yakhteh)* **19**, 45.
- Larsen MK & Matchkov VV (2016). Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina* **52**, 19-27.
- Locatelli J, Paiva NC, Carvalho SH, Lavorato VN, Gomes LHL, Castro QJ, Grabe-Guimarães A, Carneiro CM, Natali AJ & Isoldi MC (2017). Swim training attenuates the adverse remodeling of LV structural and mechanical properties in the early compensated phase of hypertension. *Life sciences* **187**, 42-49.
- Magalhães DM, Nunes-Silva A, Rocha GC, Vaz LN, de Faria MHS, Vieira ELM, Rocha NP & e Silva ACS (2020). Two protocols of aerobic exercise modulate the counter-regulatory axis of the renin-angiotensin system. *Helicon* **6**, e03208.
- Maida KD, Vieira S, Gastaldi AC, Bezerra VB, De Araujo JE & de Souza HC (2016). Amlodipine and enalapril promote distinct effects on cardiovascular autonomic control in spontaneously hypertensive rats: the role of aerobic physical training. *Journal of hypertension* **34**, 2383-2392.

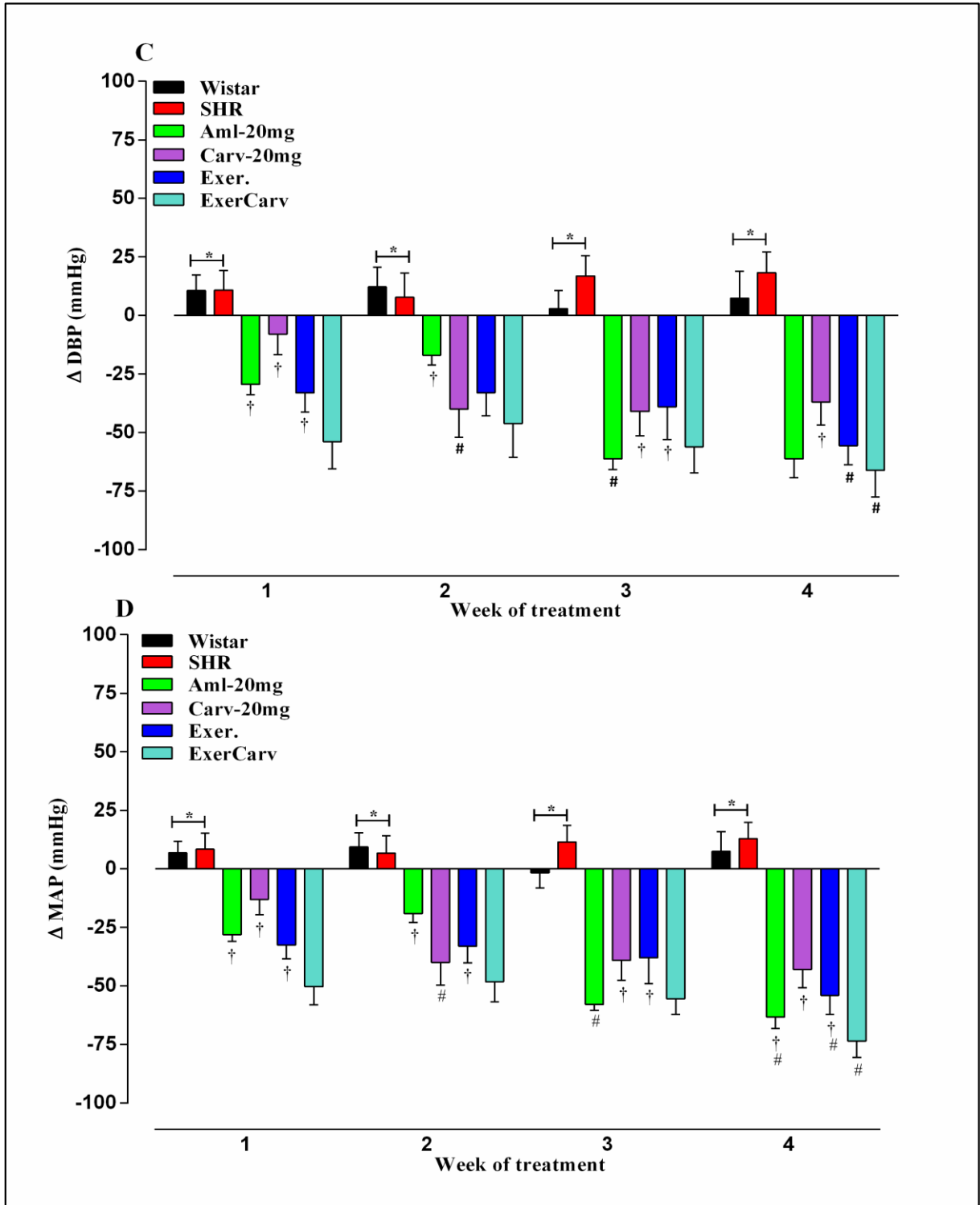
- Mills KT, Bundy JD, Kelly TN, Reed JE, Kearney PM, Reynolds K, Chen J & He J (2016). Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. *Circulation* **134**, 441-450.
- Moraes-Silva I, De La Fuente R, Mostarda C, Rosa K, Flues K, Damaceno-Rodrigues N, Caldini E, De Angelis K, Krieger E & Irigoyen M (2010). Baroreflex deficit blunts exercise training-induced cardiovascular and autonomic adaptations in hypertensive rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **37**, e114-e120.
- Oliveira PRd, Oliveira PBd, Rossignoli PdS, Spadella MA & Chies AB (2020). Exercise training attenuates angiotensin II-induced vasoconstriction in the aorta of normotensive but not hypertensive rats. *Experimental Physiology* **105**, 732-742.
- Qiu F, Liu X, Zhang Y, Wu Y, Xiao D & Shi L (2018). Aerobic exercise enhanced endothelium-dependent vasorelaxation in mesenteric arteries in spontaneously hypertensive rats: the role of melatonin. *Hypertension Research* **41**, 718-729.
- Roque FR, Briones AM, García-Redondo AB, Galán M, Martínez-Revelles S, Avendaño MS, Cachofeiro V, Fernandes T, Vassallo DV & Oliveira EM (2013). Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. *British journal of pharmacology* **168**, 686-703.
- Testai L, Chericoni S, Martelli A, Flamini G, Breschi MC & Calderone V (2016). Voltage-operated potassium (Kv) channels contribute to endothelium-dependent vasorelaxation of carvacrol on rat aorta. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **68**, 1177-1183.
- Vera R & Chane-Ming J (1999). Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chemistry* **66**, 143-145.
- Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, De Simone G & Dominiczak A (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European heart journal* **39**, 3021-3104.
- Ye F, Wu Y, Chen Y, Xiao D & Shi L (2019). Impact of moderate-and high-intensity exercise on the endothelial ultrastructure and function in mesenteric arteries from hypertensive rats. *Life sciences* **222**, 36-45.

