



Universidade Federal do Maranhão
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação Rede Nordeste de Biotecnologia



**EFEITOS DO CARVACROL NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA
DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

VICENILMA DE ANDRADE MARTINS COSTA

São Luís

2023

VICENILMA DE ANDRADE MARTINS COSTA

**EFEITOS DO CARVACROL NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA
DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) da Universidade Federal do Maranhão, com o objetivo de qualificação para aquisição do título de Doutor em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais

Orientador:

Prof. Dr. Antônio Carlos Romão Borges

Coorientadora:

Prof^a. Dra. Rachel Melo Ribeiro

São Luís

2023

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

COSTA, VICENILMA DE ANDRADE MARTINS.

EFEITOS DO CARVACROL NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA DE
RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS / VICENILMA DE ANDRADE
MARTINS COSTA. - 2023.

93 f.

Coorientador(a): Rachel Melo Ribeiro.

Orientador(a): Antonio Carlos Romão Borges.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do
Maranhão, São Luís, 2023.

1. Carvacrol. 2. Extrato de plantas. 3.
Fitoquímicos. 4. Receptor AT1. 5. Receptor MAS. I.
Borges, Antonio Carlos Romão. II. Ribeiro, Rachel Melo.
III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA

VICENILMA DE ANDRADE MARTINS COSTA

**EFEITOS DO CARVACROL NO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA DE RATOS
ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

Aprovado em: / /

Prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges

Orientador – RENORBIO / Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Thiago Teixeira Mendes

1º Examinador - Universidade Federal da Bahia – UFBA

Profa. Dra. Aldeidia Pereira de Oliveira

2º Examinador - Programa de pós-graduação em Biotecnologia – RENORBIO/UFPI

Prof. Dr. Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

3º Examinador – Programa de pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - CCBS /UFMA

Prof^ª. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartagenes

4ª Examinadora – RENORBIO / Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Profa. Dra. Flavia Castello Branco Vidal

1ª Suplente - Programa de Pós-graduação em Saúde do Adulto - PPGSAD/UFMA

Carlos Alberto Alves Dias Filho

2º Suplente - Faculdade de Medicina - Afya SANTA INÊS – MA

Dedico essa Tese de Doutorado a minha família, principalmente a minha mãe Lurdes e irmã Viceilma, aos meus pais de criação, Benedito e Maria da Conceição.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sei que se conseguir chegar até aqui foi por sua vontade e misericórdia.

Ao Prof. Dr. Romão Borges, o qual aceitou o desafio de me orientar no desenvolvimento desta pesquisa. Sempre solícito e demonstrando preocupação com a qualidade do nosso trabalho.

A Profa. Dra. Rachel Melo, que nunca mediu esforços para me ensinar coisas que nunca imaginei aprender e sempre com muita paciência, bom humor e dedicação, que mesmo em um momento difícil de sua vida se fez presente no laboratório em finais de semana, feriados e férias, realizando experimentos, corrigindo os artigos e ajudando a gerar resultados. E por ter colaborado de forma significativa com o meu amadurecimento científico durante todo o processo de formação nesta pós-graduação.

A Prof. Ma. Daiane da Silva, ao Prof. Dr. Carlos Dias Filho, ao doutorando Jhonata Costa e aos alunos de iniciação científica, Gabriel Oliveira e Vinicius Mendes, pela dedicação durante todas as etapas deste estudo.

A todos os integrantes do Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia (LPPF) que nos ajudaram de alguma forma nesta jornada, e aos professores Dr. Marcus Paes e Dra. Flávia Vidal, que abriram as portas de seus laboratórios, viabilizando a execução de parte dos nossos experimentos.

E àqueles que não poderiam faltar nestes agradecimentos, a minha família pelo incentivo, principalmente a minha mãe Lurdes de Andrade e minha irmã Viceilma de Andrade, que desde a infância me incentivam a estudar e não mediram esforços para me apoiar. E ao meu esposo, Herikson Costa, que esteve comigo nos momentos de angústia durante os protocolos experimentais, me dizendo que tudo iria se resolver, fazendo dar certo o que eu achava que iria dar errado, por isso, eis aqui os meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica, é uma doença cardiovascular relevante para a saúde pública, cujas alterações hemodinâmicas podem acarretar prejuízos irreversíveis em órgãos alvos, como coração e rins. Desta forma, é salutar a investigação de terapias que possam contribuir no tratamento da HAS, juntamente aos medicamentos já empregados no manejo clínico do paciente. O carvacrol, um monoterpeneo presente nos óleos essenciais, oriundo do orégano e tomilho, vem sendo avaliado em diversos protocolos experimentais para avaliação do seu efeito sobre o sistema cardiovascular. A literatura científica reporta efeito vascular do carvacrol, com ação inibitória sobre canais de cálcio. Mais recentemente, foi demonstrado pelo nosso grupo de pesquisa, de maneira inovadora, que esse monoterpeneo, por via oral, pode modular a expressão gênica de receptores AT1 e MAS em tecido renal de ratos espontaneamente hipertensos (SHR), sugerindo de maneira inicial, um mecanismo anti-hipertensivo modulador do Sistema Renina-Angiotensina (SRA). Porém, não fora possível avaliar se o carvacrol atua de maneira dependente ou independente de dose, seu efeito sobre a enzima conversora de angiotensina I (ECA), ou se ele atua na expressão gênica dos receptores MAS no tecido cardíaco. Nesse contexto, buscamos no presente consistiu em continuar o estudo do efeito do tratamento oral com carvacrol sobre a modulação do SRA em SHR, avaliando os níveis séricos de ECA, Angiotensina 1-7 (Ang 1-7), padrões hemodinâmicos e bioquímicos renais e hepáticos, lipidograma, além da expressão de receptores AT1 e MAS em cardiomiócitos. Vinte e cinco animais, machos, com 90 dias de idade, foram fornecidos pela Universidade Federal do Maranhão, garantindo condições normais de microclima, com ciclo claro-escuro (12h:12h), água e dieta padrão *ad libitum*. Os animais, após adaptação, foram randomizados em grupos: Wistar: grupo controle normotenso tratado com sorbitol (Wistar); grupo controle hipertenso tratado com sorbitol (SHR-Sorbitol); grupo hipertenso tratado com 50mg de losartana (SHR-Los-50mg); grupo hipertenso tratado com 20mg/kg/dia de carvacrol (SHR-Carv-20mg) e grupo hipertenso tratado com 40mg/kg/dia de carvacrol (SHR-Carv-40mg). Ao final de 30 dias, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue e tecido cardíaco. Durante todo o tratamento, os animais tiveram sua evolução ponderal e consumo de ração medidos, além de seus padrões hemodinâmicos (pressão arterial e frequência cardíaca) aferidos pelo método indireto, através de um pletismógrafo, sempre anterior às gavagens. Os resultados mostram um efeito anti-hipertensivo, associado a uma regulação dos níveis lipídicos. Ainda, os dados indicam uma inibição na síntese da ECA I e regulação da produção da Angiotensina 1-7, culminando na

redução da pressão arterial dos grupos tratados com carvacrol, à níveis de normotensão, para ambas as doses. Em continuidade, o carvacrol promoveu downregulation na expressão de receptores AT1 e MAS em tecido cardíaco, de maneira dose-dependente. Os resultados sugerem que o carvacrol, é um fitoquímico com propriedade anti-hipertensiva, cujo mecanismo de ação parece envolver, além dos canais de cálcio, a modulação do SRA, mais especificamente aumento de ECAI sérica e expressão de receptores MAS cardíacos.

Palavras – chaves: Carvacrol, Fitoquímicos, Receptor AT1, Receptor MAS, Extrato de plantas.

ABSTRACT

Systemic arterial hypertension (SAH) is a relevant cardiovascular disease for public health, whose hemodynamic changes can cause irreversible damage to target organs, such as the heart and kidneys. In this way, it is salutary to investigate therapies that may contribute to the treatment of SAH, together with the drugs already used in the clinical management of the patient. Carvacrol, a monoterpene presents in essential oils, derived from oregano and thyme, has been evaluated in several experimental protocols to evaluate its effect on the cardiovascular system. The scientific literature reports the vascular effect of carvacrol, with an inhibitory action on calcium channels. More recently, it was demonstrated by our research group, in an innovative way, that this monoterpene, orally, can modulate the gene expression of AT1 and MAS receptors in renal tissue of spontaneously hypertensive rats (SHR), initially suggesting an antihypertensive mechanism that modulates the Renin-Angiotensin System (RAS). However, it was not possible to assess whether carvacrol acts in a dose-dependent or independent manner, its effect on angiotensin I converting enzyme (ACE), or whether it acts on the gene expression of MAS receptors in cardiac tissue. In this context, what we sought in the present consisted of continuing the study of the effect of oral treatment with carvacrol on the modulation of the RAS in SHR, evaluating the serum levels of ACE, Angiotensin 1-7 (Ang 1-7), renal and hepatic hemodynamic and biochemical patterns, lipidogram, in addition to the expression of AT1 and MAS receptors in cardiomyocytes. Twenty-five animals, male, 90 days old, were provided by the Federal University of Maranhão, ensuring normal microclimate conditions, with light-dark cycle (12h:12h), water and standard diet ad libitum. The animals, after adaptation, were randomized into groups: Wistar: normotensive control group treated with sorbitol (Wistar); sorbitol-treated hypertensive control group (SHR-Sorbitol); hypertensive group treated with 50mg of losartan (SHR-Los-50mg); hypertensive group treated with 20mg/kg/day of carvacrol (SHR-Carv-20mg) and hypertensive group treated with 40mg/kg/day of carvacrol (SHR-Carv-40mg). At the end of 30 days, the animals were euthanized for collection of blood and cardiac tissue. Throughout the treatment, the animals had their weight gain and feed intake measured, in addition to their hemodynamic patterns (blood pressure and heart rate) measured by the indirect method, using a plethysmograph, always prior to the gavages. The results show an antihypertensive effect, associated with the regulation of lipid levels. Furthermore, the data indicate an inhibition in the synthesis of ACE I and regulation of the production of Angiotensin 1-7, culminating in the reduction of blood pressure in the groups treated with carvacrol, at

normotension levels, for both doses. In continuity, carvacrol promoted downregulation in the expression of AT1 and MAS receptors in cardiac tissue, in a dose-dependent manner. The results suggest that carvacrol is a phytochemical with antihypertensive properties, whose mechanism of action seems to involve, in addition to calcium channels, RAS modulation, more specifically, increase in serum ACEI and expression of cardiac MAS receptors.

Keywords: Carvacrol, Phytochemicals, AT1 Receptor, MAS Receptor, Plant extract.

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Representação da ação de angiotensina II e angiotensina (1-7).....	23
Figura 2: Grupos experimentais.....	32
Figura 3. Protocolo experimental.....	32
Figura 4. Evolução da massa corporal dos animais tratados ao longo de quatro semanas de tratamento.....	36
Figura 5. Consumo de ração dos animais tratados ao longo de quatro semanas de tratamento.....	37
Figura 6. Comportamento da frequência cardíaca dos animais ao longo de quatro semanas de tratamento.....	39
Figura 7. Comportamento da pressão arterial sistólica dos animais ao longo de quatro semanas de tratamento.....	40
Figura 8. Comportamento da pressão arterial diastólica dos animais ao longo de quatro semanas de tratamento.....	41
Figura 9. Comportamento da pressão arterial média dos animais ao longo de quatro semanas de tratamento.....	42
Figura 10. Efeitos do tratamento sobre os níveis séricos de angiotensina 1-7 e enzima conversora de angiotensina I.....	43
Figura 11. Efeitos do tratamento sobre a expressão gênica dos receptores, MAS e AT1, em células cardíacas.....	44

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1: Classificação da pressão arterial de acordo com a medição no consultório a partir de 18 anos de idade.....	18
Tabela 2: Iniciadores de sequência de nucleotídeos utilizados na reação de PCR-tempo real.....	34
Tabela 3: Efeito do tratamento com carvacrol sobre os parâmetros bioquímicos séricos dos animais tratados.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ang 1-7	Angiotensina 1 – 7
ANG II	Angiotensina II
AT1r	Receptor de angiotensina II
DC	Débito cardíaco
DCV	Doença cardiovascular
ECA I	Enzima conversora de angiotensina I
ECA 2	Enzima conversora de angiotensina II
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IECA	Inibidor da Enzima conversora de angiotensina
MASR	Receptor de angiotensina 1 – 7
NO	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PG12	Prostaciclina
RVP	Resistência vascular periférica
SHR	Ratos espontaneamente hipertensos
SHR-Sorb	Grupo hipertenso tratado com sorbitol
SHR-Los-50mg	Grupo hipertenso tratado com 50mg/dia de losartana
SHR-Carv-20mg	Grupo hipertenso tratado com 20mg/kg/dia de carvacrol
SHR-Carv-40mg	Grupo hipertenso tratado com 40mg/kg/dia de carvacrol
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNS	Sistema nervoso simpático
SRA	Sistema renina angiotensina
VIGITEL	Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1	Sistema Cardiovascular	17
3.2	Classificação e Epidemiologia da Hipertensão Arterial Sistêmica	17
3.3	Mecanismos de Regulação da Pressão Arterial: Ênfase no Sistema Renina-Angiotensina	19
3.3.1	Regulação neural da pressão arterial	20
3.3.2	Regulação humoral da pressão arterial: ênfase no sistema renina angiotensina aldosterona.....	21
3.4	Modelo de hipertensão em experimentos com animais: foco no modelo de hipertensão espontânea (SHR)	23
3.5	Carvacrol	24
3.5.1	Efeitos hemodinâmicos do carvacrol.....	25
3.5.2	Efeito vasorrelaxante do carvacrol	26
3.5.3	Efeito cardioprotetor do carvacrol	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	Amostra	31
4.2	Etapas da pesquisa	31
4.3	Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca	33
4.4	Ação do carvacrol sobre a evolução ponderal e consumo de ração	33
4.5	Determinação de parâmetros bioquímicos séricos	33
4.5.1	Concentrações séricas de ANG (1-7) e ECA I	34
4.6	Análise RT-PCR em tempo real de mRNA MAS e AT1	34
4.7	Análise estatística	35
5	RESULTADOS	36
5.1	Efeito do tratamento oral do carvacrol sobre consumo de ração e evolução ponderal dos animais	36

5.2	Efeito do carvedilol sobre níveis séricos de parâmetros bioquímicos renais e hepáticos	37
5.3	Efeito do carvedilol sobre parâmetros hemodinâmicos	38
5.4	Efeito do carvedilol sobre níveis séricos de Ang 1-7 e ECA-I.....	42
5.5	Efeito do carvedilol sobre a expressão gênica de receptores MAS e AT1	43
6	DISCUSSÃO	45
7	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49
	APÊNDICES	56
	APÊNDICE A - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO	57
	APÊNDICE B – SOLICITAÇÃO DE PEDIDO DE DEPÓSITO DE PATENTE	58
	APÊNDICE C – PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE	61
	APÊNDICE D - PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE.....	62
	APÊNDICE E - PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE.....	63
	APÊNDICE F - PARTICIPAÇÃO EM CAPÍTULO DE LIVRO CORRELATO A TESE.....	64
	ANEXOS	67
	ANEXO 1– APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	68
	ANEXO 2– ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR NÚCLEO DO CONHECIMENTO.....	69
	ANEXO 3 – NORMAS DE PUBLICAÇÃO REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR NÚCLEO DO CONHECIMENTO.....	85

1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença crônica de etiologia multifatorial, caracterizada por níveis sustentados de pressão arterial sistólica (PAS) e/ou diastólica (PAD) maiores ou iguais a 140/90 mmHg. O diagnóstico da HAS quase sempre ocorre de maneira tardia, uma vez que essa patologia se apresenta frequentemente assintomática. A permanência do quadro hipertensivo pode levar a processos deletérios do eixo cardiorrenal, como por exemplo insuficiência cardíaca, doença arterial coronária e doença renal crônica que pode evoluir para perda da função renal (Barroso *et al.*, 2021).

Portanto, é pertinente a investigação de terapias que possam ajudar de maneira segura no manejo da HAS. Neste contexto, o carvedilol se apresenta como opção a ser investigada, quanto às suas propriedades hipotensoras e anti-hipertensivas (Barroso *et al.*, 2021).

Sobre os estudos científicos sobre controle da pressão arterial, é importante ressaltar que o sistema renina angiotensina (SRA) é um sistema de peptídeos vasoativos regulados por duas enzimas conversoras de angiotensina (ECA-1 e ECA-2) e tem papel importante para o controle da hipertensão (Aronson; Ferner, 2020; Ren *et al.*, 2016). A ECA-2 é um homólogo da ECA, e desempenha um papel fundamental no SRA, envolvida na regulação da pressão arterial e homeostase eletrolítica (Kuba; Imai; Penninger, 2013).

Nessa perspectiva, o SRA apresenta componentes que irão favorecer a hipertensão e seus processos deletérios, como é o caso do aumento na síntese de angiotensina II (ANG II) pela ECA-1 e a expressão do seu receptor (AT1R) (Navar, 2014), que estão diretamente envolvidos com as vias de hipertrofia cardíaca (De Mello, 2017) e lesão renal (Edgley; Kett; Anderson, 2003; Zhu *et al.*, 2011), assim como a angiotensina 1-7 (Ang 1-7), resultante da clivagem da Ang II pela ECA-2, e seu receptor (MAS), que desenvolvem efeitos antagônicos à Ang II e AT1R (Patel *et al.*, 2012), como por exemplo, vasodilatação (De Mello, 2017), redução da pressão arterial e inibição de fibrose cardíaca (Mori *et al.*, 2014).

O SRA também tem papel importante na fisiopatologia da hipertensão genética de ratos espontaneamente hipertensos - SHR (Collett *et al.*, 2013). A HAS pode ser causada por hiperatividade do SRA, e esta disfunção é uma das características observadas no modelo de hipertensão dos animais SHR. Este modelo vem sendo utilizado em pesquisas científicas por ser o que melhor mimetiza a HAS em humanos, devido a apresentar aumento da resistência vascular periférica, hiperatividade simpática, hiperatividade do sistema renina angiotensina aldosterona, bem como desbalanço de fatores natriuréticos, gerando lesão em órgãos alvos, da mesma forma que ocorre nos humanos (Fazan Jr; Silva; Salgado, 2001; Yamori, 1984).

A partir de pesquisas científicas, com o objetivo de prevenir ou retardar o processo degenerativo e a morbimortalidade associada a HAS, temos hoje várias classes de fármacos anti-hipertensivos, dentre estas destacamos os bloqueadores do SRA, que são os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), bloqueadores dos receptores da angiotensina II (BRA), antagonistas da aldosterona e os inibidores diretos da renina (Barroso *et al.*, 2021). Esses fármacos promovem não somente a redução da PA, mas podem levar a um efeito inibitório do remodelamento cardíaco, com possíveis propriedades anti-ateroscleróticas, retardo do declínio da função renal, redução da morbidade e da mortalidade cardiovascular, redução da proteinúria em indivíduos com doença renal, entre outros. Porém, como a maioria dos fármacos sintéticos, possuem efeitos colaterais, tais como tosse seca, hipercalemia, rash cutâneo, diarreia, aumento da creatinofosfoquinase, risco de complicações fetais na gravidez e podem levar a redução inicial da filtração glomerular (Barroso *et al.*, 2021).

Desse modo, muito se tem investido em descoberta de novas medidas terapêuticas para esta doença, sendo que aquelas oriundas de recursos naturais ganham cada vez mais destaque no meio científico, uma vez que se apresentam como possibilidades mais seguras, eficazes e de custo menor do que os desenvolvidos de forma sintética.

Assim, o notável avanço científico envolvendo plantas medicinais, proporcionou a descoberta de diversos fitoterápicos com potencial de tratar a hipertensão (Bakkali *et al.*, 2008; Samaha *et al.*, 2019; Tomazzoni; Negrelle; Centa, 2006).

Portanto, a bioprospecção de recursos naturais tem grande relevância, por proporcionar a validação científica de plantas usadas tradicionalmente como medicinais. Dentre as diversas espécies na literatura, há interesse em intensificar o uso do carvacrol (Melo *et al.*, 2010; Rajput *et al.*, 2018). O carvacrol é um monoterpeneo presente nos óleos essenciais, oriundo do orégano (*Origanum vulgares*, *O. dictamnus* e *O. majorana*) e tomilho (*Thymus vulgaris*, *T. capitatus* e *T. serpyllum*) (Santos *et al.*, 2011; Suntres; Coccimiglio; Alipour, 2015).

Este monoterpeneo pode apresentar diferentes funções químicas, entre as quais: aldeídos, cetonas, éteres, ácidos, álcoois e fenóis (Felipe; Bicas, 2017). Essas funções químicas o conferem potencial anti-inflamatório (Liu *et al.*, 2019), anticancerígeno (Arunasree, 2010; Baranauskaite *et al.*, 2017), antioxidante (Bellés *et al.*, 2019), vasorrelaxante (Earley; Gonzales; Garcia, 2010), anti-hipertensivo (Barreto Da Silva *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2021; Dias *et al.*, 2022), cardioprotetor (Chen *et al.*, 2017), além de propriedades antimicrobiana e antifúngica (Gonelimali *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2017).

Em relação aos seus efeitos hipotensores, o primeiro estudo a atribuir esta propriedade ao carvacrol foi conduzido por Aydin *et al.* (2007). Em seguida vieram os trabalhos de Dantas

et al. (2015) e Feketa e Marrelli (2015), todos estudando o carvacrol pelas vias de administração intravenosa ou intraperitoneal. Somente a partir da pesquisa realizada por Barroso *et al.* (2021), foi possível observar efeito anti-hipertensivo do carvacrol, por meio de tratamento oral de 50mg/dia de carvacrol em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Costa *et al.* (2021), avançaram e concluíram que 20mg/dia de carvacrol, por via oral, potencializava o efeito do treinamento aeróbio sobre a redução da PA. O ponto incomum entre estas pesquisas, é que todas investigaram a interação do carvacrol com os mecanismos vasculares, sendo o bloqueio dos canais de cálcio o mecanismo mais estudado. Contudo, somente no início de 2022, através da pesquisa realizada por nosso grupo de pesquisa, observou-se efeito anti-hipertensivo com discretos indícios de que este fitoquímico poderia atuar modulando o SRA (Dias *et al.*, 2022).

Diante desse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do tratamento oral com carvacrol sobre a modulação do sistema renina angiotensina em ratos espontaneamente hipertensos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do carvedilol sobre atividade do sistema renina angiotensina em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Estudar a evolução ponderal dos animais;
- ✓ Monitoramento dos padrões hemodinâmicos e evolução ponderal dos SHR;
- ✓ Investigar o efeito do carvedilol sobre as análises bioquímicas séricas;
- ✓ Investigar o efeito do carvedilol sobre a modulação do sistema renina angiotensina;
- ✓ Analisar o efeito do carvedilol sobre a expressão gênica de receptores cardíacos AT1 e MAS.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Sistema Cardiovascular

O sistema cardiovascular é formado principalmente por vasos sanguíneos e coração, e tem como principal função garantir a demanda metabólica tecidual, tanto em repouso quanto em condições de estresse (De Oliveira Carniatto *et al.*, 2019; Nicaretta *et al.*, 2023). Para que isso ocorra, é necessário controlar a distribuição do débito cardíaco (DC), que acontece através de adaptações agudas e crônicas de fatores intrínsecos vasculares, neurais e hormonais (Silverthorn, 2010). Assim, o sistema cardiovascular é sensível a alterações de pressão sanguínea, frequência cardíaca, resistência vascular periférica (RVP), débito cardíaco e a hiperatividade do sistema nervoso simpático (Fontes *et al.*, 2020; Sá *et al.*, 2013).

Os seres vivos possuem diversos sistemas biológicos com o objetivo de manutenção da homeostase cardiovascular. Dentre eles temos: I. O fluxo de sangue para qualquer região do corpo depende da pressão de perfusão, que é essencialmente a PA e a resistência ao fluxo em determinada região; II. A regulação da PA é uma das funções fisiológicas mais complexas e depende de ações integradas dos sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino (Irigoyen *et al.*, 2005).

