



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES

ÉDIPO LUAN DE CARVALHO CAMINHA

ESTUDO DOS EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ÓLEO ESSENCIAL *LIPPIA*
***SIDOIDES* EM RATOS NORMOTENSOS**

FORTALEZA

2022

ÉDIPO LUAN DE CARVALHO CAMINHA

**ESTUDO DOS EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ÓLEO ESSENCIAL *LIPPIA*
SIDOIDES EM RATOS NORMOTENSOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós -
Graduação em Ciências Cardiovasculares do
Departamento de Fisiologia e Farmacologia da
Faculdade de Medicina da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Ciências Cardiovasculares.
Área de Concentração: Farmacologia
Cardiovascular.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo José Bezerra
Siqueira

Fortaleza

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C191e Caminha, Édipo Luan de Carvalho.
Estudo dos efeitos cardiovasculares do óleo essencial lippia sidoides em ratos normotensos / Édipo Luan de Carvalho Caminha. – 2022.
46 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Cardiovasculares, Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Rodrigo José Bezerra Siqueira.

1. Óleo essencial Lippia sidoides. 2. Efeitos cardiovasculares. 3. óleos essenciais. I. Título.

CDD 616.1

ÉDIPO LUAN DE CARVALHO CAMINHA

ESTUDO DOS EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ÓLEO ESSENCIAL *LIPPIA*
SIDOIDES EM RATOS NORMOTENSOS

Dissertação apresentada ao programa de Pós Graduação em Ciências Cardiovasculares do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Cardiovasculares.
Área de Concentração: Farmacologia Cardiovascular.

Aprovada em: / / .

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rodrigo José Bezerra Siqueira (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Richard Boarato David
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Moises Tolentino Bento da Silva
Universidade do Porto

Ao meu pai, Demerval Piauilino Caminha (*in
memoriam*).

A minha avó, Maria Valdenice Silva Carvalho
(*in memoriam*).

A minha mãe, Maria Eleni Mendes de
Carvalho Caminha

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, que tanto batalharam para prover educação e me ensinaram a valorizar cada conquista.

Ao meu Orientador Dr. Rodrigo José Bezerra de Siqueira por todos os ensinamentos, dedicação e momentos de descontração nas atividades em laboratório, todo esse apoio foi fundamental para desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular (LFC) Luziane, Sérgio, Santiago (já no final) pelo auxílio em diversos momentos na realização dos experimentos e do Programa de Pós – Graduação em Ciências Cardiovasculares (PPGCardio) agradeço pelas contribuições, sentirei falta das aulas com vários alunos, do conhecimento compartilhado e de momentos de risos e descontração que foram importantes para unir forças e finalizar esta pesquisa.

Aos meus amigos, João, Carlos, que contribuíram me auxiliando a entender melhor a estatística aplicada no trabalho. Aos que me acompanham, Maria Padilha, aos amigos de residência que sempre estão apoiando nossas decisões.

A FUNCAP, pelo incentivo à pesquisa e suporte financeiro oferecido durante o decorrer do curso.

A UFC, e aos funcionários de outros laboratórios do Centro de Biomedicina da UFC, aos funcionários da higienização do biotério e do centro de biomedicina, por terem me dado instrumentos que me possibilitaram chegar ao final desse ciclo.

*Para ver muita coisa é preciso despregar os olhos de si
mesmo - Friedrich Nietzsche*

RESUMO

A utilização de produtos de origem natural tem sido bastante difundida e pesquisada como auxílio no combate a algumas afecções. Essa utilização terapêutica é proveniente de práticas antigas na prevenção e cura de doenças a nível mundial. O óleo essencial *Lippia sidoides* (OELS) é uma substância oriunda do alecrim-pimenta, planta que pertence à família Verbenaceae, bem presente na região nordeste do Brasil, possui diversos compostos, em maior abundância o timol e o carvacrol, que demonstraram diversos efeitos sobre o sistema nervoso e combate a inflamações, nesse sentido o OELS é um composto que tem grande potencial de aplicação na área cardiovascular, especialmente como agente terapêutico no tratamento da vasoconstrição causada por diversos mecanismos hipertensivos. O objetivo do estudo foi estudar os efeitos cardiovasculares do óleo essencial *Lippia sidoides* em ratos normotensos. Foram utilizados ratos normotensos Wistar, cada série de experimentos foi realizada em 6 a 8 animais por grupo, e em 5 a 6 segmentos de tecidos isolados. Animais foram anestesiados e realizados experimentos com nervo vago intacto e após bivagotomia, foram realizados experimentos com tecidos isolados de aorta. O estudo mostrou que o OELS induziu hipotensão rápida e bradicardia significativa nos ratos anestesiados com e sem nervo vago intacto e com tratamento perineural. Foi possível identificar três momentos denominados P1 que se trata de uma fase resultante de um provável reflexo do nervo vago, e fase P2 que se tratava do efeito do OELS. Estudos sugerem que o óleo essencial *Lippia sidoides* pode exercer sua ação, mesmo com inibição neural pela vagotomia e pelo tratamento perineural, e que o período P2 é resultante de sua resposta cardiovascular. Conclui-se que, o óleo essencial *Lippia sidoides* foi capaz de reduzir a pressão arterial nesses animais, sugere-se mais estudos para análise do mesmo na presença de outros agentes farmacológicos para investigações de mais efeitos cardiovasculares.

Palavra-Chave: Óleo essencial *Lippia sidoides*. Efeito cardiovasculares. Óleos essenciais

ABSTRACT

The use of products of natural origin has been widespread and researched as an aid in the fight against some conditions. This therapeutic use comes from ancient practices in the prevention and cure of diseases worldwide. *Lippia sidoides* essential oil (OELS) is a substance derived from rosemary-pepper, a plant that belongs to the Verbenaceae family, well present in the northeast region of Brazil, has several compounds, in greater abundance thymol and carvacrol, which have shown several effects on the nervous system and fight inflammation, in this sense the OELS is a compound that has great potential for application in the cardiovascular area, especially as a therapeutic agent in the treatment of vasoconstriction caused by several hypertensive mechanisms. The purpose of the study was to study the cardiovascular effects of *lippia sidoides* essential oil in normotensive rats. Normotensive Wistar rats were used, each series of experiments was performed on 6 to 8 animals per group, and on 5 to 6 isolated tissue segments. Animals were anesthetized and experiments were performed with intact vagus nerve and after bivagotomy, experiments were performed with isolated aortic tissues. The study showed that OELS induced rapid hypotension and significant bradycardia in anesthetized rats with and without an intact vagus nerve and with perineural treatment. It was possible to identify three moments called P1, which is a phase resulting from a probable vagus nerve reflex, and phase P2, which was the effect of the OELS. Studies suggest that the essential oil *lippia sidoides* can exert its action, even with neural inhibition by vagotomy and perineural treatment, and that the P2 period is the result of its cardiovascular response. It is concluded that the essential oil *lippia sidoides* was able to reduce blood pressure in these animals, further studies are suggested to analyze it in the presence of other pharmacological agents for investigations of more cardiovascular effects.

Keywords: *Lippia sidoides* essential oil. Cardiovascular effects. Essential oil

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Relaxamento do músculo liso.....	19
Figura 2 – Síntese e liberação de óxido nítrico.....	20
Figura 3 - Efeito do OELS na frequência cardíaca e pressão arterial média.....	28
Figura 4 - Comparação da resposta da FC e PAM antes e após vagotomia bilateral.....	30
Figura 5 – Avaliação dos efeitos do OELS (1 – 1000 µg/mL) sobre o tônus basal de aorta de ratos.....	33
Figura 6 - Efeito vasculares do OELS (1 – 1000 µg/mL) em aorta isolada de rato pré-contraída com KCl (60 mM)	35
Figura 7 – Curvas concentração-efeito para OELS (1 – 1000 µg/mL) na reversão da contração induzida pela Fen (1 µM) em anéis de aorta isolada de rato.....	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Resposta do óleo essencial *lippia sidoides* na frequência cardíaca em ratos anestesiados.....26

Gráfico 2. Resposta do óleo essencial *lippia sidoides* na pressão arterial média em ratos anestesiados.....27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos cardiovasculares do óleo essencial <i>lippia sidoides</i> (OELS) em ratos anestesiados.....	25
Tabela 2. Comparação pré e pós bivaotomia do composto OELS na dosagem de 5 mg/kg.....	29
Tabela 3. Comparação da FC e PAM antes e após a administração do veículo Tween80.....	31
Tabela 4. Efeitos do OELS sobre a pressão arterial média e a frequência cardíaca na presença do tratamento perineural com capsaicina 250 µg/ml.....	31
Tabela 5. Comparação dos efeitos do OELS sobre a FC, PAM e TS antes e após o tratamento perineural com capsaicina 250 µg/ml.	32
Tabela 6. Efeitos cardiovasculares do OELS na presença da injeção i.v. de capsaicina 2 µg/ml.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OELS - O óleo essencial *Lippia sidoides*