COMPLEMENTARY RESULTS



Wistar, normotensive control group; **SHR**, hypertensive control group; **Aml**, positive control group treated with amlodipine; **Carv**, Carvacrol group; **Exer.**, Exercise group; **ExerCarv.**, Exercise + Carvacrol group; *, compared to the other groups, Two Way ANOVA, $p \leq 0.05$.

Figure: Effect of Treatment on Weight Variation and Feed Consumption



Mean \pm SD; A, absolute heart rate values; C, delta (Δ) values of DBP; DBP, diastolic blood pressure; D, delta (Δ) values of MAP; MAP, mean arterial pressure; Wistar, normotensive control group; SHR, hypertensive control group; Aml-20mg, positive control group treated with amlodipine; Carv-20mg, Carvacrol group; Exer., Exercise group; ExerCarv., Exercise + Carvacrol group; # compared to the previous week; * compared to all groups; † compared to ExerCarv group; two-way ANOVA repeated measures, $p \leq 0.05$.

Figure: Concentration-response curve for norepinephrine and calcium in mesenteric arteries of SHR

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora nossos resultados tenham demonstrado que quatro semanas de tratamento com carvacrol tenha sido suficiente para normalizar a pressão arterial, o mesmo resultado não foi observado na modulação dos parâmetros lipídicos, levantando o questionamento de que o tempo de tratamento ou a dose (20 mg/kg) seriam insuficientes para este fim. Contudo, o treinamento aeróbio tanto potencializou a redução da pressão arterial nos animais tratados com carvacrol, quanto modulou todas as variáveis lipídicas analisadas.

Em relação aos efeitos sobre a pressão arterial e remodelamento cardíaco, são necessários mais estudos que possam investigar o efeito da associação entre treinamento aeróbio e carvacrol sobre a sensibilidade barorreflexa e sobre parâmetros quantitativos de hipertrofia cardíaca, bem como investigação molecular das vias de remodelamento cardíaco, verificando principalmente se esse tratamento atenua a atividade do sistema renina-angiotensina, através da redução da expressão de AT₁R (receptor para angiotensina II) e síntese de Ang II, o que poderia diminuir a proliferação de cardiomiócitos, bastante observada em modelos crônicos de hipertensão.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos até o presente momento, apontam principalmente para um efeito vascular do carvacrol que quando combinado ao treinamento aeróbio, juntos potencializam a redução da pressão arterial. Contudo, a fim de entender melhor essa resposta pressórica aumentada no grupo ExerCarv, estamos trabalhando no alcance dos seguintes objetivos:

- ✓ Analisar o efeito do carvacrol, de maneira isolada ou combinada ao exercício, sobre a expressão gênica de receptores AT₁ e Mas, em tecido cardíaco e renal;
- ✓ Investigar o efeito do carvacrol, de maneira isolada ou combinada ao exercício, sobre a atividade do sistema renina-angiotensina, através de dosagens séricas de angiotensina II, angiotensina (1-7) e ECA.

Após o processo de dosagem desses hormônios e posterior análise estatística, concluiremos com a redação e submissão de mais dois artigos.

REFERÊNCIAS

ABD EL AAL HA; AHMED LA; HASSAN WA; FAWZY HM; MOAWAD H. Combination of carvacrol with simvastatin improves the lipid-lowering efficacy and alleviates simvastatin side effects. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31: e21981; 2017

ACSM. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Lippincott Williams & Wilkins, 2014. 1469826666.

ADAPALA RK; THOPPIL RJ; LUTHER DJ; PARUCHURI S; MESZAROS JG; CHILIAN WM; THODETI CK. TRPV4 channels mediate cardiac fibroblast differentiation by integrating mechanical and soluble signals. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 54: 45-52; 2013

AHMED MAE. Neuroprotective effects of idebenone against pilocarpine-induced seizures: modulation of antioxidant status, DNA damage and Na⁺, K⁺-ATPase activity in rat hippocampus. *Neurochemical research*, 39: 394-402; 2014

ANDERSEN A. Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol. *International journal of toxicology*, 25: 29-127; 2006

ARISTATILE B; AL-NUMAIR KS; VEERAMANIA C; PUGALENDI KV. Antihyperlipidemic effect of carvacrol on D-galactosamine induced hepatotoxic rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 20: 15-28; 2009

ARUNASREE K. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine*, 17: 581-588; 2010

AYDIN Y; KUTLAY Ö; ARI S; DUMAN S; UZUNER K; AYDIN S. Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. *Planta medica*, 73: 1365-1371; 2007

BARANAUSKAITE J; KUBILIENE A; MARKSA M; PETRIKAITE V; VITKEVIČIUS K; BARANAUSKAS A; BERNATONIENE J. The influence of different oregano species on the antioxidant activity determined using HPLC postcolumn DPPH method and anticancer activity of carvacrol and rosmarinic acid. *BioMed research international*, 2017: 2017

BARAUNA VG; MAGALHAES FC; KRIEGER JE; OLIVEIRA EM. AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295: R381-R387; 2008

BARBANTI VJ. Teoria e prática do treinamento esportivo. Editora Blucher, 2017. 8521217420.