As constantes alterações na PA, podem ser consideradas normais, desde que as mudanças abruptas, como ocorre no pico hipertensivo e na hipotensão, sejam rapidamente restabelecidas. Em caso de elevação persistente da PA, o sistema cardiovascular pode sofrer graves prejuízos na homeostase (Williams *et al.*, 2018). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada pela elevação sustentada da PA, e é o principal fator de risco modificável para doenças cardiovasculares (DCV) e doença renal crônica (DRC) (Barroso *et al.*, 2021). Segundo a Who (2021), ela é uma das principais causas de morte prematura no mundo. Também é considerada uma doença crônico-degenerativa com origem multifatorial (Simonyte *et al.*, 2017).

Portanto, no decorrer deste capítulo será discutido o conceito de HAS, levando em consideração as principais diretrizes mundiais, bem como a classificação, 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.

3.2 Classificação e Epidemiologia da Hipertensão Arterial Sistêmica

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é um problema de saúde pública tanto no Brasil como no mundo (Brasil, 2013; Meira *et al.*, 2017). 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).

Segundo a Who (2021), a hipertensão (ou pressão alta) é um distúrbio grave que aumenta significativamente o risco de doenças cardíacas, encefalopatias, doenças renais e outras doenças. Estudos mostram que os valores sustentadamente elevados de pressão arterial sistólica (PAS) e de pressão arterial diastólica (PAD) estão associados a sérios riscos de morbimortalidade cardiovascular, tendo relação direta com a ocorrência de insuficiência cardíaca congestiva, infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência arterial periférica, morte prematura e a doenças renais crônicas, danos a órgãos alvos e distúrbios metabólicos (Barroso *et al.*, 2021; Da Silva *et al.*, 2021; Malachias *et al.*, 2016; Santos, 2011).

Ainda sobre a HAS, esta caracteriza-se por elevação persistente da PA, com Pressão Arterial Sistólica (PAS) igual ou maior a 140 mmHg e/ou Pressão Arterial Diastólica (PAD) igual ou maior a 90 mmHg, sendo classificada em ótima; normal; pré-hipertensão; hipertensão estágio 1; hipertensão estágio 2 e hipertensão estágio 3, como apresentado na Tabela 1 abaixo, que mostra a classificação de hipertensão arterial (HA) de acordo com a VIII Diretriz brasileira de hipertensão (Barroso *et al.*, 2021).

Tabela 1: Classificação da pressão arterial de acordo com a medição no consultório a partir de 18 anos de idade.

Classificação	PAS (mm Hg)		PAD (mm Hg)
PA ótima	< 120	e	< 80
PA normal	≤ 120	e/ou	≤ 80
Pré-hipertensão	121 - 139	e/ou	81 - 89
Hipertensão estágio 1	140 - 159	e/ou	90 – 99
Hipertensão estágio 2	160 - 169	e/ou	100 -109
Hipertensão estágio 3	≥ 180	e/ou	≥ 110

PA: pressão arterial; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

Fonte: Adaptado da VIII Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial (Barroso *et al.*, 2021).

De acordo com a OMS, em 2019 a HAS atingiu cerca de 1,13 bilhão de pessoas, já em 2021, essa prevalência subiu para 1,28 bilhão de adultos de 30 a 79 anos com hipertensão no

mundo, sendo diagnosticado e tratado menos da metade dos adultos (apenas 42%), onde apenas um em cada cinco adultos hipertensos (21%) tem o problema sob controle (Who, 2021). No Brasil, segundo a Pesquisa Nacional de Saúde de 2013, 32,3% dos adultos brasileiros autorrelataram HAS, em 2019, os dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) demonstraram que cerca de 24,5% da população se autodeclararam hipertensos (Brasil, 2020; Malta *et al.*, 2018).

Apesar de haver uma redução da prevalência da HAS, para 2025, é estimado um aumento de 15 a 20% no número de pessoas acometidas por HAS, chegando a cerca de 1,5 bilhões de pessoas diagnosticadas, isso devido ao envelhecimento populacional, aos péssimos hábitos alimentares e a inatividade física, assim é preciso trabalhar para que esses números diminuam, uma vez que a HAS é considerada a principal causa de morbimortalidade por doenças cardiovasculares (DCVs) (Mills *et al.*, 2016). Para tanto, uma das metas globais para doenças não transmissíveis é reduzir a prevalência de hipertensão em 25% até 2025, comparado aos valores de referência de 2010 (Who, 2021).

3.3 Mecanismos de Regulação da Pressão Arterial: Ênfase no Sistema Renina-Angiotensina

A pressão arterial (PA) é definida como a força exercida pelo sangue contra a parede arterial nas fases de contração e relaxamento cardíaco, sendo expressa como PA sistólica (PAS) e PA diastólica (PAD) com os valores expressos em milímetros de mercúrio (mmHg) (Chobanian *et al.*, 2003; Penteado; Gomes, 2008). A regulação da PA é uma das funções fisiológicas mais complexas, depende de ações integradas dos sistemas cardiovascular, renal, endócrino e neural (sistema nervoso autônomo - SNA), os quais estabelecem o débito cardíaco (DC) e a resistência vascular periférica (RVP). Estes fatores determinam a PA mediante a seguinte fórmula: $PA = DC \times RVP$ (Consolim-Colombo; Fiorino, 2005; Irigoyen *et al.*, 2005).

Dessa forma, o controle de PA envolve essencialmente dois mecanismos: regulação neural, realizada primariamente pelo SNA associado aos barorreceptores e quimiorreceptores (Irigoyen *et al.*, 2005; Zago; ZanESCO, 2006) e regulação humoral (Accorsi-Mendonça *et al.*, 2005; Zago; ZanESCO, 2006) que é realizado por várias substâncias liberadas por diferentes tipos celulares, como células endoteliais e justaglomerulares (Dampney *et al.*, 2002) e diferentes alças hormonais (Irigoyen *et al.*, 2005; Martellia, 2010), estes, em curto e longo prazos, modulam não só a atividade do sistema nervoso autônomo para o coração e para os vasos, como também o volume sanguíneo e a secreção de vários hormônios, como renina, vasopressina,

peptídeo natriurético atrial e etc. (Consolim-Colombo; Fiorino, 2005; Irigoyen *et al.*, 2005; Silverthorn, 2010). Assim, alterações em um ou ambos os mecanismos de controle da PA, poderão resultar em elevação dos níveis pressóricos, instalando-se assim um quadro de hipertensão arterial (HA) (Zago; Zanesco, 2006).

3.3.1 Regulação neural da pressão arterial

O sistema nervoso autônomo (SNA) é responsável pelo monitoramento e ajustes imediatos das oscilações hemodinâmicas que ocorrem durante o ciclo cardíaco (Krieger *et al.*, 2013).

O SNA é composto por projeções neurais aferentes, eferentes e centro integrador. O centro integrador fica localizado no bulbo e recebe informações dos mecanorreceptores sensíveis ao estiramento ou deformações das paredes dos vasos onde estão localizados, estes, são conhecidos como barorreceptores e estão localizados nas paredes das artérias carótidas e da aorta. Assim, quando a PA se eleva, a membrana dos barorreceptores estira e a frequência de disparos do receptor aumenta ativando o centro de controle cardiovascular bulbar, que em resposta aumenta a atividade parassimpática voltada para o coração, liberando acetilcolina que ao interagirem com os receptores muscarínicos colinérgicos promoverão redução do influxo de Ca^{++} e aumento do efluxo de íon K^+ levando a hiperpolarização da membrana, que gera aumento dos intervalos entre os potenciais de ação, diminuindo a frequência cardíaca e por consequência leva a redução no débito cardíaco e da PA (Hall; Guyton, 2011; Kashihara, 2009; Zago; Zanesco, 2006).

Entretanto, se a PA diminui, a frequência de disparos do receptor também reduz aumentando a atividade simpática levando a maior liberação de noradrenalina para o coração e vasos sanguíneos, causando aumento na frequência cardíaca, vasoconstrição e elevação da PA (Kashihara, 2009; Zago; Zanesco, 2006).

Quando ocorre uma redução desse reflexo barorreceptor, há hiperatividade simpática e consequentemente aumento sustentado dos níveis pressóricos (Krieger *et al.*, 2013). Esta hiperatividade simpática estimula a produção de renina pelos rins, aumentando os níveis plasmáticos de renina, o que vai ativar o sistema de angiotensina-aldosterona (Giestas; Palma; Ramos, 2010; Martellia, 2010).

3.3.2 Regulação humoral da pressão arterial: ênfase no sistema renina angiotensina aldosterona

A regulação humoral é feita por uma variedade de substâncias liberadas por diferentes tipos celulares, como as células endoteliais e as células justaglomerulares (Irigoyen *et al.*, 2005; Martellia, 2010).

As células endoteliais desempenham relevante papel no controle do tônus cardiovascular, regulando a vasomotricidade, a permeabilidade vascular, o metabolismo de substâncias endógenas e exógenas e a atividade plaquetária e leucocitária (Murata *et al.*, 2002; Zanesco; Antunes, 2005). Estudos mostram que as células endoteliais são capazes de sintetizar substâncias vasoativas, classificadas em fatores relaxantes e fatores contráteis. Dentre os fatores relaxantes temos: óxido nítrico (NO), prostaciclina (PGI₂) e fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). Já os fatores contráteis são a endotelina e o tromboxano (Zago; Zanesco, 2006).

As células justaglomerulares presentes nos rins liberam a enzima renina em resposta ao aumento da atividade do sistema nervoso simpático (SNS), diminuição da pressão de perfusão nas arteríolas aferentes renais, redução do teor de cloreto de sódio e ações locais de óxido nítrico (Kurtz, 2011). A renina catalisa a conversão do angiotensinogênio em angiotensina I (Ang I), que subsequentemente é convertido em angiotensina II (Ang II) pela enzima conversora da angiotensina I (ECA I), presente no endotélio dos vasos pulmonares e simultaneamente, degrada uma substância natriurética e vasodilatadora, a bradicinina, aumentando a produção de Ang II (Forrester *et al.*, 2018; Guang *et al.*, 2012; Pujiastuti *et al.*, 2019).

Os efeitos da Ang II são mediados por seus dois receptores de membrana plasmática conhecidos, o receptor AT1 (AT1R) e receptor AT2 (AT2R) (Patel *et al.*, 2017; Varagic *et al.*, 2014). A Ang II é um potente vasoconstritor e sua ligação com AT1R presentes nas células vasculares lisas, acoplados à proteína G, eleva a pressão sanguínea por meio de vários mecanismos, incluindo vasoconstrição, proliferação celular, liberação de aldosterona e vasopressina, estresse oxidativo, inflamação, ativação imune, ativação simpática e barorreflexo (Cogolludo; Pérez-Vizcaíno; Tamargo, 2005; Lavoie; Sigmund, 2003; Tóth *et al.*, 2018). Entretanto, a ligação da Ang II a AT2R, presentes nas células endoteliais, têm efeitos opostos a AT1R, onde sua ativação estimula a vasodilatação, efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, levando assim a remodelação vascular, prevenção da aterosclerose e redução da PA (Faria-Costa; Leite-Moreira; Henriques-Coelho, 2014; Miller; Arnold, 2019; Wang *et al.*, 2017).

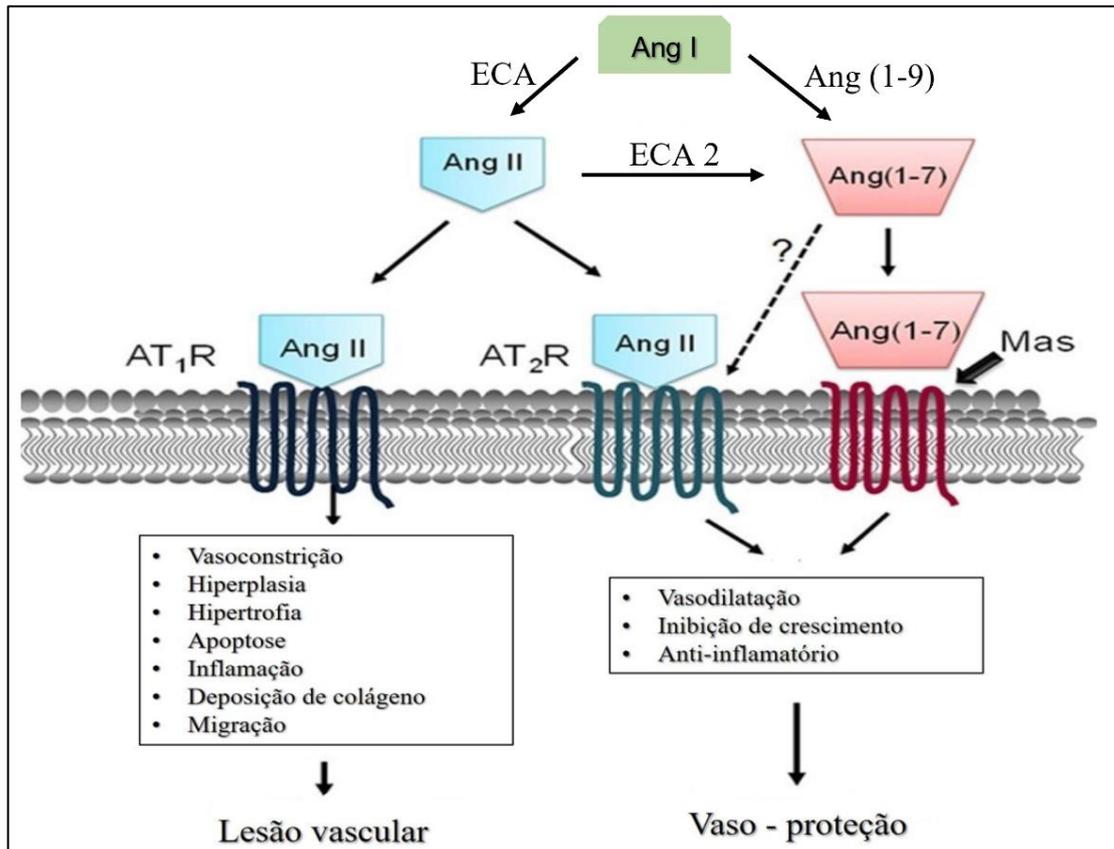
A Ang II age na pressão arterial por duas maneiras, 1) realizando vasoconstrição das arteríolas e veias, 2) estimulando a retenção de líquido e sódio pelos rins. Sua atuação sobre os rins, para promover retenção de sódio e água, ocorre diretamente na constrição das arteríolas renais, o que leva a diminuição do fluxo sanguíneo para os rins e conseqüentemente reduz a pressão nos capilares peritubulares, provocando a rápida reabsorção de líquido pelos túbulos renais (Hall; Guyton, 2011). A Ang II também é um potente estimulante da liberação de aldosterona pelas glândulas adrenais, promovendo absorção acentuada de água e sódio pelos túbulos renais, o que a longo prazo eleva a PA (Oparil *et al.*, 2018; Zatz; Seguro; Malnic, 2011).

Até pouco tempo, o eixo principal do SRA era formado pela Ang II e sua enzima formadora ECA I. No entanto, nos últimos anos a descoberta de novos peptídeos vasoativos e enzimas vêm ampliando a visão de ação e abrangência do SRA (Keidar; Kaplan; Gamliel-Lazarovich, 2007). Está agora bem estabelecido que o sistema renina-angiotensina (RAS) compreende 2 eixos: (1) o eixo clássico, já mencionado anteriormente, compreendendo enzima conversora de angiotensina I (ECAI)-angiotensina II (Ang II)-receptor de Ang II tipo 1 (AT1R) e (2) o eixo da ACE2–Ang-(1–7)-receptor MAS (MASR) (Touyz; Montezano, 2018). A Figura 1 abaixo, apresenta um resumo da ação da ECAI/Ang II e ECA2/Ang (1-7).

A angiotensina (1-7) (Ang (1-7)) é um heptapeptídeo sintetizado pela ECA 2, com ações antagônicas a Ang II. A ECA 2 é capaz de converter o peptídeo vasoconstritor e promotor de crescimento Ang II em Ang (1-7), um peptídeo com propriedades vasodilatadoras e antiproliferativas. Além da degradação direta da Ang II em Ang-(1-7), a ECA2 catalisa a conversão de Ang I em Ang-(1-9), para posterior formação de Ang-(1-7) via ECA I (Tallant; Ferrario; Gallagher, 2006; Varagic *et al.*, 2008). A Ang (1-7) atua no receptor MAS, exercendo função vasoprotetora, cardioprotetora e anti-inflamatória, podendo diminuir a PA e os riscos para doenças cardiovasculares (TOUYZ; MONTEZANO, 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) - MASR, bem como a mecanismos inibitórios da ECA I e AT1R (Giestas; Palma; Ramos, 2010; Oparil *et al.*, 2018; Oudit *et al.*, 2003).

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



Fonte: Adaptado de Touz & Monteiro (2018); ECA, enzima conversora de angiotensina I; Ang II, angiotensina II; Ang (1-7), Angiotensina (1-7); AT₁R, receptor tipo 1 de angiotensina II; AT₂R, receptor tipo 2 de angiotensina II; Mas, receptor de angiotensina (1-7); Ang (1-9), Angiotensina (1-9).

3.4 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, assim como o desenvolvimento de terapias para o controle nos níveis elevados de pressão arterial.

Assim, a fim de entender melhor os mecanismos fisiopatológicos da HAS, desenvolveu-se diversos modelos animais de hipertensão, dentre estes, o modelo de hipertensão genética em ratos desenvolvido por Okamoto e Aoki em 1963, modelo de hipertensão espontânea (SHR), é reconhecido como excelente modelo de hipertensão experimental por ter sido desenvolvido por

reprodução genética meticulosa sem nenhum recurso fisiológico, farmacológico ou cirúrgico, e que resultou em animais naturalmente portadores de doença hipertensiva em 100% dos descendentes (Okamoto *et al.*, 1966).

O rato espontaneamente hipertenso (SHR) é o modelo experimental de hipertensão arterial que mais se assemelha ao desenvolvimento da hipertensão humana, uma vez que é observado nele alterações no sistema nervoso autônomo, como hiperatividade simpática, o aumento da pressão arterial se dá de forma progressiva e se associa a outros fatores de risco, como a hipertrofia ventricular esquerda, resistência à insulina, hipertrigliceridemia, intolerância à glicose (Gouveia; Kettelhut; Foss, 2000; Pravenec *et al.*, 2004), hiperatividade do SRAA, predisposição genética para hipertensão sem etiologia específica, e aumento da resistência periférica total sem expansão do volume, da mesma forma que se apresenta em humanos, bem como desbalanço de fatores natriuréticos, gerando lesão em órgãos alvos e disfunção vascular (Fazan *et al.*, 2006; Thomas *et al.*, 1997).

Os animais SHR começam a desenvolver hipertensão a partir da quinta semana de vida, apresentando valores pressóricos que caracterizam a hipertensão entre a 7ª e 15ª semanas, com níveis pressóricos altos estabilizados entre a 20ª e 28ª semanas de idade, com média da pressão arterial sistólica para SRH de aproximadamente 190-200 mmHg, comparada com 115-130 mmHg para os animais wistar (Yamori, 1984; Zicha; Kunes, 1999).

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 (Thomas *et al.*, 1997). Assim, tornando-o reconhecido como um excelente modelo de hipertensão experimental e servindo como modelo de estudo clínico da hipertensão essencial humana (Fazan Jr; Silva; Salgado, 2001).

3.5 Carvacrol

O carvacrol é um monoterpeneo presente nos óleos essenciais, oriundo do orégano (*Origanum vulgares*, *O. dictamnus* e *O. majorana*) e tomilho (*Thymus vulgaris*, *T. capitatus* e *T. serpyllum*) (Can Baser, 2008; Santos *et al.*, 2011; Suntres; Coccimiglio; Alipour, 2015).

O carvacrol ou 5-isopropil-2-metil-fenol, tem fórmula molecular C₁₀H₁₄O, com massa molecular de 150 g/mol, sendo um líquido amarelo em temperatura ambiente (Llana-Ruiz-Cabello *et al.*, 2014).

A literatura tem mostrado diversas ações biológicas do carvacrol, destacam-se as propriedades antimicrobiana, antifúngica (Gonelimali *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2017), anti-

inflamatória (LIU et al., 2018), anticancerígenas (Arunasree, 2010; Baranauskaite *et al.*, 2017), antioxidantes (BELLÉS et al., 2019) e 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 reconhecido como uma substância segura pela *Food and Drug Administration* (FDA) (VERA; CHANEMING, 1999; THOMPSON et al., 2003; SANTOS et al., 2011).

3.5.1 Efeitos hemodinâmicos do carvacrol

O primeiro trabalho a demonstrar um efeito do carvacrol sobre a pressão arterial, foi um estudo conduzido por Aydin *et al.* (2007), 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 e carvacrol. Neste estudo, foi verificado de maneira aguda que a aplicação de carvacrol, via intraperitoneal em animais normotensos, promove 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 *et al.* (2015), 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.

A maioria desses estudos que se propuseram a investigar os efeitos do carvacrol sobre o comportamento da pressão arterial, utilizaram-se de delineamentos envolvendo animais normotensos e, em alguns casos, induzindo hipertensão por meio de LNAME e angiotensina II, observando tanto efeito hipotensor quanto anti-hipertensivo (AYDIN *et al.*, 2007; DANTAS *et al.*, 2015). Porém, estes modelos não conseguem mimetizar fielmente os aspectos fisiológicos da hipertensão arterial sistêmica observada em humanos.

O estudo de Barreto Da Silva *et al.* (2020), foi o primeiro a propor um delineamento utilizando um modelo com ratos espontaneamente hipertensos (SHR), visando avaliar os efeitos

de 21 dias de tratamento com carvedilol (via oral) sobre a pressão arterial. 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.

3.5.2 Efeito vasorrelaxante do carvedilol

Alguns trabalhos atribuíram o vasorrelaxamento, como o principal mecanismo que justifica o efeito hipotensor e anti-hipertensivo do carvedilol. Entretanto, já são conhecidos outros mecanismos a nível vascular atribuídos ao carvedilol.

A fisiopatologia da hipertensão e complicações cardiovasculares tem envolvimento de alterações no sistema nervoso autonômico simpático e aumento da resistência vascular periférica (RVP) (Pérez-Vizcaíno *et al.*, 1998). A norepinefrina exerce ação vasoconstrictora mediante regulação das concentrações intracelulares de cálcio, e medeia essa resposta contrátil na musculatura lisa vascular (MLV), via ativação de receptores α 1-adrenérgicos acoplados a proteínas G, o que induz a formação de segundos mensageiros como o inositol trifosfato (IP₃), que corrobora para o aumento das concentrações de cálcio intracelular na MLV (Docherty, 2010; Marín *et al.*, 1998). 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 CAVs (Gurney, 1994). Assim, pesquisas vêm sendo realizadas para estudar as propriedades do carvedilol sobre a modulação da resposta contrátil na MLV, bem como nas disfunções endoteliais vasculares.

Dentro os estudos que se propuseram a estudar alguns desses mecanismos, temos o de Aydin *et al.* (2007). Estes autores verificaram o efeito do carvedilol (10^{-4} M) em anéis de aorta isolada de ratos Sprague-Dawley, adultos, frente a diferentes ferramentas farmacológicas contráteis, a saber o KCl, fenilefrina (Phe), um agonista α 1-adrenérgico e cloreto de cálcio (CaCl₂). Os resultados encontrados descartam o envolvimento do carvedilol na modulação vascular por bloqueio de receptores adrenérgicos ou envolvimento de CAVs.

Por outro lado, Peixoto-Neves *et al.* (2010), avaliaram os efeitos do carvedilol (10^{-3} M) em anéis de aorta isolada de ratos Wistar. Os autores mostraram que a pré-exposição dos anéis de aorta, com endotélio intacto ao carvedilol (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. Nas curvas de concentração-resposta para cálcio na artéria aorta

despolarizada por KCl, demonstraram que o carvacrol também reduziu a magnitude da contração em 68%. Corroborando com estes resultados, a pesquisa realizada por Costa *et al.* (2021) e Dias *et al.* (2022), mostraram 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.

O carvacrol também foi avaliado na modulação da vasoconstrição induzida por chumbo (PbII) em artéria aorta de ratos (Shabir *et al.*, 2014). 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. Os autores sugerem o efeito do carvacrol sobre a hipercontração chumbo-induzida em aorta de ratos envolve a síntese de NO e inibição das espécies reativas de oxigênio, devido o chumbo promover ativação das espécies reativas de oxigênio e inibição da síntese de NO.