GABAA - Ácido gama-aminobutírico

Ca²⁺ - Cálcio

KCl - Cloreto de potássio

PAM - Pressão arterial média

FC - Frequência cardíaca

NaCl - Cloreto de sódio

mM - Milimolar

MgCl₂ - Cloreto de magnésio

NaH₂PO₄ - Fosfato monossódico

NaHCO₃ -Bicarbonato de sódio

CaCl₂ - Cloreto de cálcio

ACh - Acetilcolina

μM – Micromolar

μg - Micrograma

FEN - Fenilefrina

mmHg - Milímetros de mercúrio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	O sistema nervoso autônomo e controle cardiovascular	16
1.2	Mecanismo de contração e relaxamento do músculo liso	18
2	OBJETIVOS	20
2.1	<i>Objetivo geral</i>	20
2.2	<i>Objetivos específicos</i>	20
3	MÉTODOS	21
3.1	Aspectos éticos	21
3.2	Animais	21
3.3	Procedimentos experimentais in vivo	21
3.3.1	Instrumentação para o registro da pressão arterial sistêmica e da frequência cardíaca	21
3.3.2	Procedimentos experimentais em ratos anestesiados	21
3.4	Procedimentos experimentais in vitro	22
3.4.1	Preparações isoladas para estudo de contratilidade	22
3.4.2	Protocolos experimentais em preparações vasculares isoladas	23
3.5	SOLUÇÕES E DROGAS	23
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
4	RESULTADOS	24
4.1	Efeitos cardiovasculares do óleo essencial <i>lippia sidoides</i> (OELS) em ratos anestesiados	24
4.2	Efeitos cardiovasculares do óleo essencial <i>lippia sidoides</i> (OELS) em ratos anestesiados bivagotomizados	29
4.3	Efeitos vasculares do óleo essencial <i>lippia sidoides</i> no tônus basal de aorta isolada de rato	33
4.4	Efeitos vasculares do óleo essencial <i>lippia sidoides</i> em contrações induzidas por KCl (60 mM) em aorta isolada de rato	34
4.5	Efeitos vasculares do óleo essencial <i>lippia sidoides</i> em contrações induzidas por Fenilefrina (Fen) (1 µM) em aorta isolada de rato	35
5	DISCUSSÃO	36
6	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos de origem natural tem sido bastante difundida e pesquisada como auxílio no combate a algumas afecções. Essa utilização terapêutica é proveniente de práticas antigas na prevenção e cura de doenças a nível mundial, bem como seu uso para finalidades culinárias, amenização de odores, o que, por fim, gerava contribuição para a qualidade de vida das pessoas. Apesar da finalidade terapêutica de plantas, assim com drogas sintéticas, cada uma dessas tem substâncias que se apresentam como corpo estranho ao organismo, e com potencial de gerar efeitos na fisiologia, o que poderia produzir ocultação de alterações patológicas, ou atenuação de danos. (FREITAS, et al., 2013; SANTOS, et al., 2018).

Substâncias naturais são compostos diversificados, e fazem parte de um grupo que ainda deve ser bem explorado no campo das ciências. O óleo essencial *lippia sidoides* (OELS) é uma substância oriunda do alecrim-pimenta, planta que pertence à família *Verbenaceae*, bem presente na região nordeste do Brasil. Por sua diversidade de substâncias já descritas, o óleo essencial possui atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-fúngica. No entanto, não há maiores estudos que demonstrem outras atividades farmacológicas além das descritas anteriormente. (MORAIS, et al., 2012; PEREIRA, et al., 2015; MOTA; DANTAS; FROTA, 2018). O mesmo foi descrito com potencial efeito tóxico no vetor do protozoário parasita *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de chagas. (FIGUEIREDO, et al., 2017).

O gênero *Lippia* possui 200 espécies que pertencem à família *Verbenaceae*, e, a *Lippia sidoides* também conhecida como alecrim-pimenta, faz parte do rol de espécies de plantas nativas no nordeste do país. Suas folhas e flores são as principais partes, onde são encontradas o óleo essencial com grande valor biológico. As 200 espécies de *Lippia*, podem ser plantas arbustivas, árvores pequenas ou herbáceas que se distribuem nas américas central e sul, mas com maior predominância no território Brasileiro sendo assim o maior local de diversidade com distribuição entre caatinga e cerrado. (GOMES et al, 2011).

Quanto sua constituição, o carvacrol, um dos principais compostos da *Lippia sidoides*, demonstrou potencial efeito ansiolítico e antinonceptivo em modelos de experimentação com animais. (FERNANDES, 2012). E, embora muitos estudos busquem isolar os ativos dessas ervas, normalmente o efeito fitoterápico ocorre com a sinergia dos compostos. Já é conhecido que, esses e outros produtos naturais possuem propriedades antioxidantes (MACIEL et al, 2009; COSTA, 2019).

Os efeitos do estresse oxidativo pode causar danos na membrana celular, e em outras estruturas, e morte celular. (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Com isso, a pesquisa de produtos naturais com propriedades antioxidantes, tem sido investigada no tratamento de injúria renal, e outras formas de terapia. (DA COSTA et al, 2015; SAMPAIO, et al, 2016; SANTOS; SILVA; PÁDUA, 2018). No entanto, não há nas literaturas informações sobre alterações cardiovasculares envolvendo essas propriedades antioxidantes e antiinflamatórias descritas no óleo essencial *lippia sidoides*, o que abre margem para mais estudos sobre suas ações farmacológicas.

Segundo Bianchini et al. (2017), o OELS possui diversos compostos, em maior abundância o timol e o carvacrol. O mesmo verificou a interação entre o timol e receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA) no sistema nervoso central, onde essa interação promovia depressão, sugerindo um mecanismo de ação anestésica. Já um estudo de Szentesi et al. (2004), apontou efeito de liberação aumentada de cálcio pelos canais de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, no músculo esquelético de ratos induzido pelo timol. A presença do carvacrol como constituinte do OELS tem sido estudada como potencial agente antimicrobiano, ressalta-se que as folhas de óleo essencial possuem diversidade em sua composição genética e varia de acordo com o local, região que são cultivadas. (GUIMARAES et al., 2014).

Peixoto-Neves et al. (2010), em estudo com tratamento com carvacrol em aorta isoladas de ratos pré-contraídas com fenilefrina ou cloreto de potássio (KCL), apontaram um relaxamento vascular independente da integridade endotelial. Além do músculo liso vascular, foi demonstrado que em baixas concentrações, o carvacrol relaxa contrações na musculatura traqueal, induzida por ação de potássio, apontando sua potencialidade como ferramenta terapêutica. (PEIXOTO-NEVES et al., 2010; BOSKABADY; JAFARI; POURABOLI, 2011). Produtos naturais que possuem essa substância em maior composição, também apresentaram efeito analgésico em modelos experimentais. (CHIU et al., 2012).

Segundo Fernandes (2012), o timol, um dos principais constituintes do OELS, além de resultados já demonstrados sobre efeito antimicrobiano, foram apresentados com atividade anticolinesterase e efeitos anti-inflamatórios quando aliviaram problemas de cognição em ratos, causados por aumento nos níveis de beta-amiloide. Também foi capaz de apresentar efeitos ansiolíticos, relacionados ao sistema gabaérgico e antidepressivos com os sistemas serotoninérgico, noradrenérgico. Gholami-Ahangaran et al. (2022), relatou presença de efeitos protetores para o sistema cardiovascular em seus estudos com animais.

O óleo essencial *lippia sidoides* (OELS) é um composto que tem grande potencial de aplicação na área cardiovascular, especialmente como agente terapêutico no tratamento da vasoconstrição causada por diversos mecanismos hipertensivos, ou vasoespasmódicos. Entretanto, ainda não há maiores estudos referentes aos efeitos diretos cardiovasculares do OELS e substâncias quimicamente correlatas administradas por via sistêmica, assim como dados sobre os efeitos locais desse óleo em órgãos como coração e os vasos sanguíneos. Após nossos estudos iniciais, será possível ainda vislumbrar possíveis modificações moleculares no OELS e compostos correlatos, no intuito de modificar e amplificar seus efeitos biológicos.

1.1 O sistema nervoso autônomo e controle cardiovascular.

O sistema nervoso autônomo é o responsável pela regulação de diversas funções no organismo, majoritariamente as funções viscerais, sendo dividido em sistema nervoso simpático, que dentre suas principais ações estão listadas, o aumento da frequência cardíaca e pressão arterial, broncodilatação, vasoconstrição de vasos na pele e órgãos como trato gastrointestinal, aumento da resistência vascular periférica dentre outros. Essas funções são ativadas devido vários reflexos que percorrem os nervos até seus órgãos efetores. A ativação do sistema simpático ocorre por meio de interação entre os gânglios e órgãos alvo através de suas fibras, como pela secreção de suas catecolaminas como a noradrenalina e adrenalina através da medula da glândula suprarrenal. (AIRES, 2015; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2007).

Já o sistema nervoso parassimpático, é conhecido devido a promoção do estado de manutenção e restauração, suas principais ações são: redução da frequência cardíaca, da força de contração cardíaca, vasodilatação mediada pela liberação do óxido nítrico no endotélio, redução do metabolismo e outras. No coração o controle parassimpático é promovido pelo nervo vago, diretamente ligado ao nódulo sinusal e atrioventricular, onde há controle da frequência cardíaca. (GUYTON; HALL, 2017).

Esse controle é mediado pelos nervos eferentes vagais, quando ocorre o aumento da pressão arterial, há uma distensão das paredes nos vasos que ativam os barorreceptores e geram sinais que são levados ao núcleo do trato solitário a nível central, a partir desses, os neurônios geram excitação de neurônios pré-ganglionares (núcleo ambíguo por exemplo), que se comunicam com os neurônios pós-ganglionares cardíacos causando na redução da frequência cardíaca. (WEHRWEIN; ORER; BARMAN, 2016; GUYTON; HALL, 2017).