BARROSO WKS; ISSA AFC; NASCIMENTO BR; CORREA FILHO H; VIEIRA MLC; RODRIGUES CS; BORTOLOTTI LA; GOMES MM. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial-2020. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 2020

BELLÉS M; ALONSO V; RONCALÉS P; BELTRÁN JA. Sulfite-free lamb burger meat: antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99: 464-472; 2019

BOCALINI DS; BERGAMIN M; EVANGELISTA AL; RICA RL; PONTES FL; FIGUEIRA A; SERRA AJ; ROSSI EM; TUCCI PJF; DOS SANTOS L. Post-exercise hypotension and heart rate variability response after water-and land-ergometry exercise in hypertensive patients. *PloS one*, 12: e0180216; 2017

BORGES A; PEREIRA J; CARDOSO M; ALVES J; LUCENA E. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14: 656-665; 2012

BRAGA MM; SOARES FC; DOS SANTOS COSTA A; DESLANDES AC; HARDMAN CM. Efeito do exercício físico nas funções cognitivas em idosos depressivos: revisão sistemática. *ConScientiae saúde*, 18: 141-148; 2019

BRANCO FDC; VIANNA JM; DE LIMA JRJRBDCEM. Frequência cardíaca na prescrição de treinamento de corredores de fundo. 12: 75-80; 2008

BRANT LCC; NASCIMENTO BR; PASSOS VMA; DUNCAN BB; BENSENÕR IJM; MALTA DC; SOUZA MDFMD; ISHITANI LH; FRANÇA E; OLIVEIRA MS. Variações e diferenciais da mortalidade por doença cardiovascular no Brasil e em seus estados, em 1990 e 2015: estimativas do Estudo Carga Global de Doença. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 20: 116-128; 2017

BRUM PC; FORJAZ CDM; TINUCCI T; NEGRÃO CEJRPEF. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. 18: 21-31; 2004

CABRAL LL; NAKAMURA FY; STEFANELLO JM; PESSOA LC; SMIRMAUL BP; PEREIRA G. Initial validity and reliability of the Portuguese Borg rating of perceived exertion 6-20 scale. *Measurement in Physical Education and Exercise Science*, 24: 103-114; 2020

CALZERRA NTM; GOMES CF; DE QUEIROZ TM. Aspectos fisiopatológicos da hipertensão arterial dependente de angiotensina II: revisão integrada da literatura. *Acta Brasiliensis*, 2: 69-73; 2018

CAPALONGA L. Capacidade funcional em ratos com insuficiência cardíaca: caracterização do modelo de infarto do miocárdio e efeitos da estimulação elétrica neuromuscular e da terapia com diodo emissor de luz. 2014

CAPUTO F; OLIVEIRA MFMD; GRECO CC; DENADAI BJSRBCDH. Exercício aeróbio: Aspectos bioenergéticos, ajustes fisiológicos, fadiga e índices de desempenho. 11: 94-102; 2009

CAREY RM; WHELTON PK. Prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: synopsis of the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension Guideline. *Annals of internal medicine*, 168: 351-358; 2018

CARVALHO MHC; NIGRO D; LEMOS VS; TOSTES RDCA; FORTES ZB. Hipertensão arterial: o endotélio e suas múltiplas funções. *Rev Bras Hipertens*, 8: 76-88; 2001

CARVALHO RSTD; PIRES CMR; JUNQUEIRA GC; FREITAS D; MARCHI-ALVES LM. Hypotensive response magnitude and duration in hypertensives: continuous and interval exercise. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 104: 234-241; 2015

CARVALHO TD; MILANI M; FERRAZ AS; SILVEIRA ADD; HERDY AH; HOSSRI CAC; SILVA CGS; ARAÚJO CGSD; ROCCO EA; TEIXEIRA JAC. Diretriz Brasileira de Reabilitação Cardiovascular–2020. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 114: 943-987; 2020

CHAMI N; CHAMI F; BENNIS S; TROUILLAS J; REMMAL A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 8: 217-226; 2004

CHEN Y; BA L; HUANG W; LIU Y; PAN H; MINGYAO E; SHI P; WANG Y; LI S; QI H. Role of carvacrol in cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through activation of MAPK/ERK and Akt/eNOS signaling pathways. *European journal of pharmacology*, 796: 90-100; 2017

CHIEN KR; KNOWLTON KU; CHIEN S. Regulation of cardiac gene expression during myocardial growth and hypertrophy: molecular studies of an adaptive physiologic response. *The FASEB Journal*, 5: 3037-3064; 1991

CLERICO A; RECCHIA FA; PASSINO C; EMDIN MJAJOP-H; PHYSIOLOGY C. Cardiac endocrine function is an essential component of the homeostatic regulation network: physiological and clinical implications. 290: H17-H29; 2006

CORREIA SDJ; DAVIDI JM; SILVA EPD; DAVID JP; LOPES LM; GUEDES MLS. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das folhas de *Tapirira guianensis*. *Química Nova*, 31: 2056-2059; 2008

DANTAS BPV; ALVES QL; DE ASSIS KS; RIBEIRO TP; DE ALMEIDA MM; DE VASCONCELOS AP; DE ARAÚJO DAM; DE ANDRADE BRAGA V; DE MEDEIROS IA; ALENCAR JL. Participation of the TRP channel in the cardiovascular effects induced by carvacrol in normotensive rat. *Vascular pharmacology*, 67: 48-58; 2015

DE BRITO LC; REZENDE RA; DA SILVA JUNIOR ND; TINUCCI T; CASARINI DE; CIPOLLANETO J; FORJAZ CL. Post-exercise hypotension and its mechanisms differ after morning and evening exercise: a randomized crossover study. *PloS one*, 10: e0132458; 2015

DE MATOS SP; TEIXEIRA HF; DE LIMA ÁA; VEIGA-JUNIOR VF; KOESTER LS. Essential oils and isolated terpenes in nanosystems designed for topical administration: A review. *Biomolecules*, 9: 138; 2019

DIAS CJM. Estudo do carvacrol sobre as variáveis de mecanismos hemodinâmicos e periféricos na ação cardiovascular em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Orientador: MOSTARDA CT. 2020. 137 f. (Doutorado) - Programa de pós-graduação rede nordeste de biotecnologia, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão.