Dantas *et al.* (2015), avaliaram o carvacrol em artéria mesentérica de ratos pré - contraídas com Phe (10 μ M). E obtiveram que o carvacrol (10^{-8} e 3×10^{-4} M) induziu vasorrelaxamento em anéis de artéria mesentérica com e sem endotélio funcional. Na presença de U46619 (10 μ M) ou na presença de KCl (80 mM), o carvacrol não modificou o padrão vasorrelaxante. Neste mesmo estudo, os autores investigaram se o mecanismo vasorrelaxante do carvacrol envolvia a participação de canais de potássio. Para essa investigação, eles utilizaram preparações de artéria mesentérica pré-contraídas 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. E, para descartar a participação dos canais de potássio ativados por cálcio de alta condutância (BKCa), verificaram 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 pesquisadores (Dantas *et al.*, 2015) e como resultado, o carvacrol reduziu de maneira concentração - dependente as contrações induzidas por Bay K 8644 (200 nM), sugerindo envolvimento de CAVs. 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.

Outro estudo verificou a capacidade do carvacrol em afetar a migração e proliferação de células da MLV de aorta de ratos (Lee *et al.*, 2015). Nesse mesmo estudo, foi avaliado o

efeito do carvacrol (0,03 – 3 μ M) na neoformação da camada íntima de carótida de ratos após lesão induzida. E, os resultados 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 angiogênico (Matluobi *et al.*, 2018), contudo, essa resposta vem sendo verificada em células-tronco mesenquimais humanas através de estudos *In Vitro*. Esses autores revelaram que o carvacrol induziu 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.

3.5.3 Efeito cardioprotetor do carvacrol

O carvacrol também apresenta propriedades cardioprotetoras. O infarto agudo do miocárdio leva a consequências drásticas no funcionamento do coração, como o remodelamento cardíaco, provocado pelo aumento da rigidez da matriz extracelular (MEC), decorrente do aumento da diferenciação de celular dos fibroblastos (Allawadhi *et al.*, 2018). O estudo de Adapala *et al.* (2013), foi o primeiro a mostrar, *In Vitro*, que os mecanismos moleculares que levavam ao aumento da diferenciação celular dos fibroblastos tinham como ponto chave a expressão dos canais potenciais do receptor transiente dependente de voltagem (TRPV4), canais sensíveis ao influxo de cálcio. 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 o infarto agudo do miocárdio (Allawadhi *et al.*, 2018). Estes pesquisadores ao inibirem os canais TRPV4, utilizando carvacrol, verificaram que a diferenciação fibroblástica induzida por TGF- β 1 não foi inibida, porém, 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).

No trabalho conduzido por Yu; Liu e Zhu (2013), o objetivo foi mostrar a propriedade cardioprotetora do carvacrol a um evento de infarto do miocárdio. Para isso, os autores conduziram os experimentos com ratos adultos Wistar, 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. 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. Eles também observaram efeitos antioxidante e antiapoptótico do carvacrol, sendo o primeiro demonstrado pela redução, nos grupos tratados, da atividade das enzimas malondialdeído (MDA), superóxido dismutase (SOD), glutatona não exsudativa enzimática (GSH), bem como da glutatona 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. Assim, estes resultados mostram que o carvacrol foi eficiente para atenuar os prejuízos causados pelo infarto agudo do miocárdio.

Em outro estudo realizado por Chen *et al.* (2017), utilizando o mesmo protocolo de Yu; Liu e Zhu (2013) para indução de infarto, os autores 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. Estes autores, 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 carvacrol (Chen *et al.*, 2017). Neste mesmo estudo, também foi investigada 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 ao inibir a ERK com PD-98059, a propriedade cardioprotetora do carvacrol foi inibida. Assim, Chen *et al.* (2017), demonstram o envolvimento da via MAPK-ERK nos mecanismos anti-apoptóticos do carvacrol.

Através de ensaios *in vivo* e *in vitro*, Jamhiri *et al.* (2019), observaram reduções na fibrose cardíaca e na expressão gênica do peptídeo natriurético atrial, fator chave para a via de remodelamento cardíaco. E Costa *et al.* (2021), apresentaram resultados qualitativos que evidenciam um papel cardioprotetor do carvacrol sobre o remodelamento cardíaco imposto pela hipertensão arterial. Neste estudo, os ratos (SHR) foram tratados (via oral) com 20 mg/kg de carvacrol por quatro semanas. Já trabalho realizado por Almanaitytė; Jurevičius e Mačianskienė (2020), demonstrou atividade antiarrítmica do carvacrol, 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.

Assim, ainda são necessários estudos que se proponham a estudar as propriedades cardiovasculares atribuídas ao carvacrol, principalmente utilizando modelos de hipertensão que

melhor mimetize a hipertensão humana, visto que ainda é desconhecido se carvacrol pode diminuir a atividade de enzimas chaves do sistema renina angiotensina, regularizando a PA e reduzindo os riscos ao sistema cardiovascular.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostra

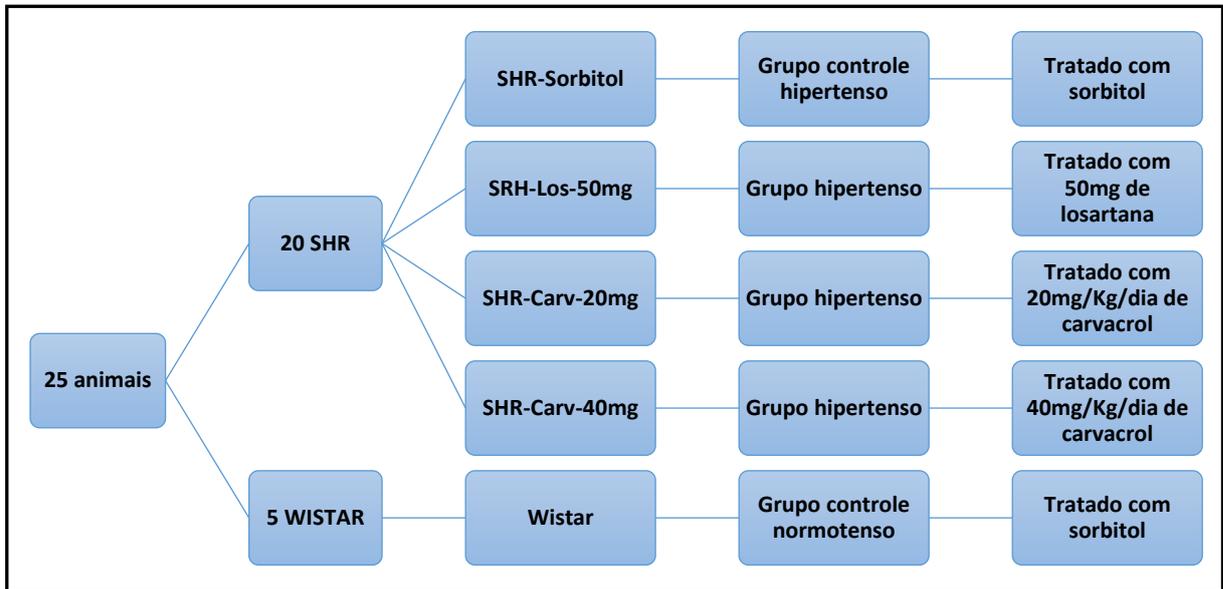
Para realização deste estudo foram utilizados ratos da espécie *Rattus norvegicus*, normotensos (Wistar) e ratos espontaneamente hipertensos (SHR), machos, adultos, com peso de 200 a 250 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão - UFMA. O tamanho amostral foi estimado a partir de cálculos estatístico pelo método power analysis pelo software G*power, levando em consideração os testes da família f, especificamente o effect size (f^2) de valor 0,18; intervalo de confiança de 0,95 e erro probabilístico de 0,05.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as Diretrizes para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, publicado pelo *National Institutes of Health* (NIH Publication No. 85-23, revisto 1996). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão, de acordo com as Diretrizes para Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, sobre o protocolo de nº 23115.004102/2019-21.

4.2 Etapas da pesquisa

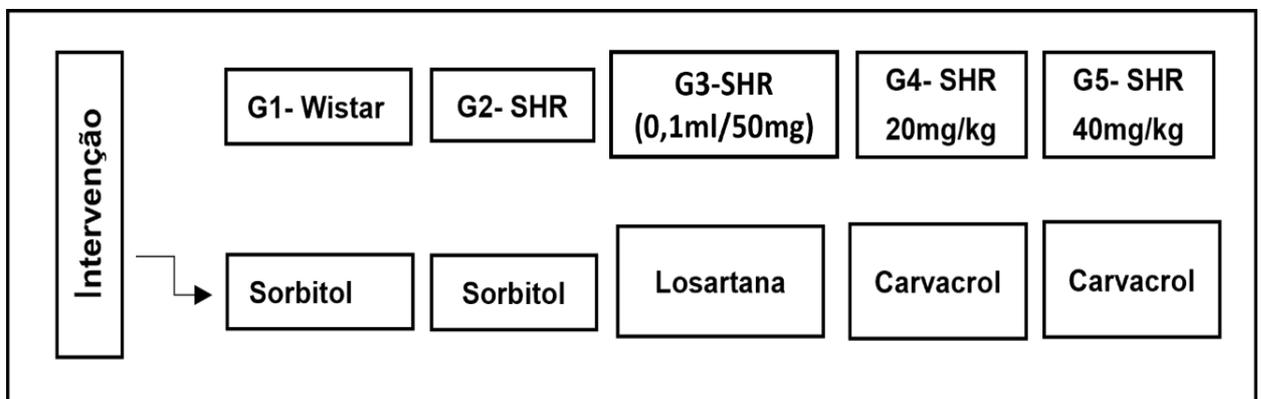
A amostra foi composta por vinte e cinco animais, sendo 5 animais wistar e 20 animais SHR, machos, com 90 dias de idade e foram fornecidos pela Universidade Federal do Maranhão. Os animais foram mantidos em condições normais de microclima, com ciclo claro-escuro (12h:12h), água e dieta padrão *ad libitum*. Os animais wistar compuseram o grupo controle normotenso, enquanto os SHR foram randomizados em quatro grupos, sendo: SHR-Sorbitol, composto por 4 animais; SHR-Los-50mg, composto por 5 animais; SHR-Carv-20mg, composto por 6 animais; SHR-Carv-40mg, composto por 5 animais (Figura 2).

O carvacrol ($C_{10}H_{14}O$) com sua estrutura bioquímica (5-Isopropil-2-metilfenol), foi obtido da Sigma, com massa molecular de 150,217 g/mol e densidade de 0,98 (Dantas *et al.*, 2015). Este foi administrado nas doses de 20 mg/kg/dia e 40 mg/kg/dia, suspenso em solução de sorbitol, e administrado por gavagem uma vez por dia, por 30 dias consecutivos. O sorbitol também foi administrado por gavagem por igual período, nas doses de 0,1 mL/100 g nos grupos controle (Wistar e SHR-Sorbitol). Além disso, a dose foi ajustada de acordo com o peso corporal dos animais.

Figura 2: Grupos experimentais.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para eutanásia, os animais foram anestesiados por administração intraperitoneal (ip) de cetamina (50 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg). As carcaças foram acondicionadas em freezer devidamente identificadas e encaminhada ao Biotério Central da UFMA, de acordo com normas estabelecidas. Para a gavagem usamos a agulha de gavagem metálica (Agulha de aço inox, curva 18GA, cânula diâmetro 1,2mm, esfera de 2,25mm (distal), comprimento da cânula de 39mm, ângulo da agulha 9 graus).

Figura 3: Protocolo experimental.

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3 Avaliação da pressão arterial e frequência cardíaca

A PAM (pressão arterial média), PAS (pressão arterial sistólica), PAD (pressão arterial diastólica) e frequência cardíaca (FC) foram registradas pelo método indireto de pletismografia de pulso de cauda semanalmente por quatro semanas. De acordo com este protocolo, um manguito de oclusão de tamanho apropriado foi colocado ao redor da cauda dos animais e conectado a um pletismógrafo (LE 5001 Pressure Meter, Panlab, Cornella, Spain). Uma média de três medidas foi obtida para cada animal. Para a medição da pressão arterial, os animais foram aquecidos a 42 ° C por 3 min em uma gaiola de confinamento. Os animais foram submetidos a um período de adaptação por 15 dias antes dos experimentos e apenas SHR com PAS > 170mmHg foram selecionados para este estudo.

4.4 Ação do carvacrol sobre a evolução ponderal e consumo de ração

Os animais foram pesados a cada dois dias ao longo de quatro semanas, utilizando uma balança digital. O consumo de ração foi estimado ao se pesar o saldo de ração permanente na gaiola e subtrair o valor encontrado da quantidade de ração que foi colocada para consumo dos animais. O valor encontrado após a subtração foi dividido pela quantidade de animais (4 por gaiola) para se chegar ao consumo estimado de ração dos animais.

$$\text{Ração para consumo}(g) - \text{Ração permanente}(g) = \text{Ração consumida por gaiola}(g)$$

$$\text{Consumo estimado de ração por animal} = \frac{\text{Ração consumida por gaiola}(g)}{\text{N}^\circ \text{ de animais por gaiola}}$$

4.5 Determinação de parâmetros bioquímicos séricos

Após o período de jejum de 12 h, procedeu-se à eutanásia dos animais, foi coletado sangue da artéria abdominal em tubos sem anticoagulante e centrifugado a 3.500 rpm por 10 min. O soro foi separado para dosagem de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), creatinina, colesterol total e lipoproteínas de alta (HDL) e baixa densidade (LDL) por meio de kits Labtest® (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). As análises foram realizadas em duplicata a 37 °C usando um espectrofotômetro semiautomático (BIO, 2000; BioPlus, São Paulo, Brasil).

4.5.1 Concentrações séricas de ANG (1-7) e ECA I

A determinação da Ang 1-7 e ECA I foram medidas com os kits de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA - ELx800, BIO TEK®) para ratos (Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute) de acordo com as instruções do fabricante.

4.6 Análise RT-PCR em tempo real de mRNA MAS e AT1

As amostras de tecido cardíaco foram depositadas em tubos de 2,0 ml contendo RNA later (invitrogen). O material coletado foi armazenado em freezer -20° durante 24 horas e após 24 horas em freezer a -80°C até o uso.

O RNA foi extraído das amostras como descrito pelo manual de uso da ReliaPrep™ RNA Tissue Miniprep System (Promega). O RNA extraído foi transformado em cDNA seguindo as recomendações do manual de uso GoTaq® 2-Step RT-qPCR System (promega). O RNA e cDNA foram quantificados e sua pureza verificada através do espectrofotômetro NanoDrop-One (Thermofisher, USA).

Os RT-qPCRs foram realizados usando o master mix Power UPTM SYBR Green para três sequências-alvo: o gene GAPDH, como um controle endógeno para normalização, e as sequências de regiões não homólogas dos receptores MAS e AT1, conforme protocolo usado no estudo de Dias *et al.* (2022). Todos os primers utilizados neste estudo estão listados na tabela 2.

Tabela 2- Iniciadores de sequência de nucleotídeos utilizados na reação de PCR-tempo real.

Primes	Sequência (5' -3')
MAS F	CTGGTCAACCTTTGGGAACCT
MAS R	AAAGGGTTGGCGCTGCTA
AT1 F	TTCGTGGCTTGAGTCCTGTT
AT1 R	GGTGATCACTTTCTGGGAGGG
GAPDH F	TCCCTGAGCTGAACGGGAAG
GAPDH R	GGAGGAGTGGGTGTCGCTGT

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.7 Análise estatística

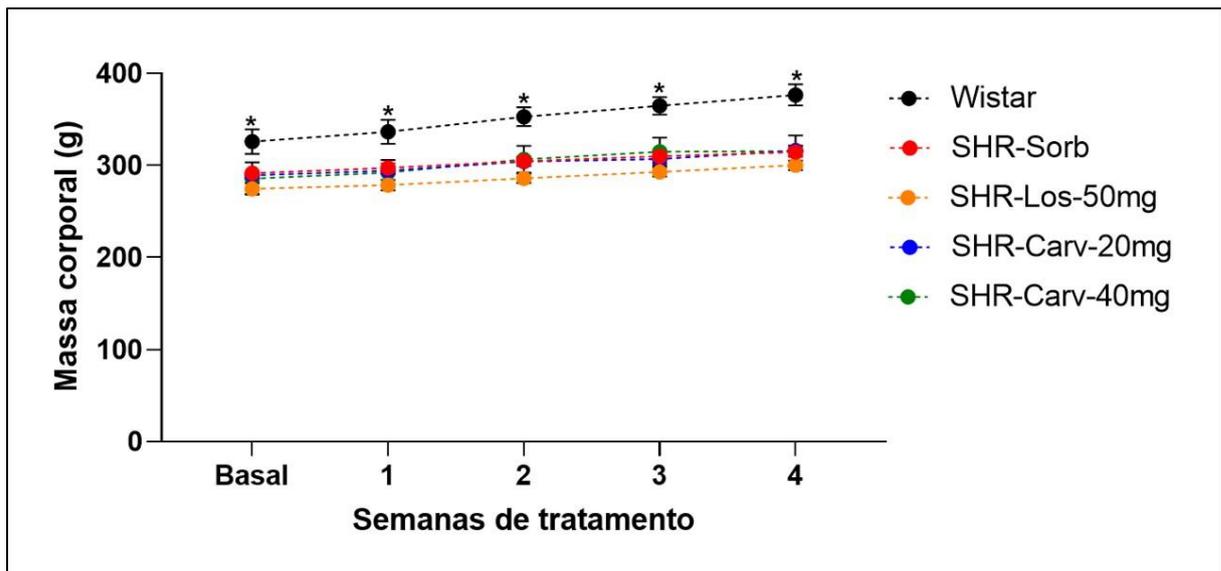
Os dados foram analisados por meio do software estatístico GraphPad Prism 8.4.2 (GraphPad, San Diego, Califórnia, EUA). Os resultados são apresentados de acordo com a estatística descritiva (média e desvio padrão). A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Para análise do efeito do tratamento ao longo do tempo sobre a pressão arterial, foi utilizado uma ANOVA de dois fatores com medidas repetidas. Em adição, a fim de comparar o efeito dos tratamentos nas variáveis bioquímicas, expressão gênica e níveis séricos de ECA e Ang 1-7, foi realizado ANOVA de um fator. O Post Hoc de Tukey foi aplicado em todas as análises de variância, assumindo-se como significativo o valor de $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Efeito do tratamento oral do carvedilol sobre consumo de ração e evolução ponderal dos animais

A Figura 4 apresentada abaixo, demonstra a evolução da massa corporal (controle ponderal) dos animais ao longo das quatro semanas de tratamento. A partir da análise desta Figura, é possível observar que o controle normotenso (Wistar) apresenta maior massa corporal no momento basal e ao longo das quatro semanas de tratamento quando comparados aos animais SHR dos demais grupos.

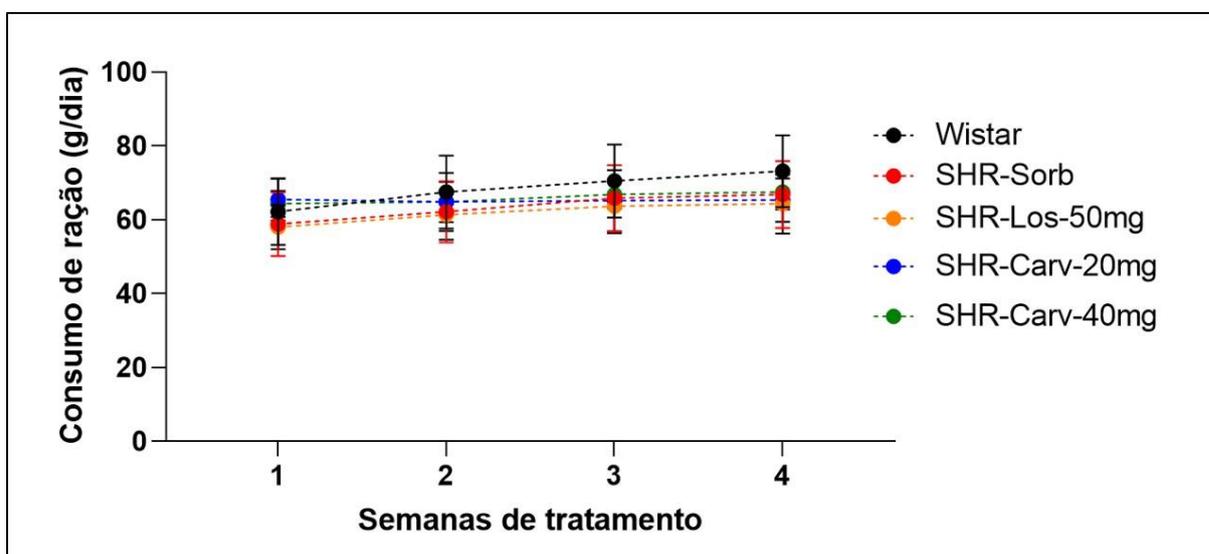
Figura 4. Evolução da massa corporal dos animais tratados ao longo de quatro semanas de tratamento.



Wistar, grupo controle normotenso; SHR, grupo controle hipertenso; Los-50mg, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; Carv-20mg., grupo tratado com 20mg de carvedilol; Carv-40mg., grupo tratado com 40mg de carvedilol; *, comparado aos demais grupos; ANOVA de dois fatores, $p \leq 0.05$.

Na Figura 5 apresentada abaixo, temos o consumo de ração dos animais ao longo das quatro semanas de tratamento. Analisando a Figura, pode-se observar que o consumo de ração relativo foi semelhante entre todos os grupos da pesquisa.

Figura 5. Consumo de ração dos animais tratados ao longo de quatro semanas de tratamento.



Wistar, grupo controle normotenso; **SHR**, grupo controle hipertenso; **Los-50mg**, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; **Carv-20mg.**, grupo tratado com 20mg de carvacrol; **Carv-40mg.**, grupo tratado com 40mg de carvacrol; ANOVA de dois fatores, $p \leq 0.05$.

5.2 Efeito do carvacrol sobre níveis séricos de parâmetros bioquímicos renais e hepáticos

Em continuidade, os resultados descritos na tabela 3 apresentam os níveis séricos de parâmetros bioquímicos de todos os animais ao longo de quatro semanas de tratamento oral com carvacrol (Carv-20mg e Carv-40mg).

Os dados sugerem que os animais tratados com Carvacrol 40 mg/Kg, apresentaram melhor níveis lipídicos, quando comparados aos demais. Em paralelo, não houve diferença significativa entre os grupos quanto aos níveis séricos de ALT e CT.

Tabela 3. Efeito do tratamento oral com carvacrol sobre os parâmetros bioquímicos séricos dos animais tratados.