Os nervos parassimpáticos se originam no tronco encefálico, medula sacral e craniossacral, sendo que o principal mediador de suas respostas é o nervo vago. Quanto a sinapse ganglionar por onde trafega o impulso nervoso, a acetilcolina é o neurotransmissor atuante e opera em receptores nicotínicos, já na sinapse pós ganglionar, atua em receptores muscarínicos no órgão alvo, a exemplo do coração, localizados no nó sinusal e atrioventricular. (BEAR; CONNORS; PARADISO, 2007; GUYTON; HALL, 2017).

Apesar de maior parte dos efeitos do sistema nervoso autônomo serem mediadas pela noradrenalina e acetilcolina, há liberação de outros neurotransmissores nas terminações pós ganglionares simpáticas ou parassimpáticas que interferem em suas ações aumentando ou reduzindo as mesmas, podendo realizar modificações principalmente no sistema cardiovascular. (DE ANGELIS; SOUSA; IRIGOYEN, 2004).

O sistema cardiovascular é dotado de reações necessárias à manutenção de suas funções, como exemplo o controle da pressão arterial que é de grande importância para um bom fornecimento de fluxo sanguíneo para os tecidos, o controle reflexo da pressão arterial vem sendo estudado durante anos, e os resultados abrem margem para diversas pesquisas nas ciências biomédicas, essa regulação da pressão arterial é uma das mais complexas, e envolve alguns fatores integradores do sistema cardiovascular. Esse controle é realizado através de sinalizações por vias hormonais, neural, sendo que esse último é realizado diante de alguns reflexos que podem detectar e corrigir mudanças na pressão arterial e no volume circulante. (MEDEIROS, 2007; CAMPAGNOLE-SANTOS; HAIBARA, 2001).

O controle do sistema cardiovascular por reflexo, também depende de receptores cardiopulmonares, que se localizam em diferentes áreas torácicas, como átrios, ventrículos, vasos pulmonares. A presença desses receptores capazes de atuar no coração já é conhecida há mais de 100 anos, onde foi observado que, injeções de alcalóides por via intravenosa em cães, deflagrava uma redução na pressão arterial e frequência cardíaca, respostas essas que poderiam ser inibidas através da bivagotomia. (AVIADO; AVIADO, 2001).

Quanto suas vias, a aferente é regulada pelo nervo vago e a eferente, determinada por uma inibição do sistema nervoso simpático para os vasos, bem como uma estimulação do nervo vago para o coração. Algumas substâncias são capazes de deflagrar esses efeitos hemodinâmicos, e esse reflexo que ocorre envolve uma redução da atuação simpática e atuação do vago sobre o coração, no nó sinusal, ocasionando em bradicardia e hipotensão, recebeu o nome de Bezold-Jarish. (ROCHA, 2019; AVIADO; AVIADO, 2001; MEDEIROS, 2007).

1.2 Mecanismo de contração e relaxamento do músculo liso

O músculo liso vascular tem sido bastante estudado como modelo experimental para utilização de substâncias naturais, diante de suas funções como manutenção do tônus vascular, que desempenha papel importante na regulação da pressão arterial através de processos de contração e relaxamento muscular. No entanto, esse tônus pode ser alterado por fatores externos e patológicos como aterosclerose, sendo assim, o músculo liso possui grande importância na área das ciências básicas com finalidade de desenvolvimento de várias substâncias (SEIDELMANN; LIGHTHOUSE; GREIF, 2014).

Nos estudos sobre reatividade do músculo liso, sabe-se que a participação do íon Ca^{++} é um dos determinantes nos processos contráteis, devido desencadear eventos no interior das células que gerem efeitos. Inicialmente, a contração é estimulada pelo aumento intracelular dos íons cálcio, podendo ser gerada através de estimulação nervosa, hormonal por exemplo. Diferente do músculo esquelético, onde a proteína reguladora é a troponina, no músculo liso é a calmodulina, e apesar de similar à troponina, a calmodulina inicia o processo ativando pontes cruzadas de miosina. Quando há um aumento do Ca^{++} no citosol, a partir do líquido extracelular, ou outros mecanismos, o mesmo se liga à calmodulina, em seguida unem-se à miosina, ativando a miosina-quinase, uma enzima fosforilativa. Uma das cadeias da cabeça de miosina, é fosforilada em resposta à essa enzima, a cabeça torna-se capaz de ligar-se com o filamento de actina, provocando a contração muscular. (SILVA, 2018; GUYTON; HALL, 2017; AIRES, 2015; BERNE E LEVY, 2009).

De forma oposta à contração muscular lisa, o relaxamento muscular liso ocorre quando há um decréscimo da concentração de íons cálcio, a bomba de cálcio transporta para fora da célula os íons, ou para dentro do retículo sarcoplasmático. Dessa forma, ocorre a remoção do estímulo para a contratilidade, onde o Ca^{++} é liberado, e a miosina fosfatase, uma enzima promove a remoção do fosfato da cadeia de miosina, o que por fim geral o descolamento da cabeça da miosina do filamento de actina e assim, relaxando o músculo liso. Ou por ação de alguma substância que inibe esse mecanismo. como exemplo do que ocorre no mecanismo farmacomecânico, onde ocorre abertura de canais de potássio (K^+) o que provoca o aumento do efluxo desse íon da célula, e resulta em uma hiperpolarização. Podendo ser causado por algumas drogas. (AIRES, 2015; GUYTON; HALL, 2017; SILVERTHORN, 2016; KIZUB et al., 2010, SILVA, 2018; SOMLYO; SOMLYO, 1994).

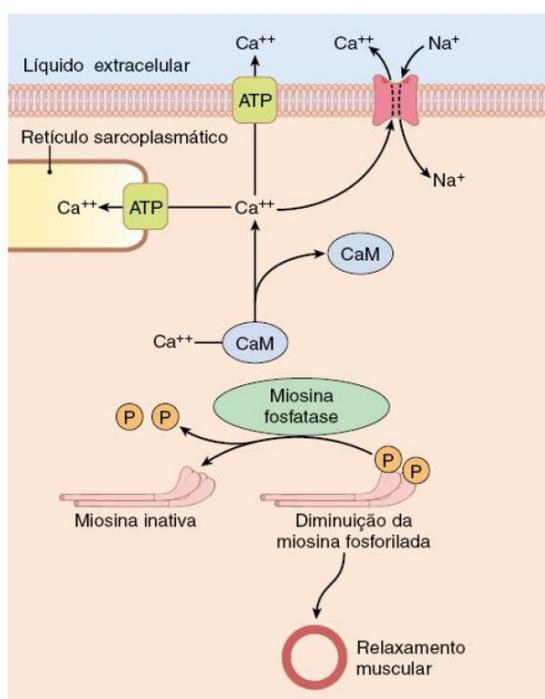
Algumas substâncias são importantes no controle contrátil do muscular liso, e o endotélio

vascular, tem papel importante na regulação do tônus do vaso, sendo um sensor de estímulos e alterações na hemodinâmica, esse controle é feito pela produção de agentes vasodilatadores e vasoconstrictores, como óxido nítrico (NO), prostaglandinas, endotelina. O endotélio em contato direto com o fluxo sanguíneo, detecta diante de estímulos mecânicos e hormonais alterações e são estimulados na produção e secreção dessas substâncias vasodilatadoras e inflamatórias, e além desses mecanismos, desempenha papel em processos como equilíbrio de líquidos e angiogênese (LEDOUX et al., 2006; YASUNAGA et al., 2014; ZAGO; ZANESCO, 2006).

O óxido nítrico é um radical livre que anteriormente era considerado potencialmente cancerígeno, apenas após início da década de 1980, descrito por Furchgott & Zawadzki em seus experimentos com aorta de coelho, uma de suas funções, como o fator de relaxamento vascular derivado do endotélio, constituindo-se com um dos principais mediadores de processos fisiológicos nos meios interno e extracelulares. O mesmo é sintetizado através do endotélio nos vasos e inicia o relaxamento da musculatura lisa dos vasos, regulando seu diâmetro. (QUEIROZ; BATISTA, 1999; SILVERTHORN, 2016).

A figura 1 retrata os mecanismos intracelulares envolvidos no relaxamento do músculo liso.

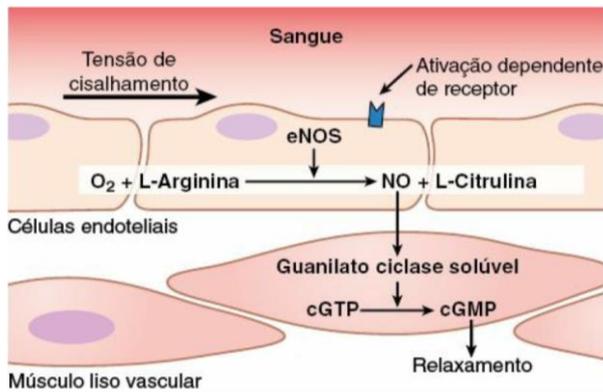
Figura 1 – Relaxamento do músculo liso



Fonte: Guyton & Hall, 2017.

A figura 2 retrata o mecanismo envolvido na liberação do óxido nítrico.

Figura 2 – Síntese e liberação de óxido nítrico



Fonte: Guyton & Hall, 2017.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos cardiovasculares do óleo essencial *lippia sidoides* em ratos normotensos.

2.2 Objetivos específicos

Estudar os efeitos da administração intravenosa (i.v.) do óleo essencial *lippia sidoides* sobre a PAM e a FC em ratos anestesiados intactos e bivagotomizados.