EARLEY S; GONZALES AL; GARCIA ZI. A dietary agonist of transient receptor potential cation channel V3 elicits endothelium-dependent vasodilation. *Molecular pharmacology*, 77: 612-620; 2010

FAZAN JR R; SILVA VD; SALGADO HCJRBH. Modelos de hipertensão arterial. 8: 19-29; 2001

FELIPE LO; BICAS JL. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. *Química Nova na Escola*, 39: 120-130; 2017

FREITAS JS; CARNEIRO-JUNIOR MA; FRANCO FSC; REZENDE LS; SANTOS ASD; MAIA HDO; MARINS JCB; NATALI AJJRBDMDE. Treinamento aeróbio em natação melhora a resposta de parâmetros metabólicos de ratos durante teste de esforço. 16: 134-138; 2010

GARCIARENA CD; PINILLA OA; NOLLY MB; LAGUENS RP; ESCUDERO EM; CINGOLANI HE; ENNIS IL. Endurance training in the spontaneously hypertensive rat: conversion of pathological into physiological cardiac hypertrophy. *Hypertension*, 53: 708-714; 2009

GIESTAS A; PALMA I; RAMOS M. Sistema renina-angiotensina-Aldosterona e sua modulação farmacológica. *Acta Médica Portuguesa*, 677-688; 2010

GOLDBLATT H; LYNCH J; HANZAL RF; SUMMERVILLE WWJTJOEM. Studies on experimental hypertension: I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. 59: 347-379; 1934

GUYTON JH. Tratado de fisiología médica. Elsevier Health Sciences, 2017. 1176 p. 8480865490.

HAGAN E; HANSEN W; FITZHUGH O; JENNER P; JONES W; TAYLOR JM; LONG EL; NELSON A; BROUWER J. Food flavourings and compounds of related structure. II. Subacute and chronic toxicity. *Food and cosmetics toxicology*, 5: 141-157; 1967

HALL JE. Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. Elsevier Health Sciences, 2011. 8480865490.

HASHIMOTO NY; FERNANDES T; SOCI U; OLIVEIRA EMD. Determinantes moleculares da hipertrofia cardíaca induzida por diferentes volumes de treinamento aeróbio. *Rev Bras Cardiol*, 24: 153-162; 2011

HERING H. Die Karotissinusreflexe auf Herz und Gefasse. Dresden-Leipzig, Steinkopff, 1927

HOLLENBERG SM; LINDENFELD J; MASOUDI FA; MCBRIDE PE; PETERSON PN; STEVENSON LW; WESTLAKE C; AL-KHATIB SM; AACC BB; CIGARROA JE. 2016 ACC/AHA/HFSA Focused Update on New Pharmacological Therapy for Heart Failure: An Update of the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure. *Journal of cardiac failure*, 22: 2016

IZUMO S; NADAL-GINARD B; MAHDAVI V. Protooncogene induction and reprogramming of cardiac gene expression produced by pressure overload. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85: 339-343; 1988

JAMHIRI M; DAHAJ FS; ASTANI A; HEJAZIAN SH; HAFIZIBARJIN Z; GHOBADI M; MORADI A; KHORADMEHR A; SAFARI F. Carvacrol Ameliorates Pathological Cardiac Hypertrophy in Both In-vivo and In-vitro Models. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 18: 1380; 2019

KAZEMINASAB F; MARANDI M; GHAEDI K; ESFARJANI F; MOSHTAGHIAN J. Effects of a 4-week aerobic exercise on lipid profile and expression of LXR α in rat liver. *Cell Journal (Yakhteh)*, 19: 45; 2017

KIMURA K; YAMAOKA M; KAMISAKA Y. Inhibition of lipid accumulation and lipid body formation in oleaginous yeast by effective components in spices, carvacrol, eugenol, thymol, and piperine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54: 3528-3534; 2006

KRIEGER E. Hipertensão arterial: bases fisiopatológicas e prática clínica. São Paulo: Editora Atheneu, 2013

LAVIE CJ; OZEMEK C; CARBONE S; KATZMARZYK PT; BLAIR SN. Sedentary behavior, exercise, and cardiovascular health. *Circulation research*, 124: 799-815; 2019

LEHTIMÄKI T; UUSITALO H; COLLABORATION NRF. Contributions of mean and shape of blood pressure distribution to worldwide trends and variations in raised blood pressure: a pooled analysis of 1018 population-based measurement studies with 88.6 million participants. 2018

LI W; GU H; TEO KK; BO J; WANG Y; YANG J; WANG X; ZHANG H; SUN Y; JIA X. Hypertension prevalence, awareness, treatment, and control in 115 rural and urban communities involving 47 000 people from China. *Journal of hypertension*, 34: 39-46; 2016

LIMA AHRDA; FORJAZ CLDM; SILVA GQDM; MENÊSES AL; SILVA AJMR; RITTI-DIAS RMJABDC. Efeito agudo da intensidade do exercício de força na modulação autonômica cardíaca pós-exercício. 96: 498-503; 2011

LIMA DBDS; MOREIRA TMM; BORGES JWP; RODRIGUES MTP. Associação entre adesão ao tratamento e tipos de complicações cardiovasculares em pessoas com hipertensão arterial. *Texto & Contexto-Enfermagem*, 25: 2016

LIU S; SONG M; YUN W; LEE J; KIM H; CHO J. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. *Poultry Science*, 2018

LIU S; SONG M; YUN W; LEE J; KIM H; CHO J. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. *Poultry science*, 98: 2026-2033; 2019

LUPU AN; MAXWELL MH; KAUFMAN JJ; WHITE FJ. Experimental unilateral renal artery constriction in the dog. *30: 567-574; 1972*

MAIDA KD; VIEIRA S; GASTALDI AC; BEZERRA VB; DE ARAUJO JE; DE SOUZA HC. Amlodipine and enalapril promote distinct effects on cardiovascular autonomic control in spontaneously hypertensive rats: the role of aerobic physical training. *Journal of hypertension*, 34: 2383-2392; 2016

MALACHIAS MVB; BARBOSA E; MARTIM J; ROSITO G; TOLEDO J; PASSARELLI JÚNIOR O. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 14—Crise Hipertensiva. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 107: 79-83; 2016

MALACHIAS MVB; PLAVNIK F; MACHADO C; MALTA D; SCALA L; FUCHS S. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial: Capítulo 1—Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 107: 1-6; 2016

MARIN-GREZ M; FLEMING J; STEINHAUSEN MJN. Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *324: 473-476; 1986*

MARUHASHI T; KAJIKAWA M; KISHIMOTO S; MATSUI S; HASHIMOTO H; TAKAEO Y; AIBARA Y; YUSOFF FM; HIDAKA T; CHAYAMA K. Relationships Between Calcium Channel Blockers and Vascular Function Tests. *American journal of hypertension*, 32: 640-648; 2019

MCARDLE WD; KATCH FI; KATCH VL. *Fisiologia do exercício*. Wolters Kluwer Health, 2016. 8416353107.