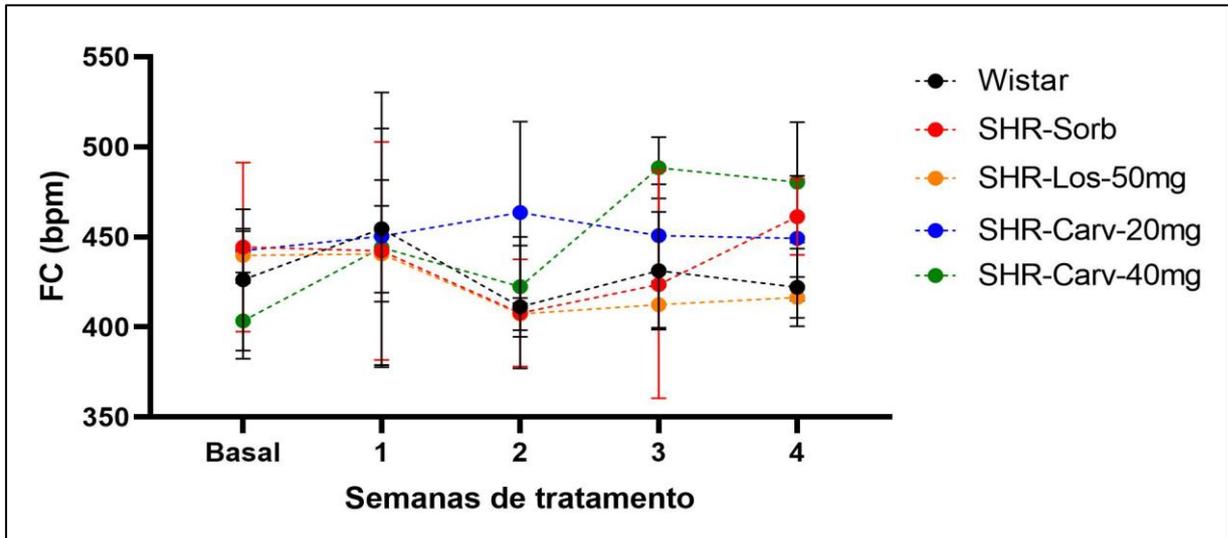
Parâmetros	Wistar	SHR-sorb	SHR-Los-50mg	SHR-Carv-20mg	SHR-Carv-40mg
ALT (UL/I)	61,00 ± 6,06	68,03 ± 7,87	75,03 ± 19,42	62,13 ± 6,51	77,50 ± 42,31
AST (UL/I)	126,50 ± 5,92	174,78 ± 4,36 ^a	162,75 ± 3,77 ^a	163,53 ± 2,72 ^a	118,75 ± 32,54 ^{b,c,d}
Creat (mg/ml)	0,80 ± 0,08	0,50 ± 0,08 ^a	0,50 ± 0,08 ^a	0,55 ± 0,06 ^a	0,63 ± 0,05 ^a
CT (mg/dl)	63,50 ± 17,99	54,00 ± 4,24	54,25 ± 3,40	53,25 ± 2,75	54,75 ± 2,22
HDL (mg/dl)	25,28 ± 5,28	21,00 ± 2,16	21,25 ± 6,24	23,00 ± 5,35	31,00 ± 5,23 ^b
LDL (mg/dl)	38,53 ± 13,32	29,48 ± 9,76	30,40 ± 5,43	21,95 ± 3,84	19,45 ± 4,97 ^a

Média ± desvio padrão; ALT, alanina aminotransferase; AST, aspartato aminotransferase; Creat, creatinina; CT, colesterol total; HDL, lipoproteína de alta densidade; LDL, lipoproteína de baixa densidade; Wistar, grupo controle normotenso; SHR-sorb, grupo controle hipertenso; SHR-Los-50mg, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; SHR-Carv-20mg., grupo tratado com 20mg de carvacrol; SHR-Carv-40mg., grupo tratado com 40mg de carvacrol; a, comparado ao grupo wistar; b, comparado ao grupo SHR-Sorb; c, comprado ao grupo SHR-Los-50g; d, comparado ao grupo SHR-Carv-20mg; ANOVA de um fator, $p \leq 0.05$.

5.3 Efeito do carvacrol sobre parâmetros hemodinâmicos

A Figura 6 a seguir, apresenta o comportamento da frequência cardíaca dos animais ao longo de quatro semanas de tratamento oral com o carvacrol nas doses de 20 mg/Kg e 40 mg/Kg. Aqui, é possível observar que o comportamento da frequência cardíaca é semelhante entre os grupos em todas as semanas de tratamento, não sendo identificado efeito de tempo e tipo de tratamento para o carvacrol, em ambas as doses avaliadas.

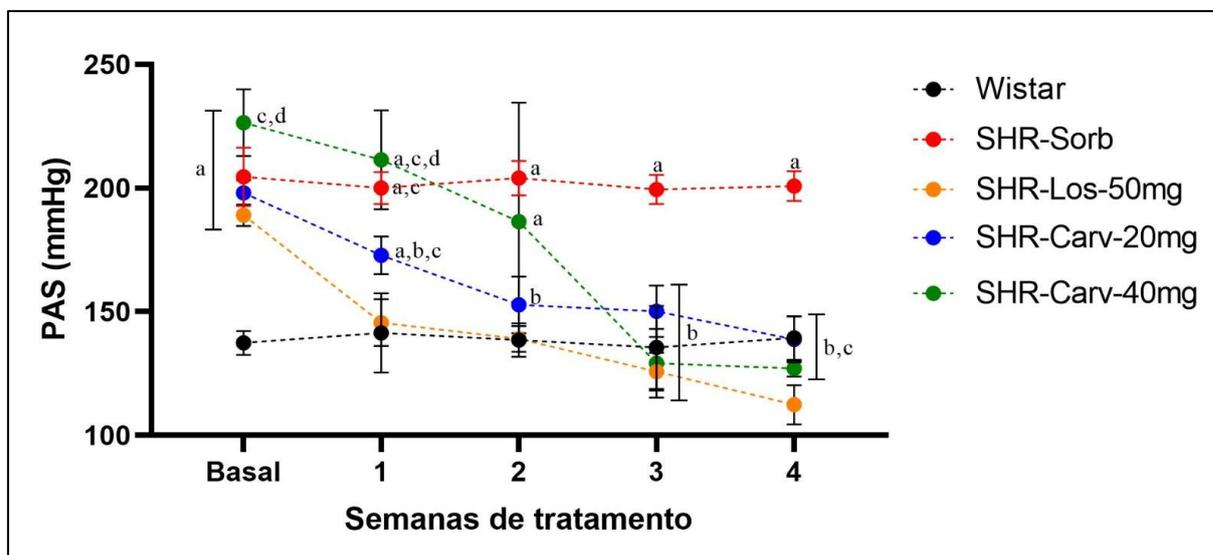
Figura 6. Comportamento da frequência cardíaca dos animais ao longo de quatro semanas de tratamento.



Wistar, grupo controle normotenso; **SHR-Sorb**, grupo controle hipertenso; **SHR-Los-50mg**, grupo controle padrão tratado com 50mg de losartana; **SHR-Carv-20mg**, grupo tratado com 20mg de carvacrol; **SHR-Carv-40mg**, grupo tratado com 40mg de carvacrol; **FC**, frequência cardíaca; bpm, batimentos por minuto; ANOVA de dois fatores, $p \leq 0.05$.

Em continuidade, a Figura 7 permite observar a resposta da PAS, frente ao tratamento oral com o Carvacrol 20 mg/Kg e 40 mg/Kg, durante quatro semanas. Os resultados demonstram que no momento basal (pré-tratamento), os grupos de animais SHR-Sorb ($204,60 \pm 11,74$ mmHg; p valor 0,003; IC -89,43 a -44,97), SHR-Los-50mg ($189,00 \pm 4,30$ mmHg; p valor $< 0,0001$; IC -61,62 a -41,58), SHR-Carv-20mg ($198,00 \pm 5,15$ mmHg; p valor $< 0,0001$; IC -71,51 a 49,69) e SHR-Carv-40mg ($226,40 \pm 13,50$ mmHg; p valor 0,0002; IC -114,7 a -63,29) apresentaram níveis mais elevados de PAS quando comparados aos animais Wistar ($137,40 \pm 4,83$ mmHg). Passado uma semana de tratamento, identifica-se que a PAS do grupo SHR-Los-50mg ($145,60 \pm 9,45$ mmHg) já se assemelha a do grupo Wistar ($141,40 \pm 15,98$ mmHg; p valor 0,9839; IC -34,57 a 26,17), com redução da PAS em 22,96%. Interessantemente, nesse momento, o grupo SHR-Carv-20mg ($172,80 \pm 7,66$ mmHg) mostra níveis pressóricos significativamente menores em relação aos grupos SHR-Sorb ($200,00 \pm 6,48$ mmHg; p valor 0,002; IC 11,59 a 42,81) e SHR-Carv-40mg ($211,40 \pm 19,99$ mmHg; p valor 0,047; IC -76,56 a -0,6362).

Figura 7. Comportamento da pressão arterial sistólica dos animais ao longo de quatro semanas de tratamento.



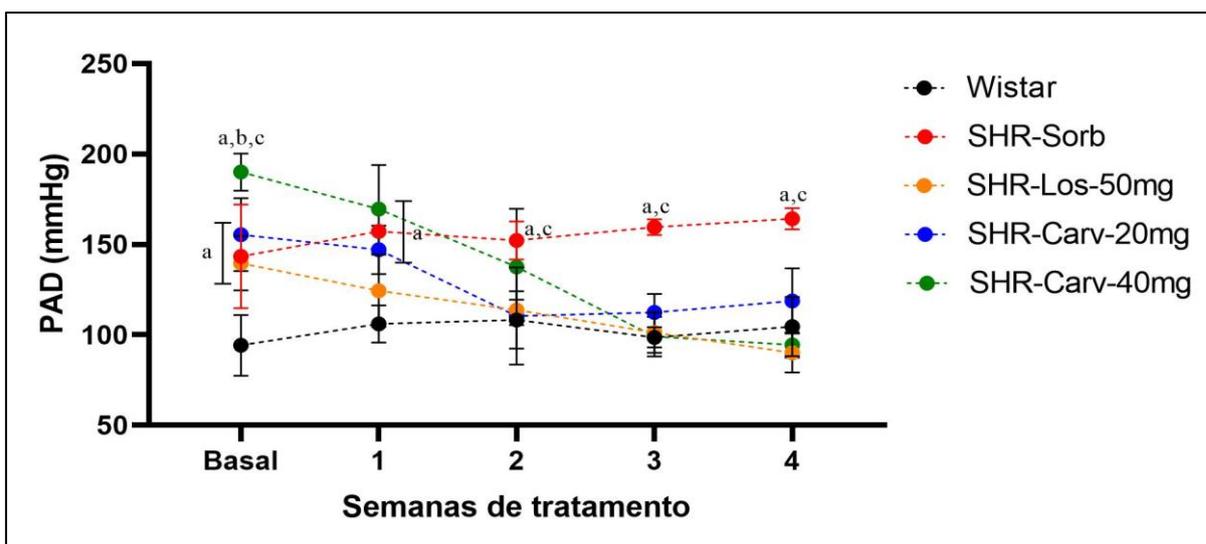
Wistar, grupo controle normotenso; SHR-Sorb, grupo controle hipertenso; SHR-Los-50mg, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; SHR-Carv-20mg, grupo tratado com 20mg de carvacrol; SHR-Carv-40mg, grupo tratado com 40mg de carvacrol; PAS, pressão arterial sistólica; mmHg, milímetro de mercúrio; a, comparado ao grupo wistar; b, comparado ao grupo SHR-Sorb; c, comprado ao grupo SHR-Los-50g; d, comparado ao grupo SHR-Carv-20mg; ANOVA de dois fatores, $p \leq 0.05$.

Ainda sobre comportamento da PAS descrito acima e observado na Figura 7, observa-se normalização na PAS do grupo SHR-Carv-40mg ($129,20 \pm 13,87$ mmHg; p valor 0,9600; IC -27,47 a 40,27) somente a partir da terceira semana de tratamento, cuja redução alcançou 57,07%. Neste momento, o grupo SHR-Carv-20mg já havia equalizado os valores de PAS aos mesmos níveis dos grupos Wistar e Los-50mg. Ao final das quatro semanas de tratamento, os grupos, SHR-Carv-20mg ($138,80 \pm 9,26$ mmHg; p valor $> 0,999$; IC -19,20 a 20,40) e SHR-Carv-40mg ($127,00 \pm 3,24$ mmHg; p valor 0,1426; IC -4,433 a 29,23), mostram valores de PAS semelhantes aos animais normotensos ($139,40 \pm 8,45$ mmHg), enquanto o grupo SHR-Los-50mg ($112,40 \pm 7,92$ mmHg) apresenta níveis pressóricos menores que os demais grupos.

O comportamento da PAS descrito acima e observado na Figura 7, se reproduz de forma semelhante nas curvas de pressão arterial diastólica e pressão arterial média, apresentadas nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Esses resultados sugerem que o carvacrol, na menor dose avaliada, apresenta uma ação anti-hipertensiva mais precoce, por via oral, quando comparado à maior dose estudada. Ainda, a partir dos dados obtidos, observa-se que o comportamento do carvacrol sobre os níveis pressóricos vão otimizando ao longo do tratamento, atingindo um

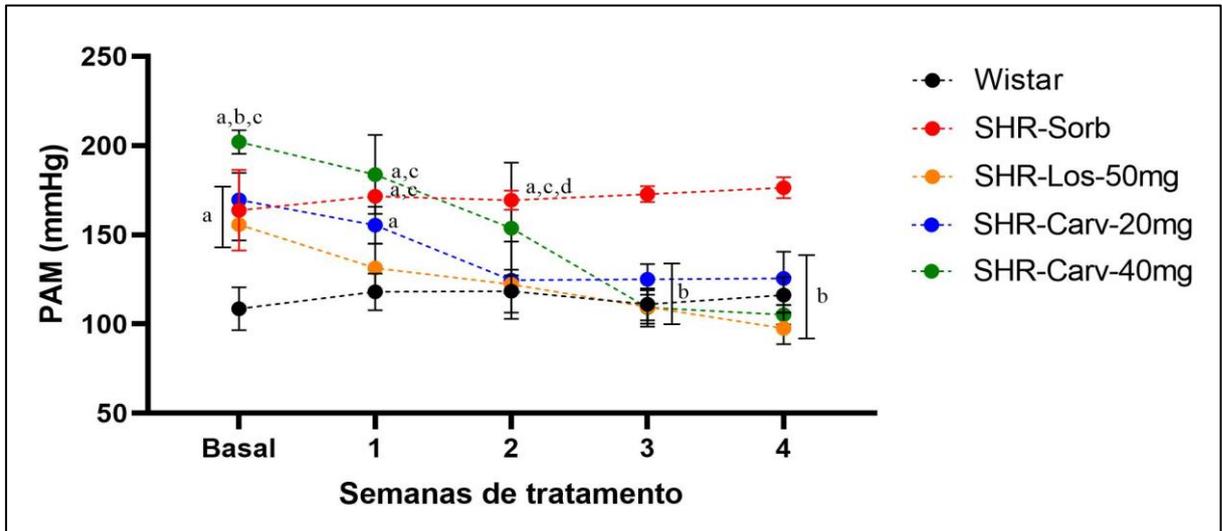
efeito de normotensão na quarta semana, sugerindo um efeito anti-hipertensivo tempo-dependente para esse monoterpreno.

Figura 8. Comportamento da pressão arterial diastólica dos animais tratados ao longo de quatro semanas de tratamento.



Wistar, grupo controle normotenso; **SHR-Sorb**, grupo controle hipertenso; **SHR-Los-50mg**, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; **SHR-Carv-20mg.**, grupo tratado com 20mg de carvacrol; **SHR-Carv-40mg.**, grupo tratado com 40mg de carvacrol; **PAD**, pressão arterial diastólica; **mmHg**, milímetro de mercúrio; **a**, comparado ao grupo wistar; **b**, comparado ao grupo SHR-Sorb; **c**, comprado ao grupo SHR-Los-50g; **d**, comparado ao grupo SHR-Carv-20mg; ANOVA de dois fatores, $p \leq 0.05$.

Figura 9. Comportamento da pressão arterial média dos animais tratados ao longo de quatro semanas de tratamento.

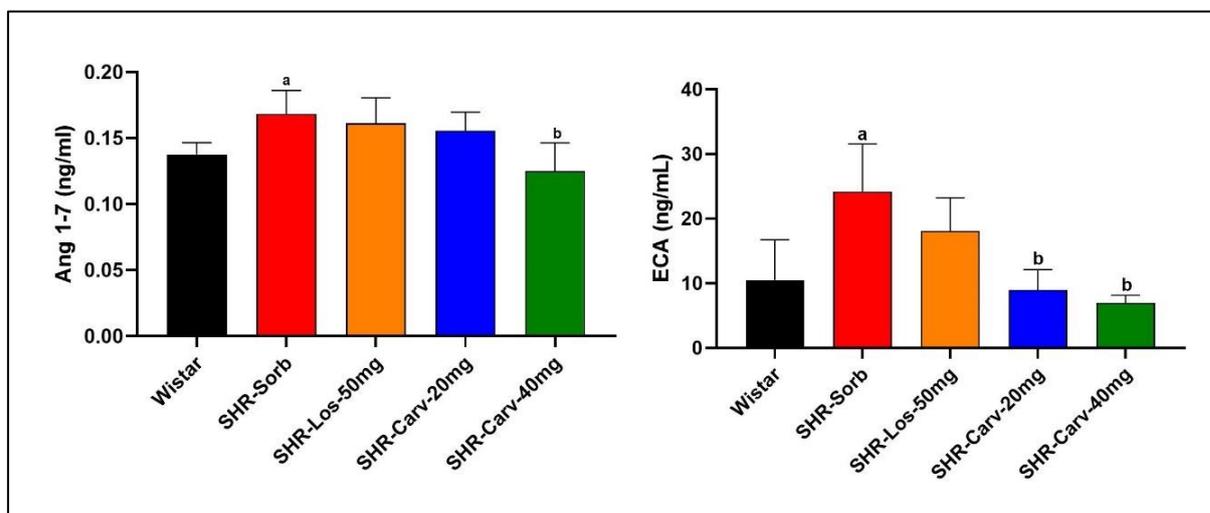


Wistar, grupo controle normotenso; SHR-Sorb, grupo controle hipertenso; SHR-Los-50mg, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; SHR-Carv-20mg., grupo tratado com 20mg de carvacrol; SHR-Carv-40mg., grupo tratado com 40mg de carvacrol; PAM, pressão arterial média; mmHg, milímetro de mercúrio; a, comparado ao grupo wistar; b, comparado ao grupo SHR-Sorb; c, comprado ao grupo SHR-Los-50g; d, comparado ao grupo SHR-Carv-20mg; ANOVA de dois fatores, $p \leq 0.05$.

5.4 Efeito do carvacrol sobre níveis séricos de Ang 1-7 e ECA-I

Em relação aos níveis séricos de Ang 1-7 e ECA-I ao final do tratamento, os resultados apresentados no gráfico (Figura 10), demonstram que o tratamento oral com carvacrol na maior dose, SHR-Carv-40 mg, apresentou níveis séricos de Ang 1-7 estatisticamente comparáveis ao grupo normotenso. Paralelamente, na Figura 10, é possível perceber níveis séricos de ECA I significativamente menores nos grupos tratados com carvacrol, para ambas as doses, quando comparados ao grupo SHR-Sorb, sendo estatisticamente semelhantes aos níveis observados nos animais Wistar. O tratamento com losartana, em nosso estudo, não mostrou reduzir os níveis de Ang 1-7 e ECA I, uma vez que esse fármaco é um bloqueador de receptor AT1.

Figura 10. Efeitos do tratamento sobre os níveis séricos de angiotensina 1-7 e enzima conversora de angiotensina.



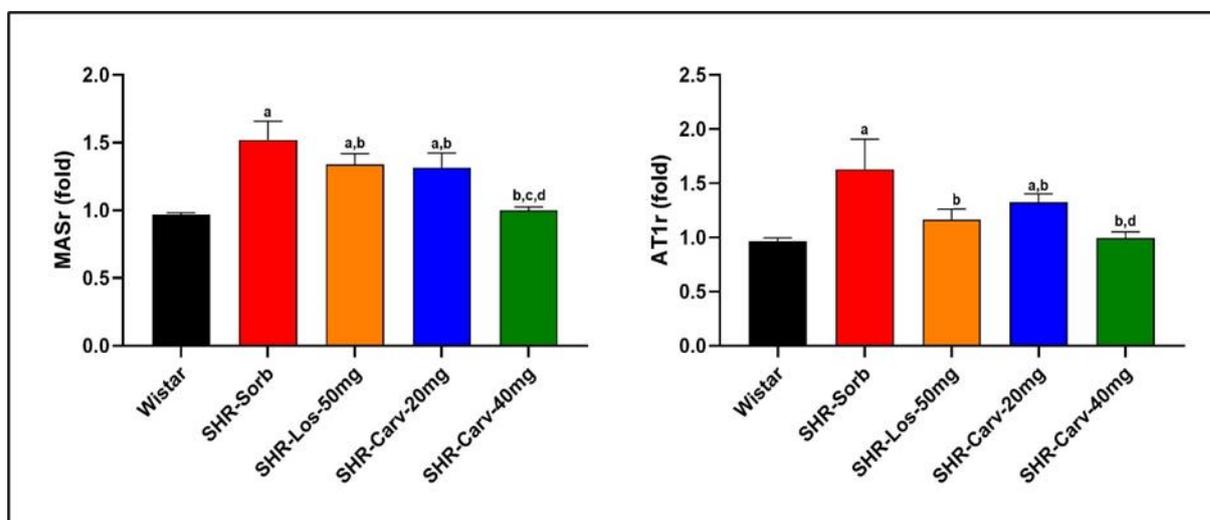
Ang 1-7, angiotensina 1-7; **ECA**, enzima conversora de angiotensina I; **Wistar**, grupo controle normotenso; **SHR-Sorb**, grupo controle hipertenso; **SHR-Los-50mg**, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; **SHR-Carv-20mg.**, grupo tratado com 20mg de carvacrol; **SHR-Carv-40mg**, grupo tratado com 40mg de carvacrol; **a**, comparado ao grupo wistar; **b**, comparado ao grupo SHR-Sorb; ANOVA de um fator, $p \leq 0.05$.

5.5 Efeito do carvacrol sobre a expressão gênica de receptores MAS e AT1

No que tange à expressão gênica dos receptores, MAS (receptor de Ang 1-7) e AT1 (receptor de angiotensina II), a Figura 11 abaixo apresenta os respectivos resultados.

Os dados permitem sugerir que os grupos SHR-Sorb, SHR-Los-50mg e SHR-Carv-20mg, apresentam maior expressão do receptor MAS, quando comparado ao grupo normotenso. Em contrapartida, no grupo SHR-Carv-40mg, constata-se atividade gênica semelhante ao grupo controle normotenso, sendo menor que os demais grupos tratados. Esses dados corroboram os resultados anteriores, sobre o efeito do carvacrol 40 mg/Kg sobre os níveis séricos de Ang 1-7 e permitem sugerir que nessa dose, esse monoterpene exerce seu efeito anti-hipertensivo, possivelmente por atuar na expressão desses receptores.

Figura 11. Efeitos do tratamento sobre a expressão gênica dos receptores, MAS e AT1, em células cardíacas.



MAS, receptor de Ang 1-7; AT1, receptor de angiotensina II; Wistar, grupo controle normotenso; SHR-Sorb, grupo controle hipertenso; SHR-Los-50mg, grupo controle positivo tratado com 50mg de losartana; SHR-Carv-20mg, grupo tratado com 20mg de carvacrol; SHR-Carv-40mg, grupo tratado com 40mg de carvacrol; a, comparado ao grupo wistar; b, comparado ao grupo SHR-Sorb; c, comprado ao grupo SHR-Los-50g; d, comparado ao grupo SHR-Carv-20mg; ANOVA de um fator, $p \leq 0.05$.

Ainda, na Figura 11, percebe-se uma expressão mais elevada do receptor AT1 nos grupos SHR-Sorb e SHR-Carv-20mg, quando comparados ao grupo controle Wistar. Entretanto, ainda assim, os grupos tratados com losartana (50 mg/Kg) e carvacrol (20mg/Kg e 40mg/Kg), obtiveram atividade gênica para o receptor AT1 menor que o grupo SHR-Sorb. Além disso, é possível destacar que a expressão gênica do receptor AT1 no grupo SHR-Carv-40mg e SHR-Los-50mg, é semelhante ao encontrado nos grupos Wistar. Esses achados, sugerem que o carvacrol modula o sistema renina-angiotensina, por intervir na expressão de receptores AT1, de maneira dependente de dose, com efeito proporcional à droga padrão losartana.

6 DISCUSSÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito anti-hipertensivo do tratamento com carvacrol (20mg/Kg/dia e 40mg/Kg/dia) sobre a modulação do sistema renina angiotensina (SRA), em SHR. A hipótese de que o carvacrol pudesse atenuar os níveis pressóricos através de modulações no SRA foi aceita. Os principais achados nesta pesquisa, apontam para um efeito anti-hipertensivo do carvacrol, que pode ser parcialmente explicado pela diminuição dos níveis séricos de ECA I e expressão gênica do receptor AT1 nos animais que compuseram os grupos Carv-20mg e Carv-40mg.

Os efeitos hipotensores do carvacrol já são bem conhecidos, sendo primeiramente descritos por Aydin *et al.* (2007). Outros trabalhos foram publicados nessa mesma linha, evidenciando resultados semelhantes (Dantas *et al.*, 2015; Feketa; Marrelli, 2015). Já o efeito anti-hipertensivo do carvacrol, utilizando modelo com ratos SHR foi publicado por Barreto Da Silva *et al.* (2020) e Costa *et al.* (2021), investigando principalmente os mecanismos vasculares. A partir deste ponto, Dias *et al.* (2022), conseguiram demonstrar que além da redução do tônus vascular, os animais SHR tratados com 20 mg/dia de carvacrol, reduziram a expressão gênica de receptores AT1 e aumentaram a expressão gênica de receptores MAS em tecido renal, sugerindo discretamente uma possível atuação do carvacrol na via do SRA, não apresentando resultados sobre a síntese de angiotensina II, ECA I e angiotensina 1-7 (Ang 1-7).