Investigar o papel do sistema nervoso autônomo na mediação dos efeitos cardiovasculares do óleo essencial *lippia sidoides* sobre a PAM e a FC em ratos anestesiados.

Investigar o papel do sistema nervoso autônomo através do bloqueio perineural na mediação dos efeitos cardiovasculares do óleo essencial *lippia sidoides* sobre a PAM e a FC em

ratos anestesiados.

Estudar os efeitos do óleo essencial *lippia sidoides* em preparações vasculares isoladas de aorta de ratos.

3 MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

Todos os protocolos experimentais no presente projeto com utilização de animais de laboratório foram submetidos à apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará e seguiram as recomendações do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).

3.2 Animais

Foram utilizados ratos normotensos Wistar (com peso entre 300 a 400 g), provenientes do Biotério Setorial da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram divididos em grupos de 6 por gaiola, e mantidos durante uma semana no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia em períodos de claro/escuro de 12 horas para ambientação e aclimação. Aos animais foram fornecidas água e ração ad libitum. Cada série de experimentos foi realizada em 6 a 8 animais por grupo, e em 5 a 6 segmentos de anéis de aorta isolada.

3.3 Procedimentos experimentais “in vivo”

3.3.1 Instrumentação para o registro da pressão arterial sistêmica e da frequência cardíaca

Animais foram anestesiados com quetamina/xilazina (80/10 mg/kg, i.p.) para permitir o implante cirúrgico de cateteres de polietileno (PE-10 conectado a PE-50) na artéria e na veia femoral. O cateter aórtico foi conectado a um transdutor de pressão (Statham P23 DI), previamente calibrado em mmHg, acoplado a um sistema de aquisição de dados Power Lab - ADInstruments™ para a medida das pressões arteriais sistólica (PAS) e diastólica (PAD). A

PAM de base foi calculada através da fórmula: $PAD + [(PAS - PAD)/3]$ (em mmHg) diretamente pelo software Labchart.

3.3.2 Procedimentos experimentais em ratos anestesiados

Os experimentos em ratos anestesiados foram realizados no dia do implante cirúrgico dos cateteres. Animais previamente instrumentados com cateteres, foram anestesiados com quetamina/xilazina (80/10 mg/kg, i.p.) e foi realizada uma traqueostomia que permitiu a conexão dos animais a uma bomba ventilatória para adequar as demandas respiratórias. Em seguida, foram isolados os nervos vagos bilateralmente em nível cervical. Nesses animais, a temperatura foi mantida sempre em 37°C com o auxílio de uma mesa termostática. Nessas condições experimentais foram realizadas três séries de experimentos:

Série 1. Relação dose-efeito após administração intravenosa do óleo essencial *lippia sidoides* em animais anestesiados intactos (n=6). Após um período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares na vigência da anestesia, o óleo essencial foi administrado por via endovenosa para construção de uma curva dose-efeito nas doses (1, 5, 10 mg/kg).

Série 2. Relação dose-efeito após administração intravenosa do óleo essencial *lippia sidoides* em animais anestesiados bivagotomizados (n=6). Com o objetivo de estudar o papel do nervo vago na mediação dos efeitos cardiovasculares do óleo essencial, após um período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares em animais anestesiados. Os nervos vagos foram seccionados bilateralmente e houve registro um novo período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares de 20 minutos. Em seguida, o óleo essencial foi administrado por via endovenosa para construção de uma curva dose-efeito na dose de 5 mg/kg). Para representação dos resultados, foi utilizada essa dose de 5 mg/kg do OELS devido sua melhor representação gráfica e ação farmacológica mais adequada no perfil de resposta cardiovascular.

Série 3. Relação dose-efeito após administração intravenosa do óleo essencial *lippia sidoides* em animais anestesiados durante tratamento perineural (n=4). Com o objetivo de estudar o papel do nervo vago na mediação dos efeitos cardiovasculares do óleo essencial, após um período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares em animais anestesiados. Os nervos vagos foram envolvidos bilateralmente com algodão embebido da solução com capsaicina a 250µg/ml e houve registro um novo período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares de 20 minutos. Em seguida, o óleo essencial foi administrado por via endovenosa para construção de uma curva dose-efeito (5 mg/kg). Pela ação farmacológica supracitada, a dose de 5 mg/kg foi utilizada nessa série, onde pode-se verificar uma resposta ideal nesses parâmetros

cardiovasculares. Posteriormente, como controle positivo, foi administrado por via intravenosa a capsaicina na concentração de 2µg/ml.

3.4 Procedimentos experimentais “in vitro”

3.4.1 Preparações isoladas para estudo de contratilidade

Os animais foram anestesiados com os anestésicos (quetamina/xilazina, 80/10 mg/kg, i.p. respectivamente) e a artéria aorta torácica, foi cuidadosamente dissecada e imersa em meio contendo solução Krebs-Henseleit normal modificada (NaCl 136mM, KCl 5mM, MgCl₂ 0,98mM, NaH₂PO₄ 0,36mM, NaHCO₃ 11,9mM, CaCl₂ 2mM e Glicose 5,5mM). A artéria aorta torácica foi dissecada e cortada em segmentos no formato de anéis. Os anéis de aorta foram atados a um ponto fixo na câmara e a uma unidade transdutora de força (ML870B60/C-V, AD Instruments, Sydney, Australia) apropriada para registro isométrico das contrações. A tensão basal aplicada ao tecido foi de 1 Gf (grama força). Os sinais gerados pelo transdutor de força foram condicionados e registrados em um sistema de aquisição computadorizado (PowerLab™ 8/30, AD Instruments). A integridade do endotélio das preparações vasculares de aorta foi avaliada após a adição de acetilcolina (ACh; 1 µM) em anéis previamente contraídos com fenilefrina (FEN; 0,1 µM). Um efeito relaxante induzido pela ACh igual ou superior a 80% foi admitido como indicativo de integridade do endotélio.

3.4.2 Protocolos experimentais em preparações vasculares isoladas

Série 1. Curva concentração-efeito para o óleo essencial *lippia sidoides* (OELS) em preparações isoladas de aorta pré-contraídas pelo mecanismo eletromecânico. (n=3; 3 anéis vasculares por animal). Essa série foi realizada para avaliar a potência vasodilatadora após exposição aguda de preparações vasculares de artéria aorta a concentrações crescentes (1 a 1000 µl) do óleo essencial (ou seu veículo). Preparações vasculares isoladas de aorta foram expostas ao KCl (60 mM) para induzir uma contração sustentada através do mecanismo eletromecânico (Somlyo & Somlyo, 1994). Após o estabelecimento de uma fase estável (componente tônico) na pré-contração induzida por KCl, o OELS ou o seu veículo foram adicionados de maneira cumulativa.

Série 2. Curva concentração-efeito para o óleo essencial *lippia sidoides* em preparações isoladas de aorta pré-contraídas pelo mecanismo farmacomecânico. (n=3; 3 anéis vasculares por

animal). Essa série experimental foi realizada para avaliar a potência vasodilatadora após exposição aguda de preparações vasculares de artéria aorta a concentrações crescentes (1 a 1000 µl) do OELS (ou seu veículo). Preparações vasculares isoladas de aorta foram expostas à fenilefrina (FEN; 1 µM) para induzir uma contração sustentada através do mecanismo farmacomecânico (Somlyo & Somlyo, 1994). Após o estabelecimento de uma fase estável (componente tônico) na pré-contração induzida por FEN (1 µM), o OELS ou o seu veículo foram adicionados de maneira cumulativa.

3.5 Soluções e drogas

Foram utilizados reagentes de grau analítico para preparar as soluções estoques e a solução para os experimentos. Todas as drogas utilizadas neste projeto foram adquiridas dos laboratórios Sigma-Aldrich e Tocris Bioscience. Tais drogas foram preparadas em soluções estoques concentrados seguindo as recomendações de diluição do laboratório fornecedor, e adicionalmente diluídas para a concentração necessária para o protocolo experimental.

3.6 Análise estatística

Todos os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM, n = 6-8 por grupo). A significância ($P < 0,05$) dos resultados foi determinada pelo uso de testes t de Student (pareado ou não pareado), U de Mann-Whitney (para dados não-paramétricos) e análise de variância a uma via (concentrações, doses ou grupos) ou duas vias (tratamento x doses ou tratamento x concentrações). Alguns testes estatísticos foram seguidos de pós-testes (Holm-Sidak ou Dunnet) para a adequada comparação entre as médias.

4 RESULTADOS

4.1 Efeitos cardiovasculares do óleo essencial *lippia sidoides* (OELS) em ratos anestesiados

Os valores médios dos níveis basal da pressão arterial média (PAM), e frequência cardíaca (FC) em batimentos por minuto (bpm) em ratos anestesiados foram 217,9 mmHg e 229,1 batimentos/min (n=6), respectivamente antes das primeiras injeções intravenosas de OELS na dose de 1 mg/kg. Essas injeções intravenosas de 1 mg/kg do OELS nos 6 animais causaram uma queda nesses parâmetros da PAM e FC, respectivamente nessa primeira dose. Quando foi injetado o OELS nas doses de 5 e 10 mg/kg, a resposta observada foi de

hipotensão e bradicardia, sendo possível identificar três fases na resposta de forma aguda. Na dose de 5 mg/kg foi identificado um efeito inicial renomeado como P1 que demonstra uma rápida queda na PAM e FC conforme valores 98,46 mmHg e 77,90 bpm em P1 respectivamente. O tempo médio de ação do composto, apresentado em segundos (TS) variou de acordo com o período (P) e a dose administrada. Na dose inicial de 1 mg/kg, em P1 foi observado uma média de menos que 1 segundo, chegando até 0,12 segundos em P3. Foi possível identificar um atraso maior nas últimas doses de 5 e 10 mg/kg em P3, o que aponta para um período maior em relação ao primeiro contato com o composto. ($p < 0,05$, ANOVA).