MCOMIE W; ANDERSON HH; ESTESS F. Comparative toxicity of certain t-butyl substituted cresols and xylenols. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 38: 366-369; 1949

MEDEIROS PD; CAPISTRANO R; ZEQUINÃO MA; SILVA SAD; BELTRAME TS; CARDOSO FL. Exergames como ferramenta de aquisição e desenvolvimento de habilidades e capacidades motoras: uma revisão sistemática. *Revista Paulista de Pediatria*, 35: 464-471; 2017

MELO BLD. *Exercício Físico Aeróbio Atenua O Remodelamento Ventricular Direito Em Ratos Submetidos A Bandagem Da Artéria Pulmonar*. 2017

MENEZES HS; CORACINI JCD; KEPLER KC; FRANTZ E; ABEGG MP; CORREA CA; CIRINO SLMBJRBDMDE. Ácido Láctico como indicativo de aptidão física em ratos. 16: 210-214; 2010

MILLS KT; BUNDY JD; KELLY TN; REED JE; KEARNEY PM; REYNOLDS K; CHEN J; HE J. Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. *Circulation*, 134: 441-450; 2016

MOREIRA VM. Treinamento de intensidade moderada realizado em diferentes idades atenua o crescimento tumoral em ratos mediante sensibilização à insulina. 2017

MORGANROTH J; MARON BJ; HENRY WL; EPSTEIN SE. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Annals of internal medicine*, 82: 521-524; 1975

MOURA CTM. Envolvimento de vias capacitativas de cálcio nos efeitos inibitórios do extrato padronizado de *Justicia pectoralis* na hiperreatividade traqueal induzida por desafio antigênico. 2016

NHU-TRANG T-T; CASABIANCA H; GRENIER-LOUSTALOT M-F. Deuterium/hydrogen ratio analysis of thymol, carvacrol, γ -terpinene and p-cymene in thyme, savory and oregano essential oils by gas chromatography–pyrolysis–isotope ratio mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1132: 219-227; 2006

OIGMAN W; FRITSCH MT. Antagonistas de canais de cálcio. *HiperAtivo*, 5: 104-109; 1998

OKAMOTO K; AOKI KJJCJ. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. 27: 282-293; 1963

OPARIL S; ACELAJADO MC; BAKRIS GL; BERLOWITZ DR; CÍFKOVÁ R; DOMINICZAK AF; GRASSI G; JORDAN J; POULTER NR; RODGERS A; WHELTON PK. Hypertension. *Nat Rev Dis Primers*, 4: 18014; 2018

PEREIRA NR. Efeito vasodilatador de um hidrolisado de soro de leite (Whey protein) após digestão in vitro: importância do endotélio e do óxido nítrico. 2019

PICON RV; DIAS-DA-COSTA JS; FUCHS FD; OLINTO MTA; CHOUDHRY NK; FUCHS SC. Hypertension management in Brazil: usual practice in primary care—a meta-analysis. *International journal of hypertension*, 2017: 2017

PONTES JÚNIOR FL; PRESTES J; LEITE RD; RODRIGUEZ D. Influência do treinamento aeróbio nos mecanismos fisiopatológicos da hipertensão arterial sistêmica. *Revista Brasileira de Ciências do Esporte*, 32: 229-244; 2010

PRATA PR. A transição epidemiológica no Brasil. *Cadernos de saúde pública*, 8: 168-175; 1992

REIS JH; GEBERT RR; BARRETA M; BALDISSERA MD; DOS SANTOS ID; WAGNER R; CAMPIGOTTO G; JAGUEZESKI AM; GRIS A; DE LIMA JL. Effects of phytogetic feed additive based on thymol, carvacrol and cinnamic aldehyde on body weight, blood parameters and environmental bacteria in broilers chickens. *Microbial pathogenesis*, 125: 168-176; 2018

RONDON MUPB; FORJAZ CLDM; NUNES N; AMARAL SLD; BARRETTO ACP; NEGRÃO CEJABDC. Comparação entre a prescrição de intensidade de treinamento físico baseada na avaliação ergométrica convencional e na ergoespirométrica. 70: 159-166; 1998

ROPKE LM; SOUZA AG; DE MAGALHÃES BERTOZ AP; ADRIAZOLA MM; ORTOLAN EVP; MARTINS RH; LOPES WC; RODRIGUES CDB; BIGLIAZZI R; WEBER SAT. Efeito da atividade física na qualidade do sono e qualidade de vida: revisão sistematizada. *Archives of Health Investigation*, 6: 2018

SAMSON WK; AGUILA MC; MARTINOVIC J; ANTUNES-RODRIGUES J; NORRIS MJP. Hypothalamic action of atrial natriuretic factor to inhibit vasopressin secretion. 8: 449-454; 1987

SANTHIAGO V; SILVA ASRD; GUGLIELMO LGA; HIGINO WPJRBDMDE. Influência da forma de indução à acidose na determinação da intensidade de lactato mínimo em corredores de longa distância. 14: 393-398; 2008

SANTOS DDS; COSTA TKG. Efeito agudo de diferentes protocolos de exercício resistido sobre o controle autonômico cardíaco. 2020

SANTOS MR; MOREIRA FV; FRAGA BP; SOUZA DPD; BONJARDIM LR; QUINTANS-JUNIOR LJ. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21: 764-771; 2011

SARZANI R; MARCUCCI P; SALVI F; BORDICCHIA M; ESPINOSA E; MUCCI L; LORENZETTI B; MINARDI D; MUZZONIGRO G; DESSI-FULGHERI PJIJO. Angiotensin II stimulates and atrial natriuretic peptide inhibits human visceral adipocyte growth. 32: 259-267; 2008

SILVA CDC. Receptor Mas contribui para o desenvolvimento do remodelamento cardíaco. 2016

SILVA CRDM; BEZERRA J; SOARES FC; MOTA J; BARROS MVGD; TASSITANO RMJCDSP. Percepção de barreiras e facilitadores dos usuários para participação em programas de promoção da atividade física. 36: e00081019; 2020

SILVERTHORN DU. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. Artmed editora, 2010. 8582714041.

SILVERTHORN DU. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. 7ª ed. Artmed editora, 2017. 960 p. 8582714041.