Nossos resultados também sugerem interação do carvacrol com o SRA, ao demonstrar uma redução na expressão gênica do receptor para angiotensina II (AT1R) e uma normalização na expressão gênica do receptor para angiotensina 1-7 (MASR). Este achado pode ajudar a explicar a inibição da síntese de ECA I observada nos grupos tratados com 20mg/dia e 40mg/dia de carvacrol, assemelhando-se ao grupo normotenso e ao grupo tratado com 50mg/dia de losartana; assim como uma atenuação na síntese de Ang (1-7) no grupo Carv40mg, tornando-o semelhante ao grupo normotenso.

Em ratos SHR não tratados, nota-se uma expressão gênica de AT1R e MASR aumentada (Dias *et al.*, 2022; Varagic *et al.*, 2010). Nós entendemos que o aumento da expressão de MASR nesse modelo de hipertensão, pode ser considerado como um mecanismo compensatório, frente ao aumento de AT1R e ações hipertensivas atribuídas a angiotensina II, uma vez que à Ang (1-7) é conferida ações vasodilatadoras, capaz de reduzir a resistência vascular periférica e por consequência a pressão arterial.

Até o presente momento, nosso estudo é o primeiro a trazer evidências mais consistentes sobre a atuação do carvacrol sobre o SRA em ratos SHR. Contudo, outras pesquisas utilizando

compostos com propriedades químicas semelhantes às do carvacrol, já demonstram interações importantes sobre o SRA (Chen *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018). No estudo de Wang *et al.* (2018), observa-se que o uso de ácidos poricoicos, em células renais de humanos e camundongos, promoveu alterações significativas na modulação do SRA, reduzindo a atividade da ECA I e síntese de Ang II. Já a pesquisa conduzida por Chen *et al.* (2016), que através de análise quimiométrica baseada em cromatografia líquida com espectrometria de massa, observaram que a fração rica em polifenóis da *Biden Pisol*a, espécie vegetal da família Asteraceae, exibiu as maiores inibições duplas em relação às atividades da renina e da ECA I. Nesse mesmo estudo, os pesquisadores ainda identificaram outros cinco metabólitos com potencial de modular o SRA.

Destaca-se, nesta pesquisa, que os animais tratados com 20 mg/dia de carvacrol apresentaram equiparação com o grupo normotenso e o grupo tratado com losartana, da PAS, PAD e PAM a partir da segunda semana de tratamento, no entanto os animais tratados com 40 mg/dia de carvacrol só apresentaram normalização da PA a partir da terceira semana de tratamento, não sendo observado um efeito dose dependente, quando comparado as concentrações de 20 e 40 mg/dia de carvacrol. Resultados semelhantes foram discutidos nos estudos de Costa *et al.* (2021) e Dias *et al.* (2022), ao tratarem por quatro semanas animais SHR com 20mg/dia de carvacrol por via oral. Estes estudos demonstraram redução da PA já na primeira semana de tratamento, sendo equiparada ao grupo controle normotenso na quarta semana do tratamento. Para estes autores, o carvacrol foi capaz de bloquear os canais de cálcio voltagem dependente nos vasos sanguíneos, promovendo uma redução da reatividade vascular e do tônus vascular. Outros pesquisadores já haviam apresentado esse mecanismo de ação do carvacrol, contudo investigando sempre uma via intravenosa ou intraperitoneal em animais normotensos (Aydin *et al.*, 2007; Dantas *et al.*, 2015). O estudo conduzido por Barreto Da Silva *et al.* (2020), foi o primeiro a demonstrar em animais SHR, uma redução significativa da PA após duas semanas de tratamento com 50mg/dia de carvacrol por via oral, também uma redução do tônus vascular.

O tratamento com carvacrol proposto em nosso estudo (via gavagem) promoveu modulação no SRA, reduzindo a PA, sem interferir na evolução ponderal dos animais, mantendo estável o consumo de ração, com redução dos níveis de LDL-colesterol e aumento do HDL-colesterol. Paralelamente, houve uma redução da enzima AST. Em conjunto, estes dados indicam que o carvacrol não interfere na função hepática e pode contribuir como adjuvante terapêutico em dislipidemias. Aristatile *et al.* (2009), observaram uma reversão do quadro de hepatotoxicidade induzida por D-galactosamine em ratos após 21 dias de tratamento

com carvacrol, atribuindo ao carvacrol uma propriedade hepatoprotetora. Em relação a modulação lipídica, Abd El Aal *et al.* (2017), concluíram que o carvacrol potencializa o efeito da sinvastatina para a regulação desses parâmetros.

Nossos achados apontam para uma ação anti-hipertensiva, hepatoprotetora, com capacidade de redução do LDL-colesterol, associado a uma inibição da ECA I e regulação da Ang 1-7, este feito sendo corroborado com maior expressão gênica de receptores MAS em tecido cardíaco. Contudo, estes resultados sugerem que outras pesquisas devam avançar no sentido de elucidar o mecanismo de ação do carvacrol sobre a modulação do SRA; e no modelo de administração do carvacrol por via oral ainda é necessário quantificar a biodisponibilidade desse monoterpeneo no sangue.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitem sugerir que o carvacrol 20 mg/Kg e 40 mg/Kg, administrado por via oral, oferece efeito anti-hipertensivo, modulando o SRA, através da redução dos níveis séricos da ECA I, regularização dos níveis séricos de Ang 1-7, reduzindo a expressão gênica de receptores AT1, normalizando a expressão gênica dos receptores MAS em tecido cardíaco de ratos espontaneamente hipertensos, culminando em normalização da pressão arterial desses animais.

Paralelamente, o carvacrol não gerou prejuízo da função renal e hepáticas, observado pelos níveis séricos dos parâmetros bioquímicos dos animais.

Adicionalmente, o efeito anti-hipertensivo do carvacrol é acompanhado de um menor nível de LDL-colesterol e maior de HDL-colesterol, o que o torna vantajoso a muitos medicamentos já empregados em desordens cardiovasculares.

Dessa forma, os resultados contribuem para respaldar cientificamente o carvacrol como um composto bioativo no sistema cardiovascular, além de agregar no esclarecimento das vias mecanísticas desse monoterpeneo, reforçando seu efeito pleiotrópico sobre desordens cardiovasculares. Mais estudos estão sendo conduzidos, para corroborar com esses achados, tais como a quantificação sérica da angiotensina II sérica, eletrólitos e marcadores vasculares como angiopoietina I e II.

REFERÊNCIAS

- ABD EL AAL, H. A. *et al.* Combination of carvacrol with simvastatin improves the lipid-lowering efficacy and alleviates simvastatin side effects. *31*, n. 12, p. e21981, 2017.
- ACCORSI-MENDONÇA, D. *et al.* Controle neural da circulação e hipertensão arterial. **Revista Brasileira de Hipertensão**, 12, n. 4, p. 235-241, 2005.
- ADAPALA, R. K. *et al.* TRPV4 channels mediate cardiac fibroblast differentiation by integrating mechanical and soluble signals. **Journal of molecular and cellular cardiology**, 54, p. 45-52, 2013.
- ALLAWADHI, P. *et al.* Isoproterenol-induced cardiac ischemia and fibrosis: Plant-based approaches for intervention. **Phytotherapy Research**, 32, n. 10, p. 1908-1932, 2018.
- ALMANAITYTĖ, M.; JUREVIČIUS, J.; MAČIANSKIENĖ, R. Effect of carvacrol, TRP channels modulator, on cardiac electrical activity. **BioMed research international**, 2020, 2020.
- ARISTATILE, B. *et al.* Antihyperlipidemic effect of carvacrol on D-galactosamine induced hepatotoxic rats. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, 20, n. 1, p. 15-28, 2009.
- ARONSON, J. K.; FERNER, R. E. Drugs and the renin-angiotensin system in covid-19. British Medical Journal Publishing Group. 369 2020.
- ARUNASREE, K. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. **Phytomedicine**, 17, n. 8-9, p. 581-588, 2010.
- AYDIN, Y. *et al.* Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. **Planta medica**, 73, n. 13, p. 1365-1371, 2007.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BARANAUSKAITE, J. *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.
- BARRETO DA SILVA, L. *et al.* Antihypertensive effect of carvacrol is improved after incorporation in β -cyclodextrin as a drug delivery system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 47, n. 11, p. 1798-1807, 2020.
- BARROSO, W. K. S. *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial—2020. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, 116, p. 516-658, 2021.
- BELLÉS, M. *et al.* Sulfite-free lamb burger meat: Antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99, n. 1, p. 464-472, 2019.
- BRASIL. Diretrizes para o cuidado das pessoas com doenças crônicas nas redes de atenção à saúde e nas linhas de cuidado prioritárias. Ministério da Saúde Brasília 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. *Vigitel Brasil 2019: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019 (recurso eletrônico)/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. Ministério da Saúde Brasília 2020.*

CAN BASER, K. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. **Current pharmaceutical design**, 14, n. 29, p. 3106-3119, 2008.

CHEN, Y. *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**, 796, p. 90-100, 2017.

CHEN, Y. *et al.* Identification of active substances for dually modulating the renin–angiotensin system in *Bidens pilosa* by liquid chromatography–mass spectrometry–based chemometrics. 21, p. 201-211, 2016.

CHOBANIAN, A. V. *et al.* Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. **Hypertension**, 42, n. 6, p. 1206-1252, 2003.

COGOLLUDO, A.; PÉREZ-VIZCAÍNO, F.; TAMARGO, J. New insights in the pharmacological therapy of arterial hypertension. **Current opinion in nephrology and hypertension**, 14, n. 5, p. 423-427, 2005.

COLLETT, J. A. *et al.* Renal angiotensin II type 1 receptor expression and associated hypertension in rats with minimal SHR nuclear genome. **Physiological reports**, 1, n. 5, 2013.

CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; FIORINO, P. Sistema nervoso simpático e hipertensão arterial sistêmica- aspectos clínicos. **Rev. bras. hipertens**, p. 251-255, 2005.

COSTA, H. A. *et al.* Effect of treatment with carvacrol and aerobic training on cardiovascular function in spontaneously hypertensive rats. **Experimental Physiology**, 2021.

DA SILVA, A. H. *et al.* Dieta Hiperlipídica e Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS): revisão sistemática sobre os fatores de risco. **Revista Científica UNIFAGOC-Saúde**, 5, n. 2, p. 17-29, 2021.

DAMPNEY, R. *et al.* Central mechanisms underlying short-and long-term regulation of the cardiovascular system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 29, n. 4, p. 261-268, 2002.

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

DE MELLO, W. C. Local renin angiotensin aldosterone systems and cardiovascular diseases. **Medical Clinics**, 101, n. 1, p. 117-127, 2017.

DE OLIVEIRA CARNIATTO, C. H. *et al.* MORFOLOGIA E EVOLUÇÃO DO CORAÇÃO NOS VERTEBRADOS: UMA REVISÃO. **Arquivos do MUDI**, 23, n. 3, p. 290-303, 2019.

DIAS, C. J. *et al.* Carvacrol reduces blood pressure, arterial responsiveness and increases expression of MAS receptors in spontaneously hypertensive rats. 917, p. 174717, 2022.

- DOCHERTY, J. R. Subtypes of functional α 1-adrenoceptor. **Cellular and molecular life sciences**, 67, n. 3, p. 405-417, 2010.
- EARLEY, S.; GONZALES, A. L.; GARCIA, Z. I. J. M. P. A dietary agonist of transient receptor potential cation channel V3 elicits endothelium-dependent vasodilation. 77, n. 4, p. 612-620, 2010.
- EDGLEY, A. J.; KETT, M. M.; ANDERSON, W. P. Evidence for renal vascular remodeling in angiotensin II-induced hypertension. **Journal of hypertension**, 21, n. 7, p. 1401-1406, 2003.
- FARIA-COSTA, G.; LEITE-MOREIRA, A.; HENRIQUES-COELHO, T. Efeitos cardiovasculares do receptor tipo 2 da angiotensina. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, 33, n. 7-8, p. 439-449, 2014.
- FAZAN JR, R.; SILVA, V. D.; SALGADO, H. C. J. R. B. H. Modelos de hipertensão arterial. 8, n. 1, p. 19-29, 2001.
- FAZAN, V. P. *et al.* Ratos espontaneamente hipertensos e neuropatias periféricas. **Medicina (Ribeirão Preto)**, 39, n. 1, p. 39-50, 2006.
- FEKETA, V. V.; MARRELLI, S. P. Systemic administration of the TRPV3 ion channel agonist carvacrol induces hypothermia in conscious rodents. **PLoS one**, 10, n. 11, p. e0141994, 2015.
- FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, 39, n. 2, p. 120-130, 2017.
- FONTES, M. A. P. *et al.* Denervação simpática renal para hipertensão resistente: situação depois de mais de uma década. **Brazilian Journal of Nephrology**, 42, p. 67-76, 2020.
- FORRESTER, S. J. *et al.* Angiotensin II signal transduction: an update on mechanisms of physiology and pathophysiology. **Physiological reviews**, 98, n. 3, p. 1627-1738, 2018.
- GIESTAS, A.; PALMA, I.; RAMOS, M. Sistema renina-angiotensina-Aldosterona e sua modulação farmacológica. **Acta Médica Portuguesa**, n. 23 (4), p. 677-688, 2010.
- GONELIMALI, F. D. *et al.* Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. **Frontiers in microbiology**, 9, p. 1639, 2018.
- GOUVEIA, L.; KETTELHUT, I.; FOSS, M. C. Abnormalities of glucose metabolism in spontaneously hypertensive rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 33, p. 1357-1362, 2000.
- GUANG, C. *et al.* Three key proteases—angiotensin-I-converting enzyme (ACE), ACE2 and renin—within and beyond the renin-angiotensin system. **Archives of cardiovascular diseases**, 105, n. 6-7, p. 373-385, 2012.
- GURNEY, A. M. Mechanisms of drug-induced vasodilation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 46, n. 4, p. 242-251, 1994.
- HALL, J. E.; GUYTON, A. C. Tratado de fisiología médica. 2011.
- IRIGOYEN, M. C. *et al.* Sistema nervoso simpático e hipertensão arterial: reflexos cardiocirculatórios. **Rev. bras. hipertens**, p. 229-233, 2005.

JAMHIRI, M. *et al.* Carvacrol Ameliorates Pathological Cardiac Hypertrophy in Both In-vivo and In-vitro Models. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR**, 18, n. 3, p. 1380, 2019.

KASHIHARA, K. Roles of arterial baroreceptor reflex during bezold-jarisch reflex. **Current Cardiology Reviews**, 5, n. 4, p. 263-267, 2009.

KEIDAR, S.; KAPLAN, M.; GAMLIEL-LAZAROVICH, A. ACE2 of the heart: from angiotensin I to angiotensin (1–7). **Cardiovascular research**, 73, n. 3, p. 463-469, 2007.

KRIEGER, E. M. *et al.* Hipertensão arterial: bases fisiopatológicas e prática clínica. 2013.

KUBA, K.; IMAI, Y.; PENNINGER, J. M. Multiple functions of angiotensin-converting enzyme 2 and its relevance in cardiovascular diseases. **Circulation Journal**, 77, n. 2, p. 301-308, 2013.

KURTZ, A. Renin release: sites, mechanisms, and control. **Annual review of physiology**, 73, p. 377-399, 2011.

LAVOIE, J. L.; SIGMUND, C. D. Minireview: overview of the renin-angiotensin system—an endocrine and paracrine system. **Endocrinology**, 144, n. 6, p. 2179-2183, 2003.

LEE, K. P. *et al.* Carvacrol inhibits atherosclerotic neointima formation by downregulating reactive oxygen species production in vascular smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, 240, n. 2, p. 367-373, 2015.

LIU, Q. *et al.* Antibacterial and antifungal activities of spices. **Int J Mol Sci**, 18, n. 6, p. 1283, 2017.

LIU, S. *et al.* Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. **Poultry science**, 98, n. 5, p. 2026-2033, 2019.

LLANA-RUIZ-CABELLO, M. *et al.* Evaluation of the mutagenicity and genotoxic potential of carvacrol and thymol using the Ames Salmonella test and alkaline, Endo III-and FPG-modified comet assays with the human cell line Caco-2. **Food and chemical toxicology**, 72, p. 122-128, 2014.

MALACHIAS, M. V. B. *et al.* 7TH BRAZILIAN GUIDELINE OF ARTERIAL HYPERTENSION. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, 2016.

MALTA, D. C. *et al.* Prevalência da hipertensão arterial segundo diferentes critérios diagnósticos, Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 21, p. e180021, 2018.

MARÍN, J. *et al.* Mechanisms involved in the cellular calcium homeostasis in vascular smooth muscle: calcium pumps. **Life sciences**, 64, n. 5, p. 279-303, 1998.

MARTELLIA, A. Sistema renina angiotensina aldosterona e homeostase cardiovascular. **Journal of Health Sciences**, 12, n. 4, 2010.

MATLUOBI, D. *et al.* Carvacrol promotes angiogenic paracrine potential and endothelial differentiation of human mesenchymal stem cells at low concentrations. **Microvascular Research**, 115, p. 20-27, 2018.

MEIRA, E. *et al.* O uso de fitoterápicos na redução e no tratamento de hipertensão arterial sistêmica. **ID on line. Revista de psicologia**, 11, n. 37, p. 27-36, 2017.

MELO, F. H. C. *et al.* Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. **Fundamental & clinical pharmacology**, 24, n. 4, p. 437-443, 2010.

MILLER, A. J.; ARNOLD, A. C. The renin–angiotensin system in cardiovascular autonomic control: recent developments and clinical implications. **Clinical Autonomic Research**, 29, n. 2, p. 231-243, 2019.

MILLS, K. T. *et al.* Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. **Circulation**, 134, n. 6, p. 441-450, 2016.

MORI, J. *et al.* Angiotensin 1–7 ameliorates diabetic cardiomyopathy and diastolic dysfunction in db/db mice by reducing lipotoxicity and inflammation. **Circulation: Heart Failure**, 7, n. 2, p. 327-339, 2014.

MURATA, T. *et al.* Decreased endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) activity resulting from abnormal interaction between eNOS and its regulatory proteins in hypoxia-induced pulmonary hypertension. **Journal of Biological Chemistry**, 277, n. 46, p. 44085-44092, 2002.

NAVAR, L. G. Physiology: hemodynamics, endothelial function, renin–angiotensin–aldosterone system, sympathetic nervous system. **Journal of the American Society of Hypertension: JASH**, 8, n. 7, p. 519, 2014.

NICARETTA, M. G. *et al.* Doença cardiovascular e doença periodontal: Uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, 5, n. 4, p. 2556-2567, 2023.

OKAMOTO, K. *et al.* Further observations of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese circulation journal**, 30, n. 6, p. 703-716, 1966.

OPARIL, S. *et al.* Renata Cífková⁶, Anna F. Dominiczak⁷, Guido Grassi⁸, 9, Jens Jordan¹⁰, Neil R. Poulter¹¹, Anthony Rodgers¹² and Paul K. Whelton¹³ Abstract | Systemic arterial hypertension is the most important modifiable risk factor for all-cause morbidity and mortality worldwide and is associated with an increased risk of cardiovascular disease. 2018.

OUDIT, G. Y. *et al.* The role of ACE2 in cardiovascular physiology. **Trends in cardiovascular medicine**, 13, n. 3, p. 93-101, 2003.

PATEL, S. N. *et al.* Angiotensin II type 2 receptor and receptor mas are colocalized and functionally interdependent in obese Zucker rat kidney. **Hypertension**, 70, n. 4, p. 831-838, 2017.

PATEL, V. B. *et al.* Cardioprotective effects mediated by angiotensin II type 1 receptor blockade and enhancing angiotensin 1-7 in experimental heart failure in angiotensin-converting enzyme 2–null mice. **Hypertension**, 59, n. 6, p. 1195-1203, 2012.

PEIXOTO-NEVES, D. *et al.* Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental & clinical pharmacology**, 24, n. 3, p. 341-350, 2010.

PENTEADO, F. R.; GOMES, N. M. Atividade física e síndrome metabólica: um estudo de revisão. **Rev Digital. Buenos Aires**, 13, n. 125, p. 1, 2008.

PÉREZ-VIZCAÍNO, F. *et al.* 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**, 123, n. 5, p. 847-854, 1998.

PRAVENEK, M. *et al.* Genetic analysis of "metabolic syndrome" in the spontaneously hypertensive rat. **Physiological research**, 53, p. S15-22, 2004.

PUJIASTUTI, D. Y. *et al.* Marine organisms as potential sources of bioactive peptides that inhibit the activity of angiotensin I-converting enzyme: a review. **Molecules**, 24, n. 14, p. 2541, 2019.

RAJPUT, J. D. *et al.* Perspectives on medicinal properties of natural phenolic monoterpenoids and their hybrids. **Molecular diversity**, 22, n. 1, p. 225-245, 2018.

REN, C.-Z. *et al.* Exercise training improves the altered renin-angiotensin system in the rostral ventrolateral medulla of hypertensive rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016, 2016.

SÁ, J. C. F. D. *et al.* Variabilidade da frequência cardíaca como método de avaliação do sistema nervoso autônomo na síndrome dos ovários policísticos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, 35, p. 421-426, 2013.

SAMAHA, A. A. *et al.* Antihypertensive indigenous lebanese plants: ethnopharmacology and a clinical trial. **Biomolecules**, 9, n. 7, p. 292, 2019.

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

SANTOS, Z. M. D. S. A. Hipertensão arterial—um problema de saúde pública. **Revista Brasileira em Promoção da saúde**, 24, n. 4, p. 285-286, 2011.

SHABIR, H. *et al.* Modulation of Pb (II) caused aortal constriction by eugenol and carvacrol. **Biological trace element research**, 161, n. 1, p. 116-122, 2014.

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

SIMONYTE, S. *et al.* Renin-angiotensin system gene polymorphisms and high blood pressure in Lithuanian children and adolescents. **BMC Medical Genetics**, 18, n. 1, p. 1-9, 2017.

SUNTRES, Z. E.; COCCIMIGLIO, J.; ALIPOUR, M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. **Critical reviews in food science and nutrition**, 55, n. 3, p. 304-318, 2015.

TALLANT, E. A.; FERRARIO, C. M.; GALLAGHER, P. E. Cardioprotective role for angiotensin-(1-7) and angiotensin converting enzyme 2 in the heart. 2006.

THOMAS, C. J. *et al.* ANP enhances bradycardic reflexes in normotensive but not spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, 29, n. 5, p. 1126-1132, 1997.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. D. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto-Enfermagem**, 15, p. 115-121, 2006.

TÓTH, A. D. *et al.* Novel mechanisms of G-protein-coupled receptors functions: AT1 angiotensin receptor acts as a signaling hub and focal point of receptor cross-talk. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, 32, n. 2, p. 69-82, 2018.

TOUYZ, R. M.; MONTEZANO, A. C. Angiotensin-(1-7) and vascular function: the clinical context. *Am Heart Assoc.* 71: 68-69 p. 2018.

VARAGIC, J. *et al.* Decreased cardiac Ang-(1-7) is associated with salt-induced cardiac remodeling and dysfunction. 4, n. 1, p. 17-25, 2010.

VARAGIC, J. *et al.* ACE2: angiotensin II/angiotensin-(1-7) balance in cardiac and renal injury. **Current hypertension reports**, 16, n. 3, p. 1-9, 2014.

VARAGIC, J. *et al.* New angiotensins. **Journal of molecular medicine**, 86, n. 6, p. 663-671, 2008.

WANG, J. *et al.* The ACE2-Ang (1-7)-Mas receptor axis attenuates cardiac remodeling and fibrosis in post-myocardial infarction. **Molecular medicine reports**, 16, n. 2, p. 1973-1981, 2017.

WANG, M. *et al.* Novel inhibitors of the cellular renin-angiotensin system components, poricoic acids, target Smad3 phosphorylation and Wnt/ β -catenin pathway against renal fibrosis. 175, n. 13, p. 2689-2708, 2018.

WHO. **Hypertension** 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>. Acesso em: 16/12/2023.