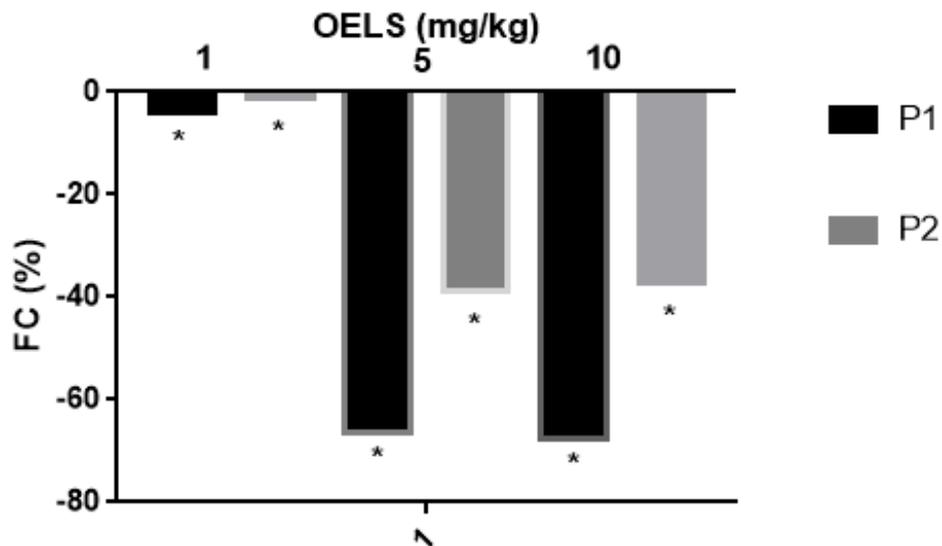
Tabela 1. Efeitos cardiovasculares do óleo essencial *lippia sidoides* (OELS) em ratos anestesiados.

	Basal	P1	P2	P3	Valor p
1 mg/kg					
FC	229.10 (± 67.61)	219.74 (± 71.76)	225.94 (± 65.36)	231.24 (± 62.64)	< 0.05*
PAM	217.89 (± 33.70)	167.75 (± 49.37)	199.24 (± 38.33)	226.40 (± 26.52)	< 0.05*
TS	-	0.01 (± 0.01)	0.10 (± 0.02)	0.12 (± 0.03)	< 0.05*
5 mg/kg					
FC	231.25 (± 53.48)	77.90 (± 37.14)	141.78 (± 35.86)	192.34 (± 46.78)	< 0.05*
PAM	221.51 (± 22.25)	98.46 (± 32.85)	126.69 (± 40.10)	215.64 (± 19.82)	< 0.05*
TS	-	0.01 (± 0.00)	0.17 (± 0.02)	0.24 (± 0.06)	< 0.05*
10 mg/kg					
FC	190.40 (± 54.92)	61.35 (± 19.47)	119.76 (± 35.93)	139.79 (± 55.24)	< 0.05*
PAM	232.20 (± 40.28)	91.66 (± 28.24)	233.85 (± 80.31)	147.22 (± 72.12)	< 0.05*
TS	-	0.01 (± 0.00)	0.23 (± 0.04)	0.31 (± 0.05)	< 0.05*

Ao executar one-way ANOVA para medidas repetidas em uma amostra de 6 ratos wistar normotensos para determinar se havia diferenças nas variáveis FC, PAM e TS devido a um tratamento com OELS de 1, 5 e 10 mg/kg em 3 momentos no tempo. Os resultados mostraram que o mesmo provocou diferenças estatisticamente significativas na FC, PAM e TS média ao longo de seu curso temporal, $F(2, 18) = 26,94$, $*p < 0,05$.

O gráfico 1 representa os resultados das médias de frequência cardíaca em valores percentuais realizados em animais anestesiados diante da injeção intravenosa do óleo essencial *lippia sidoides* nas doses de 1,5,10 mg/kg. As injeções intravenosas de 1 mg/kg do OELS nos 6 animais causaram uma redução de 23,01% e 4,08% nos valores da PAM e FC, respectivamente nessa primeira dose (gráfico 1 e 2).

Gráfico 1: Resposta do óleo essencial *lippia sidoides* na frequência cardíaca em ratos anestesiados.



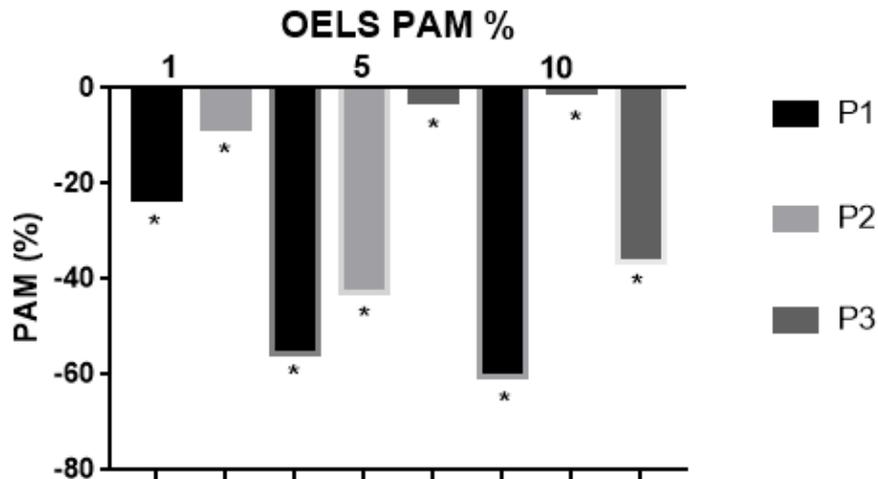
Fonte: elaborada pelo autor, 2022.

O gráfico representa os efeitos do OELS (1, 5, 10 mg/kg) sobre a frequência cardíaca em ratos anestesiados. O mesmo apresentou resposta bifásica na FC, P1, resposta referente a primeira fase em cada dose. P2, resposta referente a segunda fase em cada dose. *, indicam que as respostas atingiram valores significativos em relação aos valores basais de FC registrados antes da administração do OELS.

A dose de 5 mg/kg provocou queda de mais 42,8% e 38,68% na PAM e FC. o período P2 e um breve período de recuperação admitido como P3 com valores de PAM e FC 2,64% e 16,82% respectivamente.

O gráfico 2 representa os resultados das médias de pressão arterial média em valores percentuais realizados em animais anestesiados diante da injeção intravenosa do óleo essencial *lippia sidoides* nas doses de 1,5,10 mg/kg.

Gráfico 2: Resposta do óleo essencial *lippia sidoides* na pressão arterial média em ratos anestesiados.

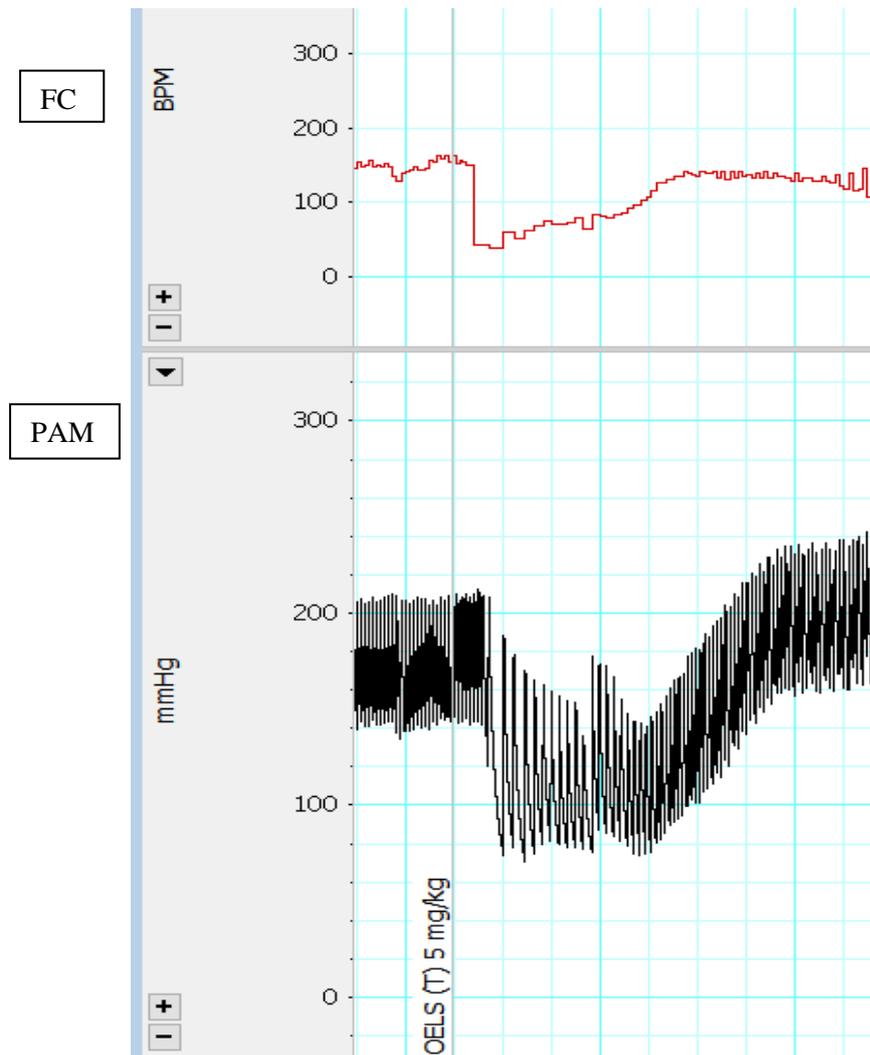


Fonte: elaborada pelo autor, 2022.