STEDING K; ENGBLOM H; BUHRE T; CARLSSON M; MOSÉN H; WOHLFART B; ARHEDEN H. Relation between cardiac dimensions and peak oxygen uptake. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, 12: 8; 2010

THOMAS CJ; RANKIN AJ; HEAD GA; WOODS RLJH. ANP enhances bradycardic reflexes in normotensive but not spontaneously hypertensive rats. 29: 1126-1132; 1997

THOMPSON JD; CHALCHAT J-C; MICHEA A; LINHART YB; EHLERS B. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 859-880; 2003

TOUYZ RM; MONTEZANO AC. Angiotensin-(1-7) and vascular function: the clinical context. *Am Heart Assoc* 2018.

VERA R; CHANE-MING J. Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chemistry*, 66: 143-145; 1999

VIGITEL B. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico.[Internet]. <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/abril/15/PPT-Vigitel-2014-.pdf>. Acesso em, 21: 2018; 2014

VIGITEL B. Saúde Suplementar: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Agência Nacional de Saúde Suplementar.–Brasília: Ministério da Saúde, 2018

WAIB PH; BURINI RC. Fundamentos bioquímicos da modulação do tono vascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 401-406; 1991

WANG C; YU T; FUJITA T; KUMAMOTO E. Moieties of plant-derived compounds responsible for outward current production and TRPA1 activation in rat spinal substantia gelatinosa. *Pharmacological Reports*, 71: 67-72; 2019

WHELTON PK; CAREY RM; ARONOW WS; CASEY DE; COLLINS KJ; DENNISON HIMMELFARB C; DEPALMA SM; GIDDING S; JAMERSON KA; JONES DWJJOTACOC. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. 71: e127-e248; 2018

WILLIAMS B; MANCIA G; SPIERING W; AGABITI ROSEI E; AZIZI M; BURNIER M; CLEMENT DL; COCA A; DE SIMONE G; DOMINICZAK A. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European heart journal*, 39: 3021-3104; 2018

YAMORI YJHOH. Development of the spontaneously hypertensive rat (SHR) and of various spontaneous rat models, and their implications. 4: 224-239; 2013

YOSHIBAYASHI M; SAITO Y; NAKAO KJEJOE. Brain natriuretic peptide versus atrial natriuretic peptide—physiological and pathophysiological significance in children and adults: a review. 135: 265-268; 1996

YU W; LIU Q; ZHU S. Carvacrol protects against acute myocardial infarction of rats via anti-oxidative and anti-apoptotic pathways. Biological and Pharmaceutical Bulletin, b12-00948; 2013

ANEXO

Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS-
CEUA**



CIAEP: 01.0341.2014

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada: **“EFEITO DO TRATAMENTO COM CARVACROL E SUA INTERAÇÃO COM EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO SOBRE AS VARIÁVEIS CARDIOVASCULARES, AUTÔNOMICAS E HEMODINÂMICAS EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS (SHR)”**, Processo nº

23115.004102/2019-21, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Natalino Salgado Filho** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão.

FINALIDADE	() ENSINO (X) PESQUISA () EXTENSÃO
Vigência da autorização	30/06/2019 a 30/07/2020
Espécie/linhagem/raça	Ratos – Wistar – <i>Rattus norvegicus</i>
Nº de animais	100 animais (20 Wistar e 80 SHR)
Peso/Idade	250 a 350g/60 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UFMA

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFMA

ANEXO

Carta de aceite para publicação do artigo original no periódico Experimental Physiology

EP-RP-2020-089235R2 - Accepted for publication in Experimental Physiology  

Caixa de entrada x

Experimental Physiology Publications Office seg., 15 de fev. 09:25 (há 5 dias) ★ ↶ ⋮

para mim, gthomas4, carlosdias.ef, vicensilma, aasandra09, daiane1810, vinicius.mendes12, mario.sevilio, cristiano.mostarda, romao.antonio, rachelmeloribe ↵

 inglês ▾ > português ▾ [Traduzir mensagem](#) [Desativar para: inglês](#) x

15-Feb-2021

EP-RP-2020-089235R2
Effect of treatment with carvedilol and aerobic training on cardiovascular function in spontaneously hypertensive rats
Herikson Araujo Costa, Carlos José Dias, Vicenilma de Andrade Martins, Sandra Araujo, Daiane Silva, Vinicius Santos Mendes, Mário Oliveira Junior, Cristiano Teixeira Teixeira Mostarda, Antônio Romão, Rachel Ribeiro, and Natalino Salgado Filho

Dear Professor Costa

We are pleased to inform you that the above manuscript has been accepted for publication in Experimental Physiology.

ANEXO

Resultado do artigo escolhido pelo editor chefe para compor a capa do periódico
Experimental Physiology

Experimental Physiology

Translation and Integration

Volume 106/Issue 4/
2021




EDITORIAL BOARD

EDITOR-IN-CHIEF
Mike Tipton *Nottingham, UK*

REVIEWS EDITOR
Jeremy Ward *London, UK*

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF UK
Michael White *Birmingham, UK*

SENIOR EDITORS
Gresh Aguilera *Berkeley, CA, USA*
Philip Atherton *Nottingham, UK*
Damian Bailey *Athens, Greece*
Carolyn Barron *Auckland, NZ*
R. Matthew Brothers *Arlington, TX, USA*
Joseph Bruun *Stockholm, Sweden*
Rebecca Campbell *Dunedin, New Zealand*
Katherine Denton *Melbourne, Australia*
David Edwards *Newark, DE, USA*
Federica Formont *London, UK*
Glen Foster *Kelowna, Canada*

REVIEWING EDITORS
Dana Almbach *Dunsmuir, Seattle, WA, USA*
Markus Amann *Sub Lake City, UT, USA*
Matthew Bailey *Edinburgh, UK*
Jill Barone *Madison, WI, USA*
Tracy Baynard *Michigan, MI, USA*
Martin Behrens *Bonn, Germany*
Hayati Chediger *Cambridge, UK*
James Clark *London, UK*
Silvia Canda *Edina, Minnesota, USA*
Joseph Costello *Plymouth, UK*
David José de Almeida *Montevideo, Uruguay*
Ellen Dawson *Liverpool, UK*
Colleen Deane *Exeter, UK*
Kate Elliott *Exeter, UK*
Andrés Feller *Buenos Aires, Argentina*
Richard Ferguson *Leighborough, UK*
Ignat Fernandez *Vienna, Austria*
James Fisher *Birmingham, UK*
Brian Galbraith *San Jose, CA, USA*
Ryan Gilliland *Kelowna, Canada*
Caroline Jelley *London, UK*
Matthew Kay *Washington, DC, USA*