WILLIAMS, B. *et al.* 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, n. 33, p. 3021-3104, 2018.

YAMORI, Y. Development of the spontaneously hypertensive rat (SHR) and of various spontaneous rat models, and their implications. **Handbook of hypertension**, 4, p. 224-239, 1984.

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**, p. b12-00948, 2013.

ZAGO, A. S.; ZANESCO, A. Nitric oxide, cardiovascular disease and physical exercise. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, 87, p. e264-e270, 2006.

ZANESCO, A.; ANTUNES, E. Células endoteliais. **Células. Barueri: Manole**, p. 184-191, 2005.

ZATZ, R.; SEGURO, A. C.; MALNIC, G. Bases fisiológicas da nefrologia. *In: Bases fisiológicas da nefrologia*, 2011. p. 408-408.

ZHU, Q. *et al.* Silencing of Hypoxia-Inducible Factor-1 α Gene Attenuated Angiotensin II-Induced Renal Injury in Sprague-Dawley Rats. **Hypertension**, 58, n. 4, p. 657-664, 2011.

ZICHA, J.; KUNES, J. Ontogenetic aspects of hypertension development: analysis in the rat. **Physiological reviews**, 79, n. 4, p. 1227-1282, 1999.

APÊNDICES

APÊNDICE A - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DE ARTIGO

REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR
NÚCLEO DO CONHECIMENTO
ISSN: 2448-0959

O artigo científico intitulado: "VASCULAR AND CARDIOPROTECTIVE MECHANISMS OF CARVACROL: A MECHANISTIC APPROACH.", da autora Vicenilma de Andrade Martins, foi submetido à Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento e passará pelo processo de avaliação.

São Paulo, 21 de Julho de 2023.

Atenciosamente;

Evelyn Carlyne M. - Assistente Administrativo / Brasil
Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento
www.nucleodoconhecimento.com.br

(011) 3136-0919 - São Paulo: 9h-18h, de segunda a sexta contato@nucleodoconhecimento.com.br
Av Eng. Luis Carlos Berrini, 1140 - 7º Andar – Brooklin – São Paulo - SP – CEP 04571-000

APÊNDICE B – SOLICITAÇÃO DE PEDIDO DE DEPÓSITO DE PATENTE14/09/2022 870220083901
14:17

29409161954921364

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2022 018386 4

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CPF/CNPJ:** 06279103000119**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa**Endereço:** Cidade Universitária Dom Delgado, Av. dos Portugueses, 1966, Vila Bacanga.**Cidade:** São Luis**Estado:** MA**CEP:** 65080-805**País:** Brasil**Telefone:** (98) 32728710**Fax:****Email:** ageufma.cprp@ufma.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 14/09/2022 às 14:17, Petição 870220083901

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): GAIOLA DE MONITORAMENTO METABÓLICO PARA ROEDORES

Resumo: A gaiola para roedor é para uso metabólico sendo para roedores de pequeno porte, que possibilita a aquisição de amostras biológicas, permitindo o monitoramento metabólico acurado a partir da separação de ração, água, fezes e urina, fabricado a partir de material metálico, liga metálica, contra dados oxidativos, ser duradouro e portátil. Ser constituído de estrutura de soldagem ou fixação ou colagem. O bem-estar animal é garantido, pois este tem visibilidade total do ambiente e dimensão suficiente para permitir seu deslocamento no interior, facilitando a adaptação do animal e otimização dos resultados durante as experimentações. A presente invenção está inserida no campo biotecnológico, da indústria farmacêutica e médica veterinária.

Figura a publicar: 04

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3**Nome:** RACHEL MELO RIBEIRO**CPF:** 91647657334**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Professor do ensino superior**Endereço:** AV. NEIVA MOREIRA 300, PARK DAS ARVORES, FIGUEIRA 406**Cidade:** SÃO LUÍS**Estado:** MA**CEP:** 65071-383**País:** BRASIL**Telefone:** (98) 996 091695**Fax:****Email:** rachelmeloribeiro@gmail.com**Inventor 2 de 3****Nome:** VICENILMA DE ANDRADE MARTINS**CPF:** 00993340385**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins**Endereço:** Rua Vinte e Cinco de Maio, No 86, Vila Embratel**Cidade:** SÃO LUÍS**Estado:** MA**CEP:** 65081-295**País:** BRASIL**Telefone:** (98) 992 04246**Fax:****Email:** vicenilma@hotmail.com**Inventor 3 de 3**

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 14/09/2022 às 14:17, Petição 870220083901

APÊNDICE C – PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE

ARTIGO ORIGINAL: Carvacrol reduces blood pressure, arterial responsiveness and increases expression of MAS receptors in spontaneously hypertensive rats

REVISTA: European Journal of Pharmacology

QUALIS CAPES: A3

FATOR DE IMPACTO: 5.195

STATUS: Publicado

European Journal of Pharmacology 917 (2022) 174717



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejphar



Carvacrol reduces blood pressure, arterial responsiveness and increases expression of MAS receptors in spontaneously hypertensive rats

Carlos José Dias^{a,b,i}, Herikson Araújo Costa^h, Carlos Alberto Alves Dias-Filho^{a,b},
Andressa Coelho Ferreira^{b,d}, Bruno Rodrigues^e, Maria Claudia Irigoyen^g,
Antônio Carlos Romão Borges^{a,f}, Vicenilma de Andadre Martins^a, Flávia Castello Branco Vidal^d,
Rachel Melo Ribeiro^f, Natalino Salgado Filho^h, Cristiano T. Mostarda^{a,b,c,d,*}

^a Northeast Biotechnology Network Postgraduate Program (Renorbio), Federal University of Maranhão, St. Luís /Maranhão, Brazil

^b Cardiovascular Adaptations to Exercise Laboratory (LACORE), Federal University of Maranhão, St. Luís /Maranhão, Brazil

^c Postgraduate Program in Physical Education, Federal University of Maranhão, St. Luís /Maranhão, Brazil

^d Graduate Program in Adult Health, Federal University of Maranhão, St. Luís /Maranhão, Brazil

^e Physical Education College, State University of Campinas, Campinas/St Paul, Brazil

^f Department of Physiological Sciences, Federal University of Maranhão, St. Luís /Maranhão, Brazil

^g Department of Cardiopneumology, Faculty of Medicine of USP, InCor Experimental Hypertension Laboratory, St Paul/St Paul, Brazil

^h Health Sciences Graduate Program, Federal University of Maranhão, St. Luís /Maranhão, Brazil

ⁱ Cardioresnal Adaptations to Exercise Laboratory (LACE), Federal University of Maranhão, Pinheiro /Maranhão, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Carvacrol
Cardiovascular
Hypertension

ABSTRACT

Aim: To analyze the effect of the use of carvacrol in the cardiovascular system of spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods:** Methods: Twenty animals were allocated in four groups, one group control Wistar receiving only sorbitol, used as vehicle of administration of the carvacrol (Wistar-Vehicle), one control group SHR, also receive only sorbitol (SHR-Vehicle), a third, treated with losartan (SHR-Losartan/50 mg/kg), and the fourth, treated with carvacrol (SHR - Carvacrol/20 mg/kg). Sorbitol, losartan and carvacrol were administered by oral gavage daily for 30-day. Hemodynamic variables, vascular reactivity, biochemical parameters, and expression of Mas and AT1 receptors in kidney tissues were analyzed.

Results: SHR- Carvacrol group showed a maximal effect of inhibition of 56% in the curve of norepinephrine. The E_{max} of the curves with Ca^{2+} were smaller in the groups SHR-losartan (40.17%) and SHR-carvacrol (35.71%) when compared to the SHR-Vehicle. The carvacrol increased the expression of the MAS receptors in kidney tissue.

Conclusion: Thirty days of treatment with carvacrol showed an antihypertensive effect associated with less peripheral vascular resistance. Also, treatment with carvacrol increased the expression of MAS receptors in kidney tissue.

1. Introduction

According to the World Health Organization, cardiovascular diseases (CVD) are the main causes of death in the world (Kjeldsen, 2018). This is related to several risk factors, such as atherosclerosis, hyperlipidemia, and systemic arterial hypertension (SAH). In this sense, SAH stands out as a disease of multi-causal and multifactorial origins, being considered one of the main public health problems in the world and one of the main causes of hospitalization due to cardiovascular and metabolic

abnormalities related to the disease (Kjeldsen, 2018).

Furthermore, SAH is associated with increased expression of AT1 receptors, as well as increased peripheral vascular resistance, endothelial dysfunction, vascular remodeling, and damage to organs such as the kidney and heart (Kawai et al., 2017).

The angiotensin-converting enzyme (ACE) 2/angiotensin-(1-7) (Ang-(1-7))/Mas pathway exerts an antagonistic action in many physiological and pathophysiological processes in several systems and organs, including cardiovascular remodeling, opposing the classical ACE/Ang

* Corresponding author. Av. dos Portugueses, 1966, Cidade Universitária Dom Delgado, São Luís, MA, 65085-580, Brazil.
E-mail address: cristiano.mostarda@ufma.br (C.T. Mostarda).

<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174717>

Received 14 July 2021; Received in revised form 9 December 2021; Accepted 20 December 2021

Available online 23 December 2021

0014-2999/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

APÊNDICE D - PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE

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

REVISTA: Experimental Physiology

QUALIS CAPES: A3

FATOR DE IMPACTO: 2.858

STATUS: Publicado

Received: 3 November 2020 | Accepted: 15 February 2021

DOI: 10.1113/EP089235



RESEARCH PAPER

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

Herikson Araujo Costa^{1,5} | Carlos José Moraes Dias^{2,3,5} |
 Vicenilma de Andrade Martins³ | Sandra Alves de Araujo³ | Daiane Pereira da Silva² |
 Vinícius S. Mendes⁴ | Mário Norberto Sevilio de Oliveira Jr² |
 Cristiano Teixeira Mostarda^{2,3} | Antônio Carlos Romão Borges^{3,4} |
 Rachel Melo Ribeiro^{2,4} | Natalino Salgado Filho¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

² Programa de Pós-graduação em Educação Física, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

³ Programa de Pós-graduação de Rede Nordeste de Biotecnologia (Renorbio), Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

⁴ Pharmacology Laboratory, Department of Physiological Science, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil

⁵ Núcleo de Atividade Física e Saúde (NAFS) and Laboratório de Adaptações Cardiorrenais ao Exercício Físico (LACE), Federal University of Maranhão, Pinheiro, Maranhão, Brazil

Correspondence

Herikson Araujo Costa, Rua 1° de maio, n° 17°, Vila Embratel, São Luís, MA 65081 - 258, Brazil
 Email: herikson.costa@ufma.br

Funding information

Fundação de Amparo a Pesquisa do Maranhão, Grant/Award Numbers: 00778/19, 01352/18

Edited by: Gail Thomas

Abstract

Systemic arterial hypertension is considered the foremost cardiovascular risk factor, and it is important 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 carvedilol and aerobic physical training benefit the cardiovascular system. This study investigated the effects of treatment with carvedilol combined with aerobic exercise on hypertensive rats with cardiovascular risk parameters. We used an experimental design with six groups: normotensive control (Wistar rats); hypertensive control (spontaneously hypertensive rats, SHR); positive control rats treated with amlodipine (Aml-20 mg); rats treated with carvedilol (Carv-20 mg); rats trained with exercise (Exer); and rats treated with carvedilol and exercise (ExerCarv). The treatment lasted for 4 weeks, monitoring heart rate and systolic blood pressure (SBP). At the end of the treatment, vascular reactivity tests were performed in addition to biochemical measurements of urea, creatinine, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, triglycerides, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, very low density lipoprotein cholesterol, atherogenic indexes, relative heart weight and histopathological analysis of cardiac perivascular tissue. Significant reductions in SBP were observed after the training period, with the ExerCarv group 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. The findings indicated that the interaction between aerobic exercise and carvedilol offers a greater BP reduction. Exercise is particularly effective for controlling biochemical parameters of cardiovascular risk, regardless of carvedilol use.

KEYWORDS

aerobic exercise, carvedilol, hypertension and cardiovascular risk

APÊNDICE E - PARTICIPAÇÃO EM ARTIGOS CORRELATOS A TESE

ARTIGO ORIGINAL: Efeito anti-hipertensivo do carvedilol envolve redução dos níveis séricos da enzima conversora de angiotensina em ratos submetidos ao treinamento físico aeróbio.

REVISTA: Revista Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento

QUALIS CAPES: B1

STATUS: Aguardando publicação



**REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR
NÚCLEO DO CONHECIMENTO**

ISSN: 2448-0959

O artigo científico intitulado: “Efeito anti-hipertensivo do carvedilol envolve redução dos níveis séricos da enzima conversora de angiotensina em ratos submetidos ao treinamento físico aeróbio”, dos autores Daiane Pereira da Silva; Jhônata Costa Moura; Vicenilma de Andrade Martins Costa; Rafael Cardoso Carvalho; Thiago Teixeira Mendes; Carlos José Moraes Dias; Lucas Martins França; Antonio Marcus de Andrade Paes; Marilene Oliveira da Rocha Borges; Antonio Carlos Romão Borges; Cristiano Teixeira Mostarda; Herikson Araujo Costa e Rachel Melo Ribeiro, foi submetido à Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento e está em processo de correção e avaliação.

São Paulo, 25 de Julho de 2023.

Atenciosamente;

Evelyn Carlyne M. - Assistente Administrativo / Brasil

Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento
www.nucleodoconhecimento.com.br

(011) 3136-0919 - São Paulo: 9h-18h, de segunda a sexta contato@nucleodoconhecimento.com.br
Av Eng. Luis Carlos Berrini, 1140 - 7º Andar – Brooklin – São Paulo - SP – CEP 04571-000

APÊNDICE F - PARTICIPAÇÃO EM CAPÍTULO DE LIVRO CORRELATO A TESE

DISCUSSÕES INTERDISCIPLINARES

1

debates e discussões entre **ciências exatas e naturais**

ORGANIZADOR

Adailton Azevêdo Araújo Filho



AUTORES

Alan Cardoso Pedreira | Andressa Coelho Ferreira
 Cláudio José da Silva de Sousa | Daiane Pereira da Silva
 Dalvolinda Constantino da Silva | Ellen Caroline da Silva Penha
 Emanuel Ribeiro de Brito Junior | Gildean Pereira Costa
 Icaro Rodrigo Dutra Cunha | Isabela Carolyne de Melo Costa
 Jhônata Costa Moura | João Pedro Lima dos Santos
 João Pedro Silva Majewski | José Valdeni de Lima
 Karina Suzana Feitosa Pinheiro | Manuel Joaquim Silva de Oliveira
 Marina Gomes Cantanhede | Rachel Melo Ribeiro
 Raphael Furtado Marques | Vicenilma de Andrade Martins Costa
 Vítor Alves Del Duca | Wesley do Nascimento Silva



DIALÉTICA
EDITORA



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D611i Discussões interdisciplinares : debates e discussões entre ciências exatas e naturais - Volume 1 / organização Adailton Azevêdo Araújo Filho. – São Paulo : Editora Dialética, 2023.
128 p. = (v. I)

Inclui bibliografia.
ISBN 978-65-252-8145-2

1. Ciências Exatas. 2. Ciências Naturais. 3. Física. I. Araújo Filho, Adailton Azevêdo (org.). II. Título.

CDD-600

Ficha catalográfica elaborada por Mariana Brandão Silva CRB -1/3150

SUMÁRIO

ATUAÇÃO DO MÉDICO VETERINÁRIO NO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO

Alan Cardoso Pedreira

DOI 10.48021/978-65-252-8145-2-C1

09

AVANÇOS TERAPÊUTICOS NO TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DAS DISLIPIDEMIAS: UMA REVISÃO

**Rachel Melo Ribeiro, Wesley do Nascimento Silva, Gildean Pereira
Costa, Marina Gomes Cantanhede, Isabela Carlyne de Melo Costa,
João Pedro Silva Majewski, Emanuel Ribeiro de Brito Junior, João Pedro
Lima dos Santos, Ellen Caroline da Silva Penha, Jhônata Costa Moura,
Andressa Coelho Ferreira, Raphael Furtado Marques, Daiane Pereira da
Silva, Icaro Rodrigo Dutra Cunha, Vicenilma de Andrade Martins Costa**

DOI 10.48021/978-65-252-8145-2-C2

25

ANEXOS

ANEXO 1- APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



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.

Comissão de Ética no Uso de Animais

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 2– ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR NÚCLEO DO CONHECIMENTO

1

CARDIOPROTECTIVE AND VASOREAXANT EFFECTS OF CARVACROL: A MECHANISTIC APPROACH

Vicenilma de Andrade Martins¹, Daiane Pereira da Silva², Jhônata Costa Moura¹, Carlos José Moraes Dias², Herikson Araujo Costa², Rachel Melo Ribeiro^{1,2,3}, Antonio Carlos Romão Borges¹

¹ *Programa de Pós-graduação de Rede Nordeste de Biotecnologia (Renorbio), Universidade Federal do Maranhão, São Luís- MA, Brasil.*

² *Programa de Pós-graduação em Educação Física, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.*

³ *Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil.*

Abstract

Cardiovascular disorders are the leading 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 emerges as a phytochemical with important therapeutic potential. Therefore, this article aims to discuss and describe the pharmacokinetic properties and main mechanisms that explain the effects of carvacrol on cardiovascular disorders. ADMET studies revealed that carvacrol has promising pharmacodynamic characteristics for cardiovascular treatments. Some studies showed that animals treated with carvacrol had a decrease in the infarct area, less collagen deposition, lower serum concentrations of cardiac injury markers, as well as a decrease in the expression of proteins involved in cellular apoptosis pathways, evidencing its cardioprotective role. However, most of the effects described are related to intraperitoneal and intravenous treatment in normotensive animals, being limited studies that investigated the effects of carvacrol by the oral route and demonstrating the need to continuation of the works with models of spontaneous hypertension, which would better mimic the systemic arterial hypertension observed in humans.

Keywords carvacrol; hypotension; vessel relaxation; cardioprotective; pharmacokinetics.

1. INTRODUCTION

Cardiovascular disorders (CDVs) are the main causes of morbidity and mortality in the world, reaching mainly developing countries (NASCIMENTO *et al.*, 2018), providing too much cost to society with drug treatment, clinical hospitalizations and surgical procedures (SIQUEIRA *et al.*, 2017). Therefore, the discovery of new interventions, especially those of a non-drug nature, that can help in the treatment and prevention of these disorders is salutary.

Epidemiological and experimental studies have suggested the health benefits of medicinal herbs as well as their constituents against various diseases (SOFOWORA *et al.*, 2013, RAJPUT *et al.*, 2018). The therapeutic importance of plants has been cited in the ancient cultures and traditions of many countries and societies, and they are believed to be cost-effective and safe. Since ancient times, plants and their products have been used as a culinary preparation or as a remedy in different traditional medicines for many diseases (RAHMANI *et al.*, 2014). Turmeric, oregano, thyme, olives and dates, to name a few, have been widely used for culinary purposes in diets and are also believed to have beneficial effects against numerous ailments (RAHMANI *et al.*, 2014).

In this context, carvacrol a monoterpene (C₁₀H₁₄O) phenolic, is from thyme, oregano and marjoram, and belongs to a class of phenols that have a ten carbon unit and which are present in the essential oils of many plants (*Origanum vulgare*, *Pepperwort*, *Bergamota selvagem*, *Satureja*, *Origanum marjorana*, *Nigella sativa* and *Tequila*) (THOMPSON *et al.*, 2003; VERA; CHANE-MING, 1999), emerges as an alternative for studies, since some properties and mechanisms of action have already been described in the literature, namely: anti-inflammatory (LIU *et al.*, 2018), antimicrobial (REIS *et al.*, 2018), analgesic (WANG *et al.*, 2019), anticancer (ARUNASREE, 2010; BARANAUSKAITE *et al.*, 2017), antioxidant (BELLÉS *et al.*, 2019), vasorelaxant, hypotensive, antihypertensive and cardioprotective (CHEN *et al.*, 2017; EARLEY *et al.*, 2010) actions.

Regarding the properties of carvacrol on the cardiovascular system, it can be observed that the main mechanism of action is the blockade of the calcium channels, resulting in a relaxation of the vessel and reducing blood pressure (BP) (AYDIN *et al.*, 2007; DANTAS *et al.*, 2015). This mechanism may confer cardioprotection, since the control of hypertension may decrease the chances of cardiac remodeling (CHEN *et al.*, 2017). However, there are few original studies that have proposed to investigate the effect of carvacrol, as an isolated

compound, on these variables, as well as it is scarce in the literature review articles describing the mechanisms behind the effects of this compound on cardiovascular responses. Therefore, the main objective of this review is to discuss and describe the pharmacokinetic properties and the main mechanisms that explain the effects of carvacrol on CDVs.

2. DATA EXTRACTION AND METHODOLOGY

Scientific search engines such as PubMed, Google Scholar, Scielo, and Bireme were used to find and collect literature. For the search of the articles analyzed, the word carvacrol was used along with the following descriptors: blood pressure, hypertension, hypotension, relaxation vessel, vascular, cardioprotection, heart attack, myocardial infarction, and ischemic injury, including all original articles, In Vivo and In Vitro published until December 2022, while review articles, articles that did not address in the abstract the effect of carvacrol on the variables represented by the other descriptors and articles that used plant extract instead of the isolated compound, carvacrol, were excluded.

3. RESULTS

3.1. Carvacrol cardiovascular properties

3.1.1. Hemodynamic effects

There are still few works that investigate the hemodynamic effects of carvacrol (Table 1), some studies show both antihypertensive and hypotensive effects (AYDIN *et al.*, 2007; DANTAS *et al.*, 2015; FEKETA; MARRELLI, 2015). Therefore, with the exception of surveys carried out by BARRETO DA SILVA *et al.* (2020), COSTA *et al.* (2021) and DIAS *et al.* (2022), the other studies were conducted using normotensive animals, however, the absence of a systemic arterial hypertension model limits investigations on antihypertensive effects.

The first study to demonstrate an effect of carvacrol on BP pressure was a study conducted by AYDIN *et al.* (2007). Were administered several doses of carvacrol (1, 10, 20 50, 100 and 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$) intraperitoneal route, observing hypotensive and antihypertensive effect only at the dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$; the dosage of 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ has been described as toxic to animals. In this experiment, an immediate reduction of mean arterial pressure (MAP) and systolic blood pressure (SBP) was demonstrated both in the control group (reduction below normal values) and in the group that had hypertension induced by L-NAME (return to baseline SBP after five

minutes of carvedilol administration), thus characterizing the hypotensive and antihypertensive effects of carvedilol.

In the research conducted by DANTAS *et al.* (2015), bradycardia and dose-dependent reduction of BP, after being administered into the vein the doses of 1, 5, 10 e 20 mg/kg of carvedilol. This study indicated only at the hypotensive effect of carvedilol, this response being attributed mainly to the relaxation of blood vessels through voltage-dependent calcium channel block (CCBs), without explaining how carvedilol promoted bradycardia.

Already in the study of FEKETA e MARRELLI (2015), the hypothesis that carvedilol could promote hypothermia was tested, however, in order to evaluate the toxicity of this compound they were able to observe effects on BP in CD-1 mice. Therefore, they administered carvedilol in the dosage of 100 mg/kg intraperitoneal route and 25, 50 e 100 mg/kg intravenous route. The authors did not observe effects on BP when the route of administration of carvedilol was intraperitoneal, however, when administered intravenously, a dose-dependent reduction can be observed (-26 ± 4 , -36 ± 4 and -58 ± 5 mmHg, respectively). It is worth emphasizing that all the studies used direct BP measurement, via a catheter, increasing the reliability of the results discussed.

BARRETO DA SILVA *et al.* (2020), were the first researchers to propose a design using a model with spontaneously hypertensive rats (SHR), aiming to evaluate the effects of 21 days of treatment with carvedilol (oral route), formulations of carvedilol encapsulated in β -cyclodextrin (CARV/ β -CD). These authors also pointed out significant reductions in vascular tension and evidenced an anti-inflammatory property of carvedilol, when observing a reduction in pro-inflammatory mediators (IL-1 β) and an increase in anti-inflammatory cytokines (IL-10).