O gráfico demonstra os efeitos do OELS (1, 5, 10 mg/kg) sobre a PAM em ratos anestesiados. O mesmo apresentou resposta trifásica, onde P1, é a resposta referente à primeira fase em cada dose. P2, resposta referente a segunda fase em cada dose, P3 refere-se à fase de recuperação. *, indicam que os valores atingiram respostas significativas em relação aos valores basais de PAM registrados antes da administração do OELS.

A figura 3 representa os resultados dos traçados de frequência cardíaca e pressão arterial média realizados no sistema powerlab para confecção das curvas de dose-resposta à injeção intravenosa do óleo essencial *lippia sidoides* na dose de 5 mg/kg. Os traçados seguem com escala de milímetros de mercúrio para pressão arterial e batimentos por minuto para frequência cardíaca.

Figura 3 - Efeito do OELS na frequência cardíaca e pressão arterial média.



Fonte: elaborada pelo autor, 2022.

Nessa mesma dose de 5 mg/kg segue-se com uma queda na PAM e FC admitido como P2 e um breve período de recuperação admitido como P3. Nas respostas à administração do OELS na dose de 10 mg/kg também mostram três fases, sendo uma rápida queda nos parâmetros, seguida de uma breve recuperação e nova queda nos mesmos com um período maior para recuperação, nesse momento das injeções a PAM foi reduzida significativamente em P1 com manutenção da hipotensão em P2, e novo declínio ocorreu no momento P3 respectivamente. A FC seguiu mesmo percurso com uma resposta bradicárdica inicial para 61,35 bpm em P1, 119,76 bpm em P2 e manutenção de baixa FC em P3 com valor bruto de 119,79 bpm.

4.2 Efeitos cardiovasculares do óleo essencial *lippia sidoides* (OELS) em ratos anestesiados bivagotomizados

Os valores basais brutos da PAM e FC pré-bivagotomia foram caracterizados por hipotensão significativa e bradicardia em ratos (n=6) mostrando queda da PA para 73,37 mmHg e 77,78 bpm em P1, e 107,66 mmHg e 116,22 bpm em P2, efeitos que resultam de uma queda aguda desses parâmetros, em um período de tempo em segundos (TS), seguido por breve recuperação e uma posterior manutenção de hipotensão e bradicardia como mostra no período P3 com valores de PAM e FC 129,90 mmHg e 125,66 bpm respectivamente. Nos momentos de pós-bivagotomia em ratos anestesiados, admitiram-se dois momentos apenas de resposta devido forte declínio nesses parâmetros hemodinâmicos, mas com maior significância na frequência cardíaca, os valores de PAM foram de 83,39 mmHg e 108,01 mmHg em P1 e P2 respectivamente, e, 109,71 bpm e 64,79 bpm na frequência cardíaca em ambos períodos de resposta.

Tabela 2. Comparação pré e pós bivagotomia do composto OELS na dosagem de 5 mg/kg.

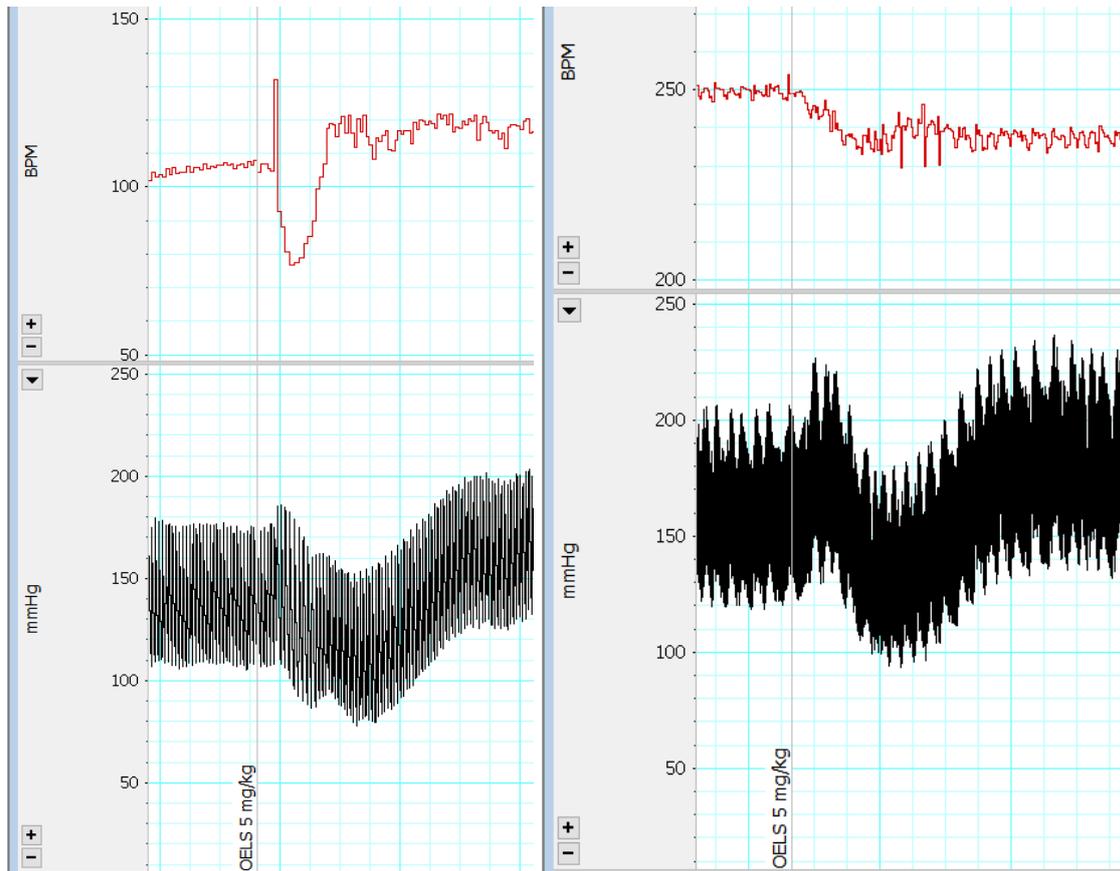
	Basal	P1	P2	P3	Valor p*
Pré-bivagotomia					
FC	128.49 (±19.35)	77.78 (±35.62)	116.22 (±81.31)	125.66 (±83.94)	0.262
PAM	113.53 (±22.40)	73.37 (±23.88)	107.66 (±43.29)	129.90 (±44.34)	0.014*
TS	-	0.00 (± 0.00)	0.11 (±0.02)	0.31 (±0.03)	< 0.005*
Pós-bivagotomia					
FC	129.45 (±81.43)	109.71 (±67.44)	64.79 (±86.92)	194.37 (±71.83)	0.014*
PAM	107.78 (±42.38)	83.39 (±15.37)	108.01 (±69.97)	103.80 (±36.77)	0.512
TS	-	0.01 (±0.00)	0.13 (±0.04)	0.31 (± 0.07)	< 0.005*

*ANOVA para medidas repetidas em uma amostra de 6 ratos wistar normotensos para determinar se havia diferenças nas variáveis FC, PAM e TS devido a um tratamento com OELS de 5 mg/kg em 4 momentos no tempo. * <0,05.

A injeção intravenosa de OELS após secção do nervo vago bilateral em ratos anestesiados (n=6), mostrou retardo nas quedas iniciais dos parâmetros hemodinâmicos observados em P1, o que se pode entender o efeito inicial como uma resposta vasovagal, seguido da manutenção desse declínio. Foi possível identificar uma significância na variável tempo de ação em segundos (TS) em P1.

A figura 4 retrata o traçado adquirido do sistema computadorizado powerlab para os parâmetros hemodinâmicos: frequência cardíaca e pressão arterial média antes da bivagotomia com animais anestesiados e após a bivagotomia nesses mesmos animais (n=6).

Figura 4 - Comparação da resposta da FC e PAM antes e após vagotomia bilateral.



Fonte: elaborada pelo autor, 2022.

Os valores brutos médios desses parâmetros são demonstrados também durante a injeção em ratos anestesiados (n=6) do veículo Tween80 utilizado na diluição do OELS. Fora utilizadas doses de 1 mg, 5 e 10 mg intervaladas durante a experimentação, a média para dose de 1 mg nos valores de PAM e FC foram 106,93 mmHg e 126,84 bpm, seguidos de 100,27 mmHg e 128,16 bpm na dosagem de 5 mg do veículo, e 101,28 mmHg para PAM e 125,59 para FC respectivamente. Apontando uma não significância nessas variáveis. (tabela 3).

Tabela 3. Comparação da FC e PAM antes e após a administração do veículo Tween80.