STATISTICS CONSULTANT
Alan Hurren *Middleborough, UK*

CONSULTANT EDITORS
Richard Harden *Boston, UK*
Nic Green *Bedfordshire, UK*
Julie Green *Salisbury, UK*

MANAGING EDITOR
Sally Howell *(s.howell@physoc.org)*

DEPUTY MANAGING EDITOR
Alex Stewart

EDITORIAL OFFICE
The Physiological Society
Hedgley Huxley House
30 Farringdon Lane, Clerkenwell
London EC1R 3AW

CONNECTIONS EDITOR
Pran Kumar *Birmingham, UK*

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF USA
Paul Fadel *Arlington, TX, USA*

Mark Fry *Los Angeles, CA, USA*
James Jones *Dublin, Ireland*
Jessie Murray *Edinburgh, UK*
Julien Ochala *Copenhagen, Denmark*
Shigehiko Ogoh *Kanagawa, Japan*
Karl D. O'Halloran *Coventry, Ireland*
Pai Chen Connie Qin *Tokyo, Japan*
Jason Peart *Gold Coast, Australia*
Bill Sheel *Moncton, Canada*
Gail Thomas *Hyderabad, IN, USA*
Luana Vianna *Brazilia, Brazil*
Jun Wang *San Diego, CA, USA*
Daniel Wilkinson *Nottingham, UK*

James Lang *Alice, Iowa*
Julian Liu *Rochester, NY, USA*
Pam McIlroy *Auckland, New Zealand*
Louise Naylor *Coventry, Australia*
Gary Pierce *Iowa City, IA, USA*
Peter Rasmussen *Copenhagen, Denmark*
R. Scott Rector *Columbia, MO, USA*
Leah Bernick *Gainesville, FL, Florida*
Harry B. Rossier *Los Angeles, CA, USA*
Fadi Salameh *Richmond, VA, USA*
Kecora Singh *Chennai, Australia*
Lydia Simpson *Dunabrook, Austria*
Scott Smith *Dallas, TX, USA*
Nina Stachniss *New Haven, CT, USA*
Nathaniel Stenecamp *Nottingham, UK*
Ari Takakura *São Paulo, Brazil*
Can Ozan Tan *Boston, MA, USA*
Hanyang Tang *Jacobs, NJ, USA*
Dick Thijssen *Nijmegen, The Netherlands*
Richard Wainford *Boston, MA, USA*
Matthew White *New Orleans, LA, USA*
Takashi Yamada *Sapporo, Japan*
Kui Yang *Guangzhou, China*
Song Yan *Melbourne, Australia*
Tangqing Zhao *Beijing, China*

Dennis Noble *Oxford, UK*
Nandini Prabhakar *Chicago, IL, USA*

PEER REVIEW COORDINATOR
Diana Jones *(cpjournal@physoc.org)*

PRODUCTION OFFICE
Fathma Yusoff *(EP1@wiley.com)*



Cover Illustration
Cardiomyocyte tissue of spontaneously hypertensive rats following aerobic exercise therapy. See Costa *et al.* Pages 891-901.

Copyright and Photocopying: Experimental Physiology © 2021 The Physiological Society. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored or transmitted in any form or by any means without the prior permission in writing from the copyright holder. Authorization to photocopy items for internal and personal use is granted by the copyright holder for libraries and other users registered with their local Reproduction Rights Organization (RRO), e.g. Copyright Clearance Center (CCC), 222 Rosewood Drive, Danvers, MA 01923, USA (www.copyright.com), provided the appropriate fee is paid directly to the RRO. This consent does not extend to other kinds of copying such as copying for general distribution, for advertising and promotional purposes, for republication, for creating new collective works or for resale. Permissions for such uses can be obtained using the RightsLink "Request Permissions" link on Wiley Online Library. Special requests should be addressed to: permissions@wiley.com

The Physiological Society and The Physiological Society logo are trade marks belonging to The Physiological Society and are registered in the UK and in the EU Community, respectively.

Experimental Physiology publishes high quality, original, physiological research papers that give novel insights into fundamental homeostatic and adaptive responses in health and papers that further our knowledge of pathophysiological mechanisms in disease.

ANEXO

Artigo escolhido pelo Editor chefe como melhor trabalho da *Experimental Physiology* (Vol. 106, Ed. 4)



Alex Stewart
para mim ▾

23 de mar. de 2021 07:42 (há 1 dia)



Thank you Herikson,

I apologise for so many messages, but your paper has **also** just been chosen by our Editor-in-Chief as 'Editor's Pick' for the March issue of *Experimental Physiology*. Congratulations again!

We feel this paper is a perfect candidate for our 'EPicks' feature, [that showcases our best research through author-recorded videos](#).

EPicks involve authors briefly discussing the key details of their work. An example video can be seen [here](#), with full guidelines below:

Length:

1-2 minutes

ANEXO

Comprovante de submissão do artigo de revisão no periódico Current Vascular Pharmacology

Submission Acknowledgement | BMS-CVP-2020-92

Traduzir a mensagem para: Português (Brasil) | Nunca traduzir do: Inglês

CP **Current Vascular Pharmacology** <admin@bentham.manuscriptpoint.com>
 Qua, 19/08/2020 23:25
 Para: Você
 Cc: cvp@benthamscience.net; tabindarao@benthamscience.net

Reference#: BMS-CVP-2020-92

Submission Title: Biological Properties of Carvacrol in the Cardiovascular Disorders: a Review of Mechanisms of Action

Dear Dr. Costa,

Thank you for your submission to "Current Vascular Pharmacology(CVP)". It will be sent to the Editor in Chief for his initial provisional approval, and once this is obtained for peer-reviewing, on the understanding that the manuscript contains original work that has neither been published earlier nor has simultaneously been submitted elsewhere. In case this is not so, please let us know immediately.