In the study by COSTA *et al.* (2021), spontaneously hypertensive animals treated with 20 mg/kg of carvedilol orally had their BP levels normalized after four weeks, resembling the normotensive group and the group treated with amlodipine (20 mg/kg), antihypertensive used as a positive control of carvedilol. Similar to this study, DIAS *et al.* (2022), also observed an antihypertensive effect of carvedilol (20 mg/kg/day) when treating rats (SHR) for four weeks. The hemodynamic variables in this study, SBP, DBP and MAP, were like the normotensive group and the group treated with 50 mg of losartan/day in the last week of treatment.

Table 2 Effects of carvedilol on blood pressure

Dose (route of administration)	Animal species	Study design	Results	Author
--------------------------------	----------------	--------------	---------	--------

1, 10, 20, 50, 100 e 500 µg/kg. (i.p)	Rats (Sprague-Dawley)	In Vivo Study, with evaluation of the antihypertensive effect in hypertension induced by L-NAME in rat by direct pressure measurement.	↓BP (100 µg/kg) both in the control group and in the group that was induced hypertension by L-NAME.	AYDIN <i>et al.</i> (2007)
1, 5, 10 e 20 mg/kg. (i.v)	Rats (Wistar)	In Vivo Study, with verification of the hypotensive effect by direct pressure measurement.	↓BP and ↓HR (-6±3; -35±5; -57±7; -84±4 mmHg and -8±3; -87±33; -240±35; -303±21 bpm), respectively.	DANTAS <i>et al.</i> (2015)
25, 50 e 100 mg/kg. (i.v); 100 mg/kg. (i.p)	Mice (CD-1)	In Vivo Study, with verification of the hypotensive effect by direct pressure measurement.	↓PA for administration via I.V. – BP for dose administered via I.P.	FEKETA e MARRELLI (2015)
50 mg/kg (oral)	Rats (SHR)	In Vivo Study, investigation of the chronic effect of carvedilol (encapsulated with β-cyclodextrin) on hemodynamic parameters.	↓ SBP and DBP from the 15th day of treatment, with a more pronounced effect on the formulation CARV/β-CD. ↓ vascular tension and anti-inflammatory action with ↓ IL-1 β and ↑ IL-10.	BARRETO DA SILVA <i>et al.</i> (2020)
20 mg/kg (oral)	Rats (SHR)	In Vivo Assay: analysis of four weeks of treatment with carvedilol and aerobic physical exercise on hemodynamic parameters.	↓ SBP and DBP after four weeks of treatment, with a more pronounced effect in the ExerCarv group.	COSTA <i>et al.</i> (2021)
20 mg/kg (oral)	Rats (SHR)	In Vivo Assay: analysis of four weeks of treatment with carvedilol hemodynamic parameters.	↓ SBP and DBP after four weeks of treatment with carvedilol.	DIAS <i>et al.</i> (2022)

*–, no effect; ↓, reduction; ↑, increase; **i.p.**, intraperitoneally; **i.v.**, intravenously; **L-NAME**, inhibitor of nitric oxide synthesis; **BP**, blood pressure; **SBP**, systolic blood pressure; **DBP**, diastolic blood pressure; **HR**, heart rate; **ExerCarv**, group treated with exercise and carvedilol

3.1.2. Vasorelaxant effect

Some previously cited works attributed vasorelaxation as the main mechanism that justifies the hypotensive and antihypertensive effect of carvedilol. However, other mechanisms at the vascular level attributed to carvedilol are already known. Table 2 brings some studies that proposed to study some of these mechanisms.

LIU *et al.* (2020), compared the effects of treatment with two doses of carvacrol (10 and 20 mg/kg) on hypercontractility hyperglycemia-induced in aorta of mice, having as main results the reduction in the number of layers of vascular smooth muscle cells with concomitant decrease in the thinned morphological pattern presented in untreated animals. In addition, these authors suggest that the reduction in vascular hypercontractility observed through exposure of aortic rings to different concentrations of phenylephrine, is due to the activation of the P13K/Akt signaling pathway. In this study, there was no difference between the doses of carvacrol used.

ZHAO *et al.* (2020), treated diabetic mice for six weeks with oral carvacrol (05 and 10 mg / kg) to try to mitigate the deleterious effects of hyperinsulinemia on the endothelium of the thoracoabdominal artery. The findings of ZHAO *et al.* (2020), show significant reductions in the inflammatory profile, as observed in serum levels of IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α and NF-kB expression, as well as demonstrated reductions in parameters related to diabetic disorders, such as p-InsR, p-IRS-1, expression of TRL4 and insulin. All these changes were more pronounced at the dose of 05 mg/kg and resulted in a significant decrease in lesions and consecutively vascular fibrosis.

Carvacrol has also been discussed as an agonist and antagonist of different receptors in the superfamily of TRP receptors (transient potential receptors), as well as CAVs (DANTAS *et al.*, 2015), evaluated carvacrol in the mesenteric artery of pre-contracted rats with PHE (10 μ M). The carvacrol (10^{-8} and 3×10^{-4} M) induced vasorelaxation in mesenteric artery rings with and without functional endothelium. Carvacrol reduced concentration - dependent contractions induced by Bay K 8644 (200 nM), suggesting involvement of CAVs. These authors also observed that in arteries depolarized by 60 mM KCL, against nifedipine, a CAV blocker, and/or cyclopiazonic acid, a Ca²⁺-ATPase (SERCA) reserve inhibitor, carvacrol showed a reduction of CaCl₂ -induced contraction. In this same study, it was also possible to observe a carvacrol response related to calcium influx by inhibiting SOCs (store-operated calcium) and involvement of TRPM7 (Transient potential receptor, subfamily M, member 7), a functional component of SOCs.

Posteriorly, LEE *et al.* (2015), based on the property of carvacrol on oxidative stress, verified the ability of monoterpene to affect the migration and proliferation of aortic VSM cells from rats. In the same study, the effect of carvacrol (0.03 - 3 μ M) on the neoformation of the carotid intima - layer of rats after induced injury was evaluated. The results together suggest a potential inhibitory effect on migration and proliferation of VSM cells, probably by regulation of the MAPK pathway.

Carvacrol is also being assigned an angiogenic potential (MATLUOBI *et al.*, 2018), however, this response has been verified in human mesenchymal stem cells through In Vitro studies, demonstrating that low doses of carvacrol (25-200 μM) are able to increase the survival of mesenchymal stem cells and their migration rate. These authors have revealed that carvacrol induces neovascularization by detecting increased expression of vascular endothelial transcription factor (VEGF) and the Von Willebrand factor (FvW), an important glycoprotein in the regulation of vascular homeostasis, being involved in inflammation pathways.

Table 2 Effects of carvacrol on vascular smooth muscle

Dose (route of administration)	Animal species	Study design	Results	Author
10^{-4}M	Rats (Sprague-Dawley)	In vitro study of vascular reactivity after exposure of aortic rings to different doses of KCL, PHE and CaCl_2 .	– Vascular effect; discard of the involvement of α -adrenoreceptors in the hypotensive mechanism described for carvacrol, exclusion of participation of L-type calcium channels in the VSM.	AYDIN <i>et al.</i> (2007)
10^{-3}M	Rats (Wistar)	In Vitro Study of vascular reactivity against concentrations of KCL; PHE and Ca^{2+} after 5 minutes of exposure of the aorta to carvacrol.	Inhibition of KCL-induced contraction of aortic rings. \downarrow contraction magnitude by 68%.	PEIXOTO-NEVES <i>et al.</i> (2010)
100 $\mu\text{mol/L}$	Rats (Wistar)	In Vitro Study. Investigation of the pathways responsible for hypercontracting aortic rings.	\downarrow Isometric contraction by 50% and \uparrow 50% isometric contraction in the absence of carvacrol.	SHABIR <i>et al.</i> (2014)
10^{-8} e $3 \times 10^{-4}\text{M}$	Rats (Wistar)	In Vitro Assays. Investigation of relaxation of mesenteric artery rings under stress with carvacrol, PHE, KCL, Bay K 8644 and U46619.	\uparrow Vasorelaxation; – vasorelaxation in the presence of KCL; the potassium channels do not interfere in the vasorelaxation induced by carvacrol; \downarrow concentration-dependent contractions induced by Bay K 8644 (200 nM).	DANTAS <i>et al.</i> (2015)
(0,03 – $3\mu\text{M}$)	Rats (Sprague-Dawley)	In Vitro Assays – Cell culture (aortic artery).	\downarrow Migration and proliferation of smooth muscle cells; \downarrow ROS and inhibition of the MAPK pathway.	LEE <i>et al.</i> (2015)

(25 e 50 μ M)	Homo Sapiens	In Vitro Assays – cell culture (bone marrow).	\uparrow cell survival and migration; \uparrow neovascularization; \uparrow FvW and VE-cadherin.	MATLUOBI <i>et al.</i> (2018)
10 e 20 mg/kg (i.p)	Mice (C57BL/6J)	Effect of carvacrol on body mass and serum glucose; and research into the pathways of VSM remodeling.	\downarrow aortic thinning and hypercontractility; \downarrow VSM; \downarrow serum glucose; \uparrow of the activity of the P13K/Akt pathway; no differences between the 10 and 20 mg/kg doses of carvacrol.	LIU <i>et al.</i> (2020)
05 e 10 mg/kg (oral)	Mice (C57BL/KsJ db/db)	Investigation of the protective effect of carvacrol against endothelial inflammation in diabetic mice.	\downarrow endothelial injury; \downarrow insulin; \downarrow p-InsR; \downarrow p-IRS-1; \downarrow NF- κ B; \downarrow IL-1 β ; \downarrow IL-18; \downarrow IL-6; \downarrow TNF- α ; \downarrow vascular fibrosis.	ZHAO <i>et al.</i> (2020)
20 mg/kg (oral)	Rats (SHR)	In Vitro Assay: mesenteric artery reactivity to cumulative concentrations of Ca ²⁺ and NOR.	\downarrow Vascular tension; suggests an inhibitory effect of carvacrol on both β -adrenergic and Ca ²⁺ channel blockade.	COSTA <i>et al.</i> (2021)
20 mg/kg (oral)	Rats (SHR)	In Vitro Assay: mesenteric artery reactivity to cumulative concentrations of Ca ²⁺ and NOR.	\downarrow Vascular tension; suggests blockade of Ca ²⁺ channels by carvacrol.	DIAS <i>et al.</i> (2022)

*-, no effect; \downarrow , reduction; \uparrow , increase; **i.p.**, intraperitoneally; **i.v.**, intravenously; **L-NAME**, inhibitor of nitric oxide synthesis; **BP**, blood pressure; **SBP**, systolic blood pressure; **DBP**, diastolic blood pressure; **HR**, heart rate; **KCL**, potassium chloride; **MAPK**, mitogen-activated protein kinase; **EROS**, reactive oxygen species; **IL-1 β** , interleukin - 1 β ; **IL-10**, interleukin - 10; **IL-18**, interleukin - 18; **IL-6**, interleukin - 6; **TNF- α** , tumor necrosis factor- α ; **p-InsR**, phosphorylated insulin receptor; **p-IRS-1**, insulin receptor substrate - 1; **NF- κ B**, nuclear transcription factor- κ B; **Ca²⁺**, calcium; **NOR**, noradrenaline; **VSM**, vascular smooth muscle

3.1.3. Cardioprotective effects

Carvacrol also has cardioprotective properties. Table 3 brings a summary of the articles that proposed to investigate these properties.

Adapala *et al.* (2013), were the first researchers to show In Vitro that the molecular mechanisms that led to the increase of fibroblast cell differentiation had as key points the expression of the potential channels of the voltage-dependent transient receptor (TRPV4), channels calcium-sensitive to influx, showing that the increase in the expression of TRPV4 was related to the increase in the release of TGF- β 1 in the ECM. These investigators, when inhibiting TRPV4 channels, using carvacrol, found that TGF- β 1-induced fibroblast

differentiation was not inhibited, however, the reduction in ECM stiffness was correlated with a lower differentiation of these cells, concluding that the TRPV4 channels participate in the cardiac remodeling process, either by mechanical mechanisms, interfering in the ECM rigidity, or by soluble mechanisms (interfering in the release of TGF- β 1).

Table 3 Effects of carvedilol on ischemic disorders

Dose (route of administration)	Animal species	Study design	Results	Author
Uninformed	Rats (Sprague-Dawley)	In Vitro Study - Cell culture: induction of differentiation of cardiac fibroblasts by TGF- β 1.	- Fibroblast differentiation induced by TGF- β 1. Positive correlation of EM stiffness with fibroblastic differentiation.	ADAPALA <i>et al.</i> (2013)
25, 50 e 100 mg/kg (i.p)	Rats (Wistar)	In Vivo Study: Infarction induced by ligation of the left anterior descending coronary artery.	↓ Infarct area (37.64%, 26.76% and 23.99%), respectively. ↓CK, CK-MB, cTnT e LDH. ↓MDA, SOD, GSH and GSH-PX. ↓caspases-3 and Bax and ↑Bcl-2.	YU <i>et al.</i> (2013)
25, 50 e 100 mg/kg (i.p)	Rats (Wistar)	In Vivo and In Vitro Study: Culture of cardiomyocytes. Infarction induced by ligation of the left anterior descending coronary artery.	Increased recovery of ST-segment elevation in the ECG in the treated group; ↓infarct area (50 e 100 mg/kg); ↑SOD, ↑CAT and ↓MDA; ↑p-ERK.	CHEN <i>et al.</i> (2017)
25, 50 e 75 mg/kg (não informado)	Rats (Wistar)	In Vivo Assay: Angiotensin II-induced hypertension model; In Vitro Assay: Overload-induced cardiac hypertrophy.	↓PA; ↓HR; ↓Cardiac fibrosis; ↓ANP mRNA; ↓cell size; ↓MDA and ↑DPPH.	JAMHIRI <i>et al.</i> (2019)
10, 30, 100, 300 e 1000 μ M	Humans and Rabbits (New Zealand)	In Vitro Assay. Electrocardiographic study of isolated cardiac tissue using the Langerdorff perfusion system.	QRS interval increased, AV blockages, and reduced T wave amplitude with decrease in conduction velocity in the ventricular myocardium, reversibly	ALMANAITYTÉ <i>et al.</i> (2020)
20 mg/kg (oral)	Rats (SHR)	Qualitative histopathological analysis of cardiac tissue.	Preservation of the shape and size of perivascular tissue and cardiomyocytes.	COSTA <i>et al.</i> (2021)

*-, no effect; ↓, reduction; ↑, increase; **i.p.**, intraperitoneally; **i.v.**, intravenously; **BP**, blood pressure; **HR**, heart rate; **EM**, extracellular matrix; **CK**, cratine kinase; **CK-MB**, creatine kinase – cardiac isoform; **cTnT**, cardiac troponi; **LDH**, lactate dehydrogenase; **MDA**, malondialdehyde; **SOD**, superoxide dismutase; **CAT**, catalase; **GSH**, glutathione non-exudative enzyme; **GSH-PX**, glutathione peroxidase; **p-ERK**, ERK phosphorylated; **DPPH**, The 2-2-diphenyl 1-picril-hydrasil; **AV**, atrioventricular

In another study, conducted by YU *et al.* (2013), the objective was to show the cardioprotective property of carvacrol at an event of myocardial infarction. Therefore, the researchers conducted the experiments on adult Wistar rats (250-300 grams), inducing infarction via ligation of the left anterior descending coronary artery and treating them with 25, 50 and 100 mg/kg of carvacrol by seven consecutive days. The first results demonstrated in this study, indicated a reduction of the area of infarction in the animals treated with 25, 50 and 100 mg/kg of carvacrol, having an infarct area equal to 31.64%, 26.76% and 23.99% respectively. In the control group, the infarct area was 37.33%. Carvacrol treatment was also effective in dramatically decreasing serum concentrations of creatine kinase (CK), creatine kinase - cardiac isoform (CK - MB), cardiac troponin (cTnT) and lactate dehydrogenase enzyme (LDH) when compared to the control group. It was also possible to observe antioxidant and antiapoptotic effects of carvacrol, the first being demonstrated by the reduction in the treated groups of the activity of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione non-exudative enzyme (GSH), as well as glutathione peroxidase (GSH-PX), and the antiapoptotic effect was evidenced by the reduction of the expression of the proteins caspases-3 and Bax, as well as by increased levels of the protein Bcl-2, cell apoptosis markers. These results indicate that carvacrol was effective in attenuating the damage caused by acute myocardial infarction. Using the same protocol for infarction induction, Chen *et al.* (2017), observed results similar to those of the previously mentioned research. However, cardioprotection was only conferred, regarding the reduction of the infarct area, to the animals treated with the doses of 50 and 100 mg/kg of body mass, and there was no significant difference in those treated with 25 mg/kg, when compared to the control group.

Chen *et al.* (2017), also showed an antioxidant effect, with increased activity of SOD and catalase (CAT) enzymes, and reduction of MDA levels. The cardioprotective efficiency of carvacrol was also analyzed *in vitro*, indicating better viability of the cardiomyocytes of infarcted animals that were treated with carvacrol (CHEN *et al.*, 2017). These authors are still committed to investigate the cellular apoptosis pathway MAPK/ERK, demonstrating that in animals treated with carvacrol increased the phosphorylation of ERK (p-ERK), thus deactivating the cell apoptosis pathway, while inhibiting ERK with PD-98059 the cardioprotective property of carvacrol was reversed, demonstrating the involvement of the MAPK-ERK pathway in the antiapoptotic mechanisms of carvacrol (CHEN *et al.*, 2017).

Jamhiri *et al.* (2019), through *in vivo* and *in vitro* assays, they observed reductions in cardiac fibrosis and in the gene expression of the atrial natriuretic peptide, a key factor for the

cardiac remodeling pathway. While Costa et al. (2021), presented qualitative results that evidence a cardioprotective role of carvacrol on cardiac remodeling imposed by arterial hypertension. In the experimental design proposed by them, the rats (SHR) were treated (oral) with 20 mg/kg of carvacrol for four weeks. Another property inherent to carvacrol was described in the work of Almanaityte et al. (2020), who demonstrated antiarrhythmic activity, when they found that carvacrol increased the QRS interval and promoted atrioventricular block in hearts explanted from rabbits and humans through a Langerdorff perfusion system. Fig. 1 below, presents a summary of the previously discussed mechanisms of action of carvacrol.

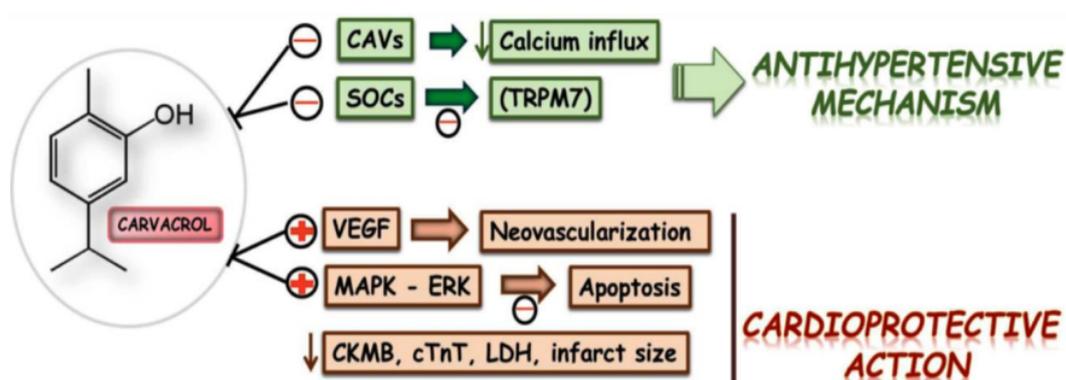


Fig. 1 Mechanisms of action of carvacrol

4. CONCLUSIONS AND FUTURE PERSPECTIVES

In conclusion, ADMET analyzes revealed that carvacrol has promising pharmacodynamic properties for the treatment of CDVs. In addition, carvacrol has hypotensive and antihypertensive action, especially when used at doses of 50 and 100 mg/kg. This hemodynamic response seems to be mainly associated with voltage-dependent calcium channel block, reducing vascular contraction tone, and mitigating endothelial dysfunction in diabetes models. We also conclude that carvacrol promotes cardiac protection, acting in the pathways of cardiac remodeling and apoptosis, reducing cardiac fibrosis and deposition of collagen, as well as reduction of infarct area and expression of apoptotic molecular markers and hypertrophic in normotensive rats and / or with angiotensin II-induced hypertension treated with carvacrol. However, there is a need for further studies using spontaneous hypertension models that can combine carvacrol with other antihypertensive therapies, such as drugs already consolidated for this purpose or even non-drug interventions such as physical exercise, which may reveal its real antihypertensive potential.

REFERENCES

ADAPALA, R. K. *et al.* TRPV4 channels mediate cardiac fibroblast differentiation by integrating mechanical and soluble signals. **Journal of molecular and cellular cardiology**, 54, p. 45-52, 2013.

ALLAWADHI, P. *et al.* Isoproterenol-induced cardiac ischemia and fibrosis: Plant-based approaches for intervention. **Phytotherapy Research**, 32, n. 10, p. 1908-1932, 2018.

ALMANAITYTĖ, M.; JUREVIČIUS, J.; MAČIANSKIENĖ, R. Effect of carvacrol, TRP channels modulator, on cardiac electrical activity. **BioMed research international**, 2020, 2020.

ALMEIDA, K. B. *et al.* In vitro release and anti-herpetic activity of *Cymbopogon citratus* volatile oil-loaded nanogel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 28, n. 4, p. 495-502, 2018.

ARUNASREE, K. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. **Phytomedicine**, 17, n. 8-9, p. 581-588, 2010.

AYDIN, Y. *et al.* Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. **Planta medica**, 73, n. 13, p. 1365-1371, 2007.

BARANAUSKAITE, J. *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 Res Int**, 1681392, n. 10, p. 18, 2017.

BARRETO DA SILVA, L. *et al.* Antihypertensive effect of carvacrol is improved after incorporation in β -cyclodextrin as a drug delivery system. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 47, n. 11, p. 1798-1807, 2020.

BEDOYA-SERNA, C. M. *et al.* Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. **Braz J Microbiol**, 49, n. 4, p. 929-935, 2018. Evaluation Study.

BELLÉS, M. *et al.* Sulfite-free lamb burger meat: Antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 99, n. 1, p. 464-472, 2019.

CAMPOS, E. V. *et al.* Carvacrol and linalool co-loaded in β -cyclodextrin-grafted chitosan nanoparticles as sustainable biopesticide aiming pest control. **Scientific reports**, 8, n. 1, p. 1-14, 2018.

CHEN, Y. *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**, 796, p. 90-100, 2017.

COSTA, H. A. *et al.* Effect of treatment with carvacrol and aerobic training on cardiovascular function in spontaneously hypertensive rats. **Experimental Physiology**, 2021.

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

DE ALMEIDA MAGALHAES, T. S. S. *et al.* Development and Evaluation of Antimicrobial and Modulatory Activity of Inclusion Complex of Euterpe oleracea Mart Oil and beta-Cyclodextrin or HP-beta-Cyclodextrin. **Int J Mol Sci**, 21, n. 3, Jan 31 2020.

DIAS, C. J. *et al.* Carvacrol reduces blood pressure, arterial responsiveness and increases expression of MAS receptors in spontaneously hypertensive rats. 917, p. 174717, 2022.

DOCHERTY, J. R. Subtypes of functional α 1-adrenoceptor. **Cellular and molecular life sciences**, 67, n. 3, p. 405-417, 2010.

DRWAL, M. N. *et al.* ProTox: a web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. **Nucleic Acids Res**, 42, n. Web Server issue, p. W53-58, Jul 2014. Research Support, Non-U.S. Gov't

Validation Study.

DURAN-ITURBIDE, N. A.; DIAZ-EUFRACIO, B. I.; MEDINA-FRANCO, J. L. In Silico ADME/Tox Profiling of Natural Products: A Focus on BIOFACQUIM. **ACS Omega**, 5, n. 26, p. 16076-16084, Jul 7 2020.

EARLEY, S.; GONZALES, A. L.; GARCIA, Z. I. A dietary agonist of transient receptor potential cation channel V3 elicits endothelium-dependent vasodilation. **Molecular pharmacology**, 77, n. 4, p. 612-620, 2010.

EKOWATI, J. *et al.* Molecular docking of ferulic acid derivatives on P2Y12 receptor and their ADMET prediction. **Journal of Mathematical and Fundamental Sciences**, 50, n. 2, p. 203-219, 2018.