Veículo Tween80	Basal	T1	Valor p*
1 mg/kg			
FC	136.50 (\pm 22.21)	126.84 (\pm 19.84)	0.114
PAM	106.48 (\pm 33.70)	106.93 (\pm 20.25)	0.199
TS	-	0.01 (\pm 0.00) ^a	
5 mg/kg			
FC	135.13 (\pm 28.84)	128.16 (\pm 32.58)	0.306
PAM	101.07 (\pm 22.87)	100.27 (\pm 20.75)	0.251
TS	-	0.01 (\pm 0.00) ^a	
10 mg/kg			
FC	146.64 (\pm 44.81)	125.59 (\pm 21.57)	0.080
PAM	102.89 (\pm 25.02)	101.28 (\pm 25.21)	0.125
TS	-	0.01 (\pm 0.00) ^a	

*Teste t de *Student* para amostras pareadas; ^aNão houve diferença significativa entre o tempo(s) de ação do veículo Tween80 nas diferentes doses administradas. * $<$ 0,05.

Nos testes realizados na presença do tratamento perineural realizados em ratos wistar (n=4) com capsaicina 250 μ g/ml, o OELS causou um efeito bradicárdico mais significativo sobre a FC em P1 antes do tratamento perineural (p $<$ 0.05 Tabela 4.), ocorrendo recuperação para valores próximos do basal a partir de P3. Foi possível verificar que o mesmo apresentou comportamento diferente na presença do tratamento perineural, onde ocorreu uma resposta hipotensiva com maior significância em P1 e P2, o que aponta para uma inibição da resposta vagal durante o tratamento perineural em P1 sobre a FC, porém sem alterar a reatividade vascular ao OELS. (Tabela 4.)

Tabela 4. Efeitos do OELS sobre a pressão arterial média e a frequência cardíaca na presença do tratamento perineural com capsaicina 250 μ g/ml.

	Basal	P1	P2	P3	Valor p*
Pré-capsaicina					
FC	298.73 (\pm 42.33)	74.06 (\pm 41.75)	187.92 (\pm 69.59)	239.51 (\pm 52.33)	$<$ 0.001*
PAM	98.67 (\pm 27.13)	64.90 (\pm 29.77)	66.73 (\pm 15.31)	81.55 (\pm 9.97)	0.166
TS	-	0.07 (\pm 0.08)	0.32 (\pm 0.22)	0.19 (\pm 0.04)	0.014*
Pós-capsaicina					

FC	268.98 (\pm 73.31)	218.68 (\pm 93.08)	208.52 (\pm 79.58)	239.51 (\pm 52.33)	0.717
PAM	100.75 (\pm 11.25)	73.41 (\pm 9.81)	63.15 (\pm 3.19)	81.55 (\pm 9.97)	<0.001*
TS	-	0.15 (\pm 0.15)	0.50 (\pm 0.21)	0.19 (\pm 0.04)	<0.01*

* Anova one-way com comparação múltipla de Sidak. * <0,05.

Ratos wistar submetidos a um tratamento perineural com capsaicina (valores basais médios de 298,73 batimentos por minuto e 98,67 mmHg, respectivamente; n= 4) não apresentou fase P1 em resposta a 5 mg/kg de OELS. Assim, a resposta bradicárdica e hipotensiva observadas foram compatíveis com um momento seguinte denominado P2. No entanto, a hipotensão observada em P1 induzida por OELS foi mais significativa nesse grupo após tratamento com capsaicina ainda que a frequência cardíaca tenha sido pouco alterada.

Na comparação dos efeitos hemodinâmicos sobre a frequência cardíaca e pressão arterial média, durante o tratamento perineural, a atividade do OELS mostrou-se mais significativa na FC durante o período de resposta aguda, onde apresenta uma bradicardia e uma hipotensão. (p<0.05 Tabela 5.)

Tabela 5. Comparação dos efeitos do OELS sobre a FC, PAM e TS antes e após o tratamento perineural com capsaicina 250 µg/ml.

OELS	Pré-capsaicina	Pós-capsaicina	Valor p*
Basal			
FC	298.73 (\pm 42.33)	268.98 (\pm 73.31)	0.184
PAM	98.67 (\pm 27.13)	100.75 (\pm 11.25)	0.453
TS	-	-	-
P1			
FC	74.06 (\pm 41.75)	218.68 (\pm 93.08)	0.015*
PAM	64.90 (\pm 29.77)	73.41 (\pm 9.81)	0.317
TS	0.07 (\pm 0.08)	0.15 (\pm 0.15)	0.168
P2			
FC	187.92 (\pm 69.59)	208.52 (\pm 79.58)	0.320
PAM	66.73 (\pm 15.31)	63.15 (\pm 3.19)	0.304
TS	0.32 (\pm 0.22)	0.50 (\pm 0.21)	0.070
P3[†]			
FC	239.51 (\pm 52.33)	239.51 (\pm 52.33)	0.425
PAM	81.55 (\pm 9.97)	81.55 (\pm 9.97)	0.348
TS	0.19 (\pm 0.04)	0.19 (\pm 0.04)	0.136

* Teste *t* de *Student* para amostras pareadas. * $<0,05$.

Na presença do tratamento perineural, foi injetada uma dose única de capsaicina na concentração de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, como controle positivo para verificar alterações no reflexo vago-vagal imediato, a mesma não causou alterações nas respostas cardiovasculares significativas. (Tabela 6.)

Tabela 6. Efeitos cardiovasculares do OELS na presença da injeção i.v. de capsaicina 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

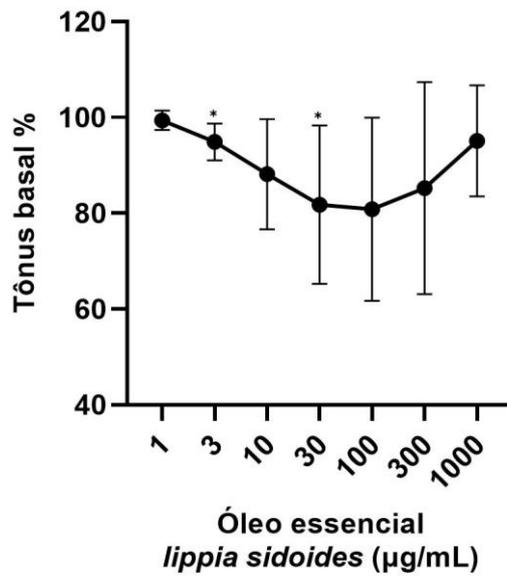
OELS	Pré-capsaicina	Pós-capsaicina	Valor p*
5 mg/kg			
FC	284.49 (± 69.40)	280.77 (± 61.79)	0.260
PAM	97.69 (± 24.96)	91.91 (± 22.11)	0.057

* Teste *t* de *Student* para amostras pareadas.

4.3 Efeitos vasculares do óleo essencial *lippia sidoides* no tônus basal de aorta isolada de rato

O óleo essencial *lippia sidoides* não apresentou efeitos vasculares significativos sobre o tônus basal de tecidos de aortas isoladas de ratos. Logo após a adição de concentrações crescentes (1 – 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) do OELS foram observadas respostas apenas nas concentrações de 3 e 30 microgramas/mililitros ao tecido conforme figura 5; n=6.

Figura 5 – Avaliação dos efeitos do OELS (1 – 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) sobre o tônus basal de aorta de ratos.



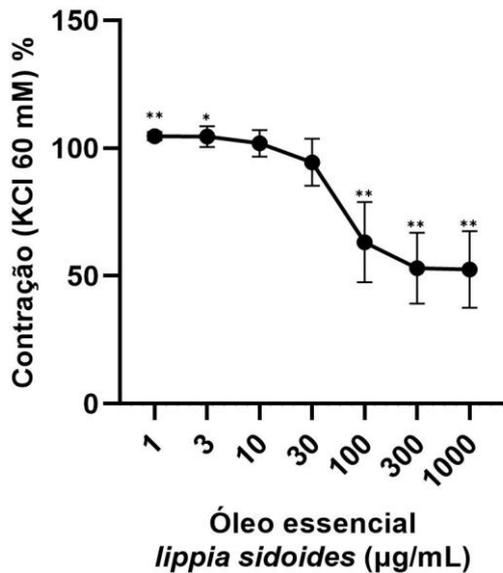
Fonte: elaborado pelo autor, 2022. * $<0,05$.

O gráfico retrata os efeitos do OELS em concentrações (1 - 1000 µg/mL) sobre o tônus basal de aorta isolada de ratos. n= número de experimentos. As barras verticais indicam E.P.M.

4.4 Efeitos vasculares do óleo essencial *lippia sidoides* em contrações induzidas por KCl (60 mM) em aorta isolada de rato

As concentrações crescentes do OELS (1 – 1000 µg/ml) relaxaram a contração sustentada pela indução com o KCl (60 mM). O efeito do OELS foi significativo ($p < 0,05$, ANOVA) nas concentrações de 1,3, 100, 300 e 1000 µg/ml para a preparação com o endotélio íntegro.

Figura 6 - Efeito vasculares do OELS (1 – 1000 $\mu\text{g/mL}$) em aorta isolada de rato pré-contráida com KCl (60 mM)



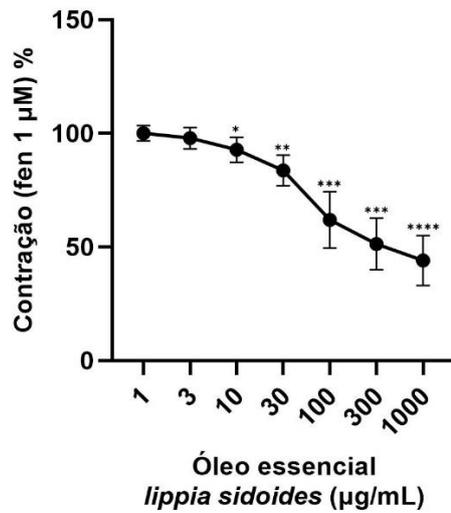
Fonte: elaborado pelo autor, 2022. * <0,05 ** <0,01.