SUBMISSION DETAILS

BMS-CVP-2020-92

Submission Type:	Manuscript
Title:	Biological Properties of Carvacrol in the Cardiovascular Disorders: a Review of Mechanisms of Action
Abstract:	View Abstract
Submitted Date:	25-Aug-2020

APÊNDICE

PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE

ARTIGO ORIGINAL: Carvacrol reduces blood pressure, arterial responsiveness and increases expression of Mas renal in spontaneously hypertensive rats (SHR)

REVISTA: Journal of Pharmacy and Pharmacology

QUALIS CAPES: B1

FATOR DE IMPACTO: 2.4

STATUS: Submetido

Title: Carvacrol reduces blood pressure, arterial responsiveness and increases expression of Mas renal in spontaneously hypertensive rats (SHR)

Carlos José Dias^{1,2}, Herikson Araújo Costa⁸, Carlos Alberto Alves Dias-Filho^{1,2}, Andressa Coelho Ferreira^{2,4}, Bruno Rodrigues⁵, Maria Claudia Irigoyen⁷, Antônio Carlos Romão Borges^{1,6}, Vicenilma de Andadre Martins¹, Flávia Castello Branco Vidal⁴, Rachel Melo Ribeiro⁶, Natalino Salgado Filho⁸, Cristiano T. Mostarda^{1,2,3,4,*}

¹Programa de Pós-graduação de Rede Nordeste de Biotecnologia (Renorbio), Federal University of Maranhão, São Luís- MA, Brazil. Zip code: 65085-580

²Laboratory of Cardiovascular Adaptations to Exercise, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

³Programa de Pós-graduação em Educação Física, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

⁴Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

⁵Faculty of Physical Education, State University of Campinas, Campinas-SP, Brazil. Zip code: 13083-970

⁶Pharmacology Laboratory, Department of Physiological Science, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: :65085-580

⁷Departamento de Cardiopneumologia da Faculdade de Medicina da USP, Chefe do Laboratório de Hipertensão Experimental do InCor -HC-FMUSP, São Paulo, Brazil, Zip code: 05403-900.

⁸ Programa de Pós-graduação Ciências da Saúde, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

***Correspondent author:**

Cristiano Teixeira Mostarda,

Av. dos Portugueses, 1966, Cidade Universitária Dom Delgado, São Luís, MA, Brasil; Zip code: 65085-580; Phone: +5598982565056

e-mail: cristiano.mostarda@gmail.com

Abstract

Aim: To analyze the effect of the treatment with carvacrol on the cardiovascular system of hypertensive rats in hemodynamic and vascular reactivity parameters and analysis of Mas and At1 receptor in renal tissue **Methods:** twenty animals, groups: Wistar- vehicle, SHR-vehicle, SHR - losartan (50 mg/kg) and SHR - carvacrol (20 mg/kg) were treated with carvacrol, losartan and sorbitol (vehicle) administered by oral gavage daily for 30-day. **Results:** Anti-hypertensive effect of carvacrol. SHR- Carvacrol (20 mg/kg) group showed maximal effect inhibition in the curve for NE in 56%. The E_{max} of the curves for Ca^{2+} were reduced to 40.17% and 35.71% in the SHR-losartan (50 mg) and SHR-carvacrol (20 mg/kg) groups, respectively, when compared to the SHR- vehicle. The carvacrol increased expression of the Mas receptor **Conclusion:** Treatment 30-day with carvacrol showed anti-hypertensive effect associated with decreasing peripheral vascular resistance. Also, treatment with carvacrol (20 mg/kg) increased renal Mas.

Keywords: Carvacrol; Cardiovascular; Hypertension.

APÊNDICE

PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE

ARTIGO ORIGINAL: Carvacrol improves baroreflex sensitivity and blood pressure in spontaneously hypertensive rats

REVISTA: Journal of Hypertension

QUALIS CAPES: A1

FATOR DE IMPACTO: 4.2

STATUS: Submetido

Title: Carvacrol improves baroreflex sensitivity and blood pressure in spontaneously hypertensive rats

Short Title: Effects of carvacrol on hypertension

Authors:

Carlos José Dias¹, Herikson Araujo Costa^{1,6}, Rachel Melo Ribeiro¹, Rui M. Gil da Costa⁵, Natalino Salgado Filho^{1,6}, Cristiano T. Mostarda^{1,2,3,4,5*}.

¹ Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

² Programa de Pós-graduação de Rede Nordeste de Biotecnologia (Renorbio), São Luís- MA, Brazil. Zip code: 65085-580

³Laboratory of Cardiovascular Adaptations to Exercise, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

⁴ Programa de Pós-graduação em Educação Física, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

⁵ Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

⁶ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Federal University of Maranhão, São Luís, Brazil. Zip code: 65085-580

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

***Correspondent author:**

Cristiano Teixeira Mostarda,

Av. dos Portugueses, 1966, Cidade Universitária Dom Delgado, São Luís, MA,

Brasil; Zip code: 65085-580; Phone: +5598982565056

e-mail: cristiano.mostarda@gmail.com

Abstract

Aim: the objective of this study is to analyze the antihypertensive effect of carvacrol on cardiovascular action, autonomic modulation cardiac and gene expression of At1 and Mas receptors in the heart in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods:** twenty animals (n =17), divided into three groups: Wistar- vehicle, SHR- vehicle, and SHR - Carvacrol (20 mg/kg) were treated with sorbitol and carvacrol administered by oral gavage daily for 30-day. Blood pressure, weight, biochemical, baroreflex sensitivity, vascular reactivity, cardiac and pulmonary histology, Mas and At1 in the renal before and after intervention were evaluated. **Results:** Anti-hypertensive effect is more evident with 2-week of oral treatment with carvacrol 20 mg/kg. SHR- Carvacrol (20 mg) group showed maximal effect (*E*_{max}) inhibition in the concentration-response curve for NE in 63.7%. Additionally, the *E*_{max} of the concentration-response curves for Ca²⁺ were reduced to 63.2 % in the SHR-Carvacrol (20 mg) groups, when compared to the SHR- vehicle. In addition, we observed a decrease in the peripheral sympathetic value of the SHR - carvacrol 20 mg group compared to the SHR-vehicle. Baroreflex sensitivity was increased in the carvacrol treatment group compared to the SHR-vehicle **Conclusion:** Treatment 30-day with carvacrol showed anti-hypertensive effect associated with decreasing peripheral vascular resistance mediated by modulation of calcium intake. A decrease in the peripheral sympathetic value of the SHR - carvacrol 20 mg group compared to the SHR - vehicle. Baroreflex sensitivity was increased in the carvacrol treatment.

Keywords: Carvacrol; Baroreflex sensitivity; Hypertension.