FATIMA, S. *et al.* ADMET profiling of geographically diverse phytochemical using chemoinformatic tools. **Future Med Chem**, 12, n. 1, p. 69-87, Jan 2020.

FEKETA, V. V.; MARRELLI, S. P. Systemic administration of the TRPV3 ion channel agonist carvacrol induces hyperthermia in conscious rodents. **PLoS one**, 10, n. 11, p. e0141994, 2015.

FONSECA, L. M. *et al.* Effect of carvacrol encapsulation in starch-based nanofibers: Thermal resistance and antioxidant and antimicrobial properties. **Journal of Food Processing and Preservation**, 45, n. 5, p. e15409, 2021.

GUIMARAES, A. G. *et al.* Encapsulation of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano, with beta-cyclodextrin, improves the pharmacological response on cancer pain experimental protocols. **Chem Biol Interact**, 227, p. 69-76, Feb 5 2015. Research Support, Non-U.S. Gov't.

GURNEY, A. M. Mechanisms of drug-induced vasodilation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, 46, n. 4, p. 242-251, 1994.

HARDJONO, S.; SISWANDONO, S.; ANDAYANI, R. Evaluation of N-benzoylthiourea derivatives as possible analgesic agents by predicting their physicochemical and pharmacokinetic properties, toxicity, and analgesic activity. **Indonesian Journal of Biotechnology**, 22, n. 2, p. 76-85, 2017.

JAMHIRI, M. *et al.* Carvacrol Ameliorates Pathological Cardiac Hypertrophy in Both In-vivo and In-vitro Models. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR**, 18, n. 3, p. 1380, 2019.

LEE, K. P. *et al.* Carvacrol inhibits atherosclerotic neointima formation by downregulating reactive oxygen species production in vascular smooth muscle cells. **Atherosclerosis**, 240, n. 2, p. 367-373, 2015.

LIU, S. *et al.* Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. **Poultry Science**, 2018.

LIU, X. *et al.* Effect of encapsulated carvacrol on the incidence of necrotic enteritis in broiler chickens. **Avian Pathol**, 45, n. 3, p. 357-364, Jun 2016.

LIU, Y. *et al.* Carvacrol protects against diabetes-induced hypercontractility in the aorta through activation of the PI3K/Akt pathway. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 125, p. 109825, 2020.

MARÍN, J. *et al.* Mechanisms involved in the cellular calcium homeostasis in vascular smooth muscle: calcium pumps. **Life sciences**, 64, n. 5, p. 279-303, 1998.

MATLUOBI, D. *et al.* Carvacrol promotes angiogenic paracrine potential and endothelial differentiation of human mesenchymal stem cells at low concentrations. **Microvascular Research**, 115, p. 20-27, 2018.

MORADI, S.; BARATI, A. Essential Oils Nanoemulsions: Preparation, Characterization and Study of Antibacterial Activity against Escherichia Coli. **International Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, 15, n. 3, p. 199-210, 2019.

NASCIMENTO, B. R. *et al.* Epidemiologia das doenças cardiovasculares em países de Língua Portuguesa: dados do "Global Burden of Disease", 1990 a 2016. **Arq Bras Cardiol**, 110, n. 6, p. 500-511, 2018.

NEBERT, D. W.; RUSSELL, D. W. Clinical importance of the cytochromes P450. **Lancet**, 360, n. 9340, p. 1155-1162, Oct 12 2002. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

Review.

PEIXOTO-NEVES, D. *et al.* Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental & clinical pharmacology**, 24, n. 3, p. 341-350, 2010.

PÉREZ-VIZCAÍNO, F. *et al.* 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**, 123, n. 5, p. 847-854, 1998.

PIRES, D. E.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **J Med Chem**, 58, n. 9, p. 4066-4072, May 14 2015. Research Support, Non-U.S. Gov't.

RAHMANI, A. H. *et al.* Curcumin: a potential candidate in prevention of cancer via modulation of molecular pathways. **Biomed Res Int**, 2014, p. 761608, 2014. Review.

RAJPUT, J. D. *et al.* Perspectives on medicinal properties of natural phenolic monoterpenoids and their hybrids. **Molecular diversity**, 22, n. 1, p. 225-245, 2018.

REIS, J. H. *et al.* 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, p. 168-176, 2018.

SEPAY, N. *et al.* In silico fight against novel coronavirus by finding chromone derivatives as inhibitor of coronavirus main proteases enzyme. **Struct Chem**, p. 1-10, May 13 2020.

SHABIR, H. *et al.* Modulation of Pb (II) caused aortal constriction by eugenol and carvacrol. **Biological trace element research**, 161, n. 1, p. 116-122, 2014.

SIQUEIRA, A. D. S. E.; DE SIQUEIRA-FILHO, A. G.; LAND, M. G. P. Análise do impacto econômico das doenças cardiovasculares nos últimos cinco anos no Brasil. **Arq Bras Cardiol**, 109, n. 1, p. 39-46, 2017.

SOFOWORA, A.; OGUNBODEDE, E.; ONAYADE, A. The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. **Afr J Tradit Complement Altern Med**, 10, n. 5, p. 210-229, Aug 12 2013. Review.

THOMPSON, J. D. *et al.* Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. **Journal of Chemical Ecology**, 29, n. 4, p. 859-880, 2003.

VERA, R.; CHANE-MING, J. Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. **Food Chemistry**, 66, n. 2, p. 143-145, 1999.

WANG, C. *et al.* Moieties of plant-derived compounds responsible for outward current production and TRPA1 activation in rat spinal substantia gelatinosa. **Pharmacological Reports**, 71, n. 1, p. 67-72, 2019.

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**, p. b12-00948, 2013.

ZHAO, W. *et al.* Carvacrol may alleviate vascular inflammation in diabetic db/db mice. **International Journal of Molecular Medicine**, 46, n. 3, p. 977-988, 2020.

ANEXO 3 – NORMAS DE PUBLICAÇÃO REVISTA CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINAR NÚCLEO DO CONHECIMENTO

TERMOS DE PUBLICAÇÃO - DIRETRIZES PARA OS AUTORES

A **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento** é o primeiro Mega Journal Open Search da América Latina, programada inteiramente em HTML, com disponibilidade dos documentos em extensão PDF.

A **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento** está disponível em 185 países, 7 idiomas, e, em diversas bases de indexações.

São realizadas publicações de materiais científicos, bem como, e-books e manuais.

As publicações são realizadas em fluxo contínuo, seguindo regras específicas para cada ambiente, conforme indicadas a seguir:

MATERIAIS ACEITOS NO PERIÓDICO:

No periódico da Revista Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento são aceitos

- Relato de caso (até 3.000 palavras)
- Artigos Originais (até 3.500 palavras)
- Artigos de Revisão (até 4.000 palavras)
- Ensaio Teórico (até 4.000 palavras)
- Revisão Integrativa (até 4.000 palavras)
- Revisão Bibliométrica (até 4.000 palavras)
- Resenha (até 2.000 palavras)
- Comunicações (até 2.000 palavras)
- Pré Prints (até 2.000 palavras)
- Resumos Expandidos (até 1000 palavras)

A **Revista não tem por política** a publicação de artigos não originais ou sem ineditismo, excetuando-se apenas os trabalhos em desenvolvimento (work in progress), já apresentados e discutidos em congressos científicos, mas cujo conteúdo apresente um grau de maturação superior ao que foi apresentado por ocasião dos congressos, e que não tenham sido publicados em nenhuma plataforma on-line.

Qualquer alteração após material aprovado pelos pares é proibida. Caso haja alguma alteração antes da publicação on-line, o processo deverá ser reiniciado, voltando o material para a primeira etapa.

Não é permitido a inclusão de autores após o início do processo de avaliação. Bem como, substituição do material.

Os materiais são realizados por pares às cegas, não sendo considerado, portanto, a titulação, mas sim, o nível, qualidade e relevância científica.

Como forma de auxílio aos pesquisadores, nosso processo se dá por etapas, sendo em cada etapa impreterível o atendimento às exigências por parte dos pesquisadores, garantindo assim, a qualidade e o fluxo das publicações.

São realizadas 7 etapas obrigatórias, sendo a etapa 8, facultativa aos pesquisadores.

TAXA DE APC (ARTICLE PROCESSING CHARGES)

A taxa de APC ocorre como meio de viabilizar a estrutura mantida pela Revista, auxiliando a cobrir os gastos referentes ao trabalho editorial, infraestrutura técnica e inovação, produção de artigos, atendimento ao cliente, marketing, sistemas, o registro DOI e banda de dados.

Os autores vinculados às instituições podem requerer auxílio para o pagamento da taxa. As agências de fomento e algumas instituições possuem verba específica para esta finalidade.

Se você quer saber um pouco mais sobre a taxa de APC pode compreender através do site:

<https://blog.scielo.org/blog/2019/05/22/periodicos-que-aumentaram-o-valor-da-apc-receberam-mais-artigos/#.Y6Ng5nbMJhE>

A Partir do mês de maio de 2023. Após reunião com nossos editores, a **Revista Científica Núcleo do Conhecimento** decidiu dividir a **taxa de APC** de acordo com as etapas, garantindo assim, a lisura, ética e qualidade.

DOWNLOAD PDF

DESCRIÇÃO DAS ETAPAS:

Etapa 1: Envio do Material (APC de Avaliação)

Os materiais podem ser enviados da seguinte forma: Via sistema (com preenchimento do cadastro), via WhatsApp (direto aos consultores), ou por e-mail (contato@nucleodoconhecimento.com.br).

O envio do material deve ocorrer concomitantemente com a Taxa de APC referente avaliação do material.

Nesta primeira taxa está incluso os procedimentos:

- Investigação de plágio;
- Avaliação dos pareceristas;
- Despesas administrativas (inclusão no sistema, atendimento, direcionamento aos pares, análise e conferência dos documentos, dentre outras);
(para saber sobre prazos e valores consulte nossa apresentação em pdf acima).

Importante!

Caso haja desistência do processo não haverá restituição do valor inicial.

Etapa 2. Conferência e Análise Documental

Assim que for confirmada o investimento na primeira taxa de APC, o (s) autor (es) passarão pela avaliação documental.

Os pesquisadores deverão encaminhar os quatro termos documentais (3 obrigatórios e 1 optativo).

1. **Folha de rosto** (informações de cadastro);
2. Carta de apresentação dos autores, constando as respectivas participações no material;
3. **Termo** (carta) de transferência de direitos;
4. **Termo** (carta) de responsabilidade pelos agradecimentos.

Etapa 3. Investigação de Plágio

Nós utilizamos diversos sistemas profissionais para investigação de plágio.

A avaliação do ineditismo de trabalhos em desenvolvimento é realizada na segunda etapa da avaliação, pela equipe editorial da Revista.

A **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento** trata-se de uma Revista Científica Internacional, portanto, artigos publicados em outros periódicos, mesmo traduzidos serão considerados plágio. Não serão aceitas traduções de pesquisas estrangeiras já publicadas em outros idiomas.

Em se tratando de pesquisa empírica envolvendo seres humanos, necessário se faz o atendimento das diretrizes dispostas nas Resoluções 196/96 e 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares, bem como a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa- CEP, regularmente instituído.

Para pesquisas na Área de Humanidades aderimos as diretrizes do Fórum de Ciências Humanas, Sociais, Sociais Aplicadas, Linguística, Letras e Artes (FCHSSALLA) 2023.

Após a investigação do plágio o pesquisador receberá o relatório oficial. Caso o material apresente o percentual > 9%, poderá optar em encaminhar o material para o primeiro par. E, realizar as modificações junto com os respectivos apontamentos.

Caso o material apresente entre 9% e 50%, o pesquisador deverá reescrever as partes apontadas. Mesmo se o apontamento seja parte de um outro texto do próprio pesquisador, devendo assim, seguir as regras para autocitação.

Caso o material apresente acima de 51%, o pesquisador será considerado **reprovado**.

Etapa 4. Avaliação Primeiro Parecerista

Um diferencial que a **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento** traz no processo de avaliação são os formatos de apontamentos.

Ao invés de serem realizados por relatórios, fazendo com que muitos autores considerem subjetivos, nossos avaliadores fazem os apontamentos no próprio texto, apontando em outra cor todas as lacunas que devem ser eventualmente sanadas.

Esse processo possibilita que o pesquisador consiga atuar com o máximo de clareza e transparência dentro dos apontamentos do avaliador, havendo a possibilidade de concordar ou não, sendo a não concordância justificada no próprio texto, promovendo assim, a capacidade de diálogo.

O material com os apontamentos será encaminhado para o autor que deverá atender, justificar ou contrapor TODOS os apontamentos realizados.

Após o retorno, o material é encaminhado novamente ao Primeiro Parecerista, assim, a avaliação observará se os apontamentos atendidos qualificam o material para publicação.

Nesta etapa é muito importante que o pesquisador atenda todas as exigências fazendo inclusive, apontamentos de justificativa ou contraposição. Caso contrário o material será reprovado.

Importante!

Caso os apontamentos sejam sobre questões relacionadas às normas e ortografia, o (s) pesquisador (es) pode (m) optar por realizar por conta própria, ou optar pela editoração interna (mediante taxa).

Etapa 5. Editoração

O segundo parecerista será responsável por realizar vistas de todo o processo que foi realizado antes. Além disso, fazer apontamentos pertinentes à área. O processo será o mesmo realizado pelo primeiro parecerista.

Nesta etapa é muito importante que o pesquisador atenda todas as exigências fazendo inclusive, apontamentos de justificativa ou contraposição. Caso contrário o material será reprovado.

Importante!

Caso os apontamentos sejam sobre questões relacionadas às normas e ortografia, o (s) pesquisador (es) pode (m) optar por realizar por conta própria, ou optar pela editoração interna (mediante taxa).

Etapa 6. Parecer final e, APC (Publicação)

Nesta etapa o material terá seu status final.

Caso o material seja reprovado o (s) pesquisador (es) receberão um relatório do (s) motivo (s) que levaram o material a ser considerado insuficiente para publicação.

Caso o **material seja considerado aprovado**, o autor receberá um e-mail para se seja realizado o segundo investimento da taxa de APC (consulte nossa apresentação em pdf).

- Na segunda taxa de APC está incluso:
- Programação de linguagem HTML, execução do PDF, conferir e criar o cadastro do pesquisador responsável no sistema interno, e, gerar códigos de programação que possam otimizar os materiais.
- Além disso, inclusão do registro DOI;
- Indexação dos materiais;
- Link em pdf;
- Tradução inglês;
- Tradução espanhol;
- Custos administrativos das referidas etapas.

Importante!

Em caso de desistência não haverá restituição de valores.

Etapa 7. Publicação em Português

Nesta etapa, nossa equipe é responsável por realizar o processo de programação de linguagem HTML, execução do PDF, conferir e criar o cadastro do pesquisador responsável no sistema interno, e, gerar códigos de programação que possam otimizar os materiais.

Essa etapa não depende mais do pesquisador. Mas sim, da nossa equipe e programação.

A fase de publicação para visualização é a etapa onde o material é indexado para online, gerado o link do .pdf, incluso o número DOI, e indexado nas demais redes.

Tradução e Publicação em Inglês e Espanhol

Após a publicação em Português o material é encaminhado para Tradução e, conseqüentemente passara novamente por todas as etapas e processos anteriores.

Etapas Optativas

Esta etapa envolve processos que são opcionais por parte dos pesquisadores. São elas:

- Tradução do material para outros idiomas;
- Certificado físico ou digital;
- Apresentação do material em nossas redes sociais;
- Editoração especial;
- Vídeo do Material.

APRESENTAÇÃO DOS TRABALHOS

1. Os textos devem ser digitados em fonte Times New Roman ou Arial, corpo 12, espaço 1,5 entrelinhas, folha tamanho A4 (210mm x 297mm), com margens esquerda e superior de 3 cm; direita e inferior de 2 cm.
2. Os textos não devem apresentar espaços entre parágrafos, bem como, respeitar o espaço de 1,5 cm no início de cada parágrafo.
3. As indicações com relação a quantidade de palavras devem seguir o tipo de trabalho. Quaisquer necessidades de aumento de palavras, ou formato do material deve ser avisada antes e o material encaminhado para apreciação.
4. **Título:** com no máximo 12 palavras, o título do artigo deve ser claro e objetivo, podendo ser completado por subtítulo (se houver), separado por dois pontos, em negrito, caixa alta e centralizado, no idioma do texto, sem abreviaturas.
5. **Autor(es):** os autores não deverão ser identificados em nenhuma parte do texto do artigo. Para garantir o anonimato e a imparcialidade na avaliação dos textos, a identificação deve ser realizada somente na folha de rosto (sistema double blind peer review). Além disso, cada autor deve comprovar sua participação no desenvolvimento do trabalho. Os trabalhos apenas de revisão não devem ultrapassar 7 autores.
6. **Resumo:** o resumo de conteúdo indicativo do texto deverá ser apresentado no idioma do texto, não devendo ultrapassar 350 palavras, estruturado de forma sistemática, em parágrafo único, apresentando em seu contexto: objetivos, pergunta problema, metodologia e principais resultados. Não é necessário o Resumo em outros idiomas.
7. **Palavras-chave:** o resumo deverá vir acompanhado de, no máximo, 5 palavras-chave no idioma do texto, expressões que representam o conteúdo do texto, inseridas logo abaixo do resumo, separadas por ponto e vírgula e finalizadas por ponto final.
8. **Ilustrações:** gráficos, tabelas, desenhos, mapas etc. devem ser numerados e titulados tão perto quanto possível do elemento a que se refere, indicando sua fonte. Todas as tabelas e figuras que apresentem textos devem ser enviadas em português no corpo do texto. Caso o (s) autor (es) optem pela tradução devem encaminhar as tabelas e figuras em inglês.
9. **Numeração das seções:** as seções do artigo deverão estar estruturadas em introdução, as seções do desenvolvimento, considerações finais e referências. Para a numeração progressiva das seções, o autor deverá observar a NBR 6024:2003, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).
10. **Citações:** As citações devem vir no formato autor (data) quando no texto, ou (AUTOR, DATA), quando no final dos textos. As citações diretas acima de 3 linhas devem vir em recuo de 5 cm, letra 11, espaço simples e apontamento da página em que a citação foi retirada, sem aspas.

11. As **citações longas** (mais de três linhas) devem apresentar recuo de 5 cm da margem esquerda, com letra menor que a do texto utilizado (fonte 11) e sem aspas.
12. As **citações indiretas** devem vir sem aspas. As citações de citações podem utilizar a expressão apud e a obra original a que o autor consultado está se referindo deve ser citada. Para outras informações acerca do uso de citações, o autor deverá consultar a ABNT (NBR 10520:2002). As citações indiretas não devem ser iguais à ideia do autor original da fonte, caso contrário, será considerado plágio.
13. **Referências:** as referências consistem na indicação das fontes bibliográficas utilizadas pelo autor, expressamente mencionadas no texto. Deverão ser apresentadas observando-se rigorosamente a ordem alfabética. As referências bibliográficas deverão ser elaboradas conforme as disposições da NBR 6023:2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (**ABNT**), somente com elementos essenciais. Pedimos que sejam colocados os nomes completos dos autores, sem abreviações para facilitar a identificação da obra.
14. Título da obra em **negrito** (seguido de ponto); edição (seguido de ponto); local (seguido por dois pontos); editora (seguido de vírgula); ano da publicação (seguido de ponto); se for o caso indicar o volume ou tomo e finalmente a página da fonte. Todas as citações devem ter a identificação completa no fim do material, no tópico intitulado "Referências".
15. **Modelo de referência bibliográfica de livro:** SOBRENOME DO AUTOR, Nome do autor. **Título em negrito**, edição. Local: editora, data da publicação, páginas, volume (nome, número de série), outros elementos que permitam identificar o documento (opcionais).
16. **Modelo de referência bibliográfica de livro disponível on-line:** SOBRENOME DO AUTOR, Nome do autor. **Título em negrito**, edição. Local: Editora, data da publicação, páginas, volume (nome, número de série), outros elementos que permitam identificar o documento (opcionais). Disponível em: (sítio). Acesso em: DD/MM/AAAA.
17. **Modelo de referência bibliográfica de artigo publicado em periódico:** SOBRENOME DO AUTOR, Nome do autor. **Título do artigo**. Título do periódico em **negrito**, Local da Publicação, numeração correspondente ao volume e/ou ano, fascículo ou número, paginação inicial e final, data de publicação.
18. **Modelo de referência bibliográfica de artigo publicado em periódico disponível on-line:** SOBRENOME DO AUTOR, Nome do autor. **Título do artigo**. Título do periódico em **negrito**, Local da Publicação, numeração correspondente ao volume e/ou ano, fascículo ou número, paginação inicial e final, data de publicação. Disponível em: (sítio). Acesso em DD/MM/AAAA.
19. O texto deve usar **negrito** apenas para título, subtítulos e nome dos livros (nas referências), o restante deve ser apresentado sem qualquer grifo, **negrito** ou **itálico**. Em **itálico** devem vir apenas palavras em outros idiomas.

INDEXAÇÃO NAS BASES DE BUSCA

A Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento se compromete em apresentar os artigos científicos de forma compatível, para que os buscadores encontrem os artigos com facilidade, incluindo tags e adaptações necessárias de cada plataforma.

Cada canal de indexação (GOOGLE ACADÊMICO, CROSSREF, RESEARCHGATE, PUBLONS, DIMENSIONS, GOOGLE, SCILIT, LATINDEX e outros que a Revista venha estar indexada na época da publicação) tem autonomia própria podendo indexar ou não o material científico publicado, sendo sujeito às regras internas de cada base de dados.

O prazo varia de cada plataforma e a Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento não tem como garantir uma data ou interferir.

POLÍTICA DE PRIVACIDADE

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

- ISSN (versão eletrônica): 2448-0959
- Licença Creative Commons Este trabalho está licenciado com uma Licença Creative Commons – Atribuição 4.0 Internacional.

POLÍTICA DE PRIVACIDADE – LEI DA PROTEÇÃO DE DADOS PESSOAIS – LGPD

Todas as informações pessoais relativas a membros, assinantes, clientes ou visitantes que usem o Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento serão tratadas em concordância com a Lei da Proteção de Dados Pessoais de 26 de outubro de 1998 (Lei n.º 67/98).

Consulte mais detalhes em: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/politica-de-privacidade>

E-BOOKS

Os livros acadêmicos publicados pela Núcleo do Conhecimento ocorrem nos seguintes formatos:

- Integral – resultado de pesquisas individuais ou coletivas;
- Capítulo – através de chamadas públicas.

Todos os materiais devem ser inéditos e possuir relevância científica. Diferentemente dos artigos científicos que passam pelo processo de avaliação de pares as cegas. Os livros científicos ocorrem através de editoração por bancas científicas.

No entanto, todos os materiais enviados são submetidos a avaliação de plágio. A proposta da Núcleo do Conhecimento é que os E-books sejam disponibilizados em HTML e PDF. Ocorrendo assim, a necessidade de taxa de APC.

Cada material será avaliado separadamente, e o orçamento realizado de acordo com o processo de editoração.

MANUAIS:

Os manuais técnicos são produções realizadas como resultados de Instituições governamentais, do terceiro setor, estudos do segundo setor. Além disso, desenvolvidos nos Programas de Pós-graduação Stricto Sensu. Desta forma, eles já são aprovados pelos respectivos responsáveis institucionais.

Desta forma, cabe a nossa plataforma a viabilidade de indexar tais materiais, sendo suas respectivas aprovações de responsabilidade das instituições.

No entanto, caso o autor não esteja vinculado a nenhuma instituição, ou ainda, que não tenha um parecer técnico responsável. O procedimento de avaliação deverá seguir os mesmos da revista.

A taxa de APC deve ser orçada por e-mail (contato@nucleodoconhecimento.com.br) com a avaliação do material.

DEMAIS PRODUÇÕES TÉCNICAS E TECNOLÓGICAS:

Nossa base tecnológica está preparada para receber todas as demais produções técnicas ou tecnológicas que são produzidas pelos PPGS. Os materiais devem ser encaminhados por e-mail (contato@nucleodoconhecimento.com.br) para serem avaliados e, apresentados a respectiva taxa de APC.

PRODUÇÕES ARTÍSTICAS

Nossa base tecnológica está preparada para receber todas as demais produções artísticas que são produzidas pelos PPGS. Os materiais devem ser encaminhados por e-mail (contato@nucleodoconhecimento.com.br) para serem avaliados e, apresentados a respectiva taxa de APC.