O gráfico acima retrata os efeitos do OELS em concentrações (1 - 1000 $\mu\text{g/mL}$) na reversão da contração induzida pelo KCl, em aorta isolada de ratos.

4.5 Efeitos vasculares do óleo essencial *lippia sidoides* em contrações induzidas por Fenilefrina (Fen) (1 μM) em aorta isolada de rato

As concentrações de óleo essencial *lippia sidoides* (1 – 1000 $\mu\text{g/ml}$) relaxaram a contração sustentada induzida por Fen (1 μM). O efeito do OELS tornou-se significativo ($p < 0,05$, ANOVA) nas concentrações de 10 a 1000 $\mu\text{g/ml}$ para a preparação de aorta.

Figura 7 – Curvas concentração-efeito para OELS (1 – 1000 $\mu\text{g/mL}$) na reversão da contração induzida pela Fen (1 μM) em anéis de aorta isolada de rato.



Fonte: elaborado pelo autor, 2022. As concentrações crescentes do OELS provocaram vasorelaxamento a partir de 10 microgramas/mililitros. (* <0,05, ** <0,01, *** <0,001, **** <0,0001).

5 DISCUSSÃO

No presente estudo foram injetados via intravenosa, óleo essencial *lippia sidoides* em ratos anestesiados, a primeira e rápida ação a essa ejeção, foi denominada de P1 tendo como efeito inicial hipotensão e bradicardia aguda em ratos com sistema nervoso autônomo intacto, essa resposta foi seguida de rápida recuperação provavelmente atribuída a uma resposta vasovagal e como tentativa para atenuação desses efeitos para manutenção de uma hemodinâmica estável ocorreu uma rápida recuperação denominada P2 seguida de uma nova queda com manutenção da hipotensão e bradicardia por um certo período, o que pode ser atribuído à vasodilatação causada pelo óleo essencial *lippia sidoides*. Estudos de Funari et al, (2012); Fontenelle et al, (2007) mostram que espécies do gênero *Lippia*, apresentam atividades biológicas diversas e tem sido amplamente estudada. Foram relatadas utilização do composto para tratamento de inflamações nas gengivas e garganta, bem como dores. (LORENZI; MATOS, 2002; MATOS, 2007).

Pode-se sugerir que o OELS possua atividades vasodilatadoras, diante dos efeitos apresentados e por sua ampla utilização como composto biologicamente ativo. Tem sido estudado o mesmo para utilização como antimicrobianos, como mostra Botelho et al, (2007) em seus estudos. No sistema cardiovascular, o óleo essencial injetado em ratos anestesiados, causou bradicardia e hipotensão, a mesma pode ser atribuída a uma vasodilatação significativa.

O Óleo essencial *lippia sidoides* possui vários constituintes estudados como alicerces na prevenção e tratamento de doenças, um deles são os flavonóides, que estão diretamente associados ao tratamento de atividades inflamatórias, e prevenção de doenças cancerígenas e cardiovasculares, apontando como potencial agente farmacológico no uso para vasodilatação. (COSTA et al, 2002). Para Veras, et al (2013), o OELS possui constituintes, que em ação sinérgica possuem algumas atividades biológicas, como ações antiinflamatórias observadas nos seus estudos de em camundongos.

Os achados do presente estudo apontam para uma interferência vasovagal nos resultados das médias em P1 nos experimentos com ratos anestesiados, as respostas subseqüentes são referentes à ação do próprio composto (OELS), que mantém uma queda nos valores de pressão arterial média e frequência cardíaca.

Em ratos anestesiados e previamente ao protocolo da bivagotomia, tiveram um comportamento semelhante ao grupo anestesiado sem bivagotomia, isso deve-se ao fato de o componente vasovagal estar presente no momento prévio ao tratamento, em P1 com doses de 5 e 10 mg do OELS, admitiu-se uma resposta mais aguda na queda da frequência cardíaca e pressão arterial média, e seguido de P2 com uma leve recuperação desses parâmetros e, de fato, o efeito farmacológico do composto estudado. Estudos de Khemani; Mehdiraz, (2020), apontam que a liberação de acetilcolina diante da ativação de fibras parassimpáticas, ativa receptores muscarínicos no nódulo sinusal e atrioventricular, e como resultado desse efeito, redução da frequência cardíaca e contração ventricular, o que pode alterar também a pressão arterial.

O presente estudo mostrou que ao injetar o OELS via intravenosa após a realização da bivagotomia nos ratos anestesiados, foi observado um retardamento nas quedas mais agudas dos parâmetros de pressão arterial média e frequência cardíaca, abolindo o primeiro efeito observados em P1, diante do exposto, sugere-se que essa resposta inicial se referia a uma resposta vasovagal induzida pelo OELS. Assim, o OELS provocou efeitos bradicárdicos e hipotensores mais tardiamente conforme pode-se observar em P2. A resposta vasovagal tem diversos gatilhos, uma delas pode ser causada pela indução anestésica, o que leva a uma queda de pressão e frequência cardíaca. (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002).

O presente estudo mostra as respostas cardiovasculares durante a injeção intravenosa do veículo Tween 80, utilizado para diluição do OELS. Nesses animais anestesiados, não houve

interferência nos parâmetros cardiovasculares com o uso do veículo, o mesmo não possui ações farmacológicas sobre o sistema cardiovascular, sendo bem utilizado na diluição do óleo essencial *lippia sidoides*. Achados que corroboram com estudos de Barbosa (2019), onde foi realizado experimentação com a utilização do mesmo, apontaram uma melhora da solubilidade no óleo essencial, e a não interferência na ação farmacológica dos compostos estudados.

Nossos achados apontam, que, em ratos com nervo vago intacto, e durante o protocolo de tratamento perineural, a capsaicina aplicada perivagal auxiliou na alteração seletiva das fibras aferentes que percorrem no nervo vago demonstrando que o óleo essencial *lippia sidoides* ativou fibras sensoriais vagais na produção dessa primeira fase P1 com efeitos bradicárdicos e hipotensivos agudos. (JANCSÓ; SUCH, 1983). Os efeitos hipotensores pós tratamento perineural foram mais atrelados às respostas vasculares ao OELS, achados que indicam um papel inibitório de forma parcial sobre as fibras do nervo vago durante o período P2 na resposta bradicárdica.

Segundo Mutoh et al (2000), a capsaicina teve papel fundamental na inibição dessa resposta vagal, em seus estudos com cães, onde reflexos cardiopulmonares foram atenuados com tratamento perineural, sugerindo que o resultado da inibição aferente de fibras vagais sensíveis bloqueava os reflexos cardiopulmonares. DOMOKI et al. (2003), também sugerem o envolvimento no bloqueio perineural com capsacina em seus estudos com ratos, onde apontam evidências do envolvimento de nervos sensíveis à capsaicina no mecanismo de hiperemia reativa.

Esses achados apontam que a ação perineural da capsaicina, não foi modificada pela injeção da dose de 2 µg/mL de capsaicina utilizada como controle positivo, as respostas cardiovasculares tiveram pequenas alterações, mas sem mudanças significativas nas respostas sobre a pressão arterial. Já Grace et al. (2012), apontam em seus estudos, que provavelmente a resposta se modificaria com utilização de seu antagonista, a capsazepina, onde a mesma foi capaz de inibir o influxo de cálcio em neurônios vagais em resposta à ativação dos receptores da capsaicina. Tais achados sugerem que o óleo essencial *lippia sidoides* pode exercer sua ação, mesmo com inibição neural, e que o período P2 é resultante de sua resposta cardiovascular. No entanto, sugere-se mais estudos com adição do protocolo utilizado com o antagonista dos receptores de capsaicina para melhor análise desses efeitos.

Em nosso estudo, o óleo essencial *lippia sidoides* produziu um efeito vaso relaxante nas

preparações de artéria aórtica, pré-contraídas com KCl e Fenilefrina, sendo que, as contrações induzidas com cloreto de potássio tiveram reversão iniciadas a partir das duas primeiras concentrações e se fazendo mais significativa entre as concentrações de 100 a 1000 µg/mL, contrariamente à fenilefrina, que teve suas respostas iniciadas a partir da adição de 10 µg/mL do OELS e alcançou um efeito vaso relaxante em maior proporção em comparação ao cloreto de potássio, Estudos de Ribeiro Filho, (2015) também relataram maior potência de contração sustentada por fenilefrina, revertida com uso de outro composto natural, o que reforça a possibilidade de reversão da contração induzida. Nossos achados corroboram com os de Toso et al. (2007), que demonstra a capacidade relaxante do óleo essencial *lippia sidoides* em diferentes músculos lisos em preparações isoladas, e que cada vez mais vem sendo evidenciado efeitos protetores do OELS. O mesmo foi capaz de inibir com boa eficácia farmacológica contrações induzidas no músculo liso estomacal de ratos. (SILVA, 2018).

Nossos achados sobre reversão de contratilidade induzida pelo cloreto de potássio (KCl), mostram um efeito contrátil sustentado, com reversão a partir das adições crescentes do OELS. Observamos inicial, que o mesmo causava um efeito relaxante menor nas preparações, se comparada à contração induzida por fenilefrina. O que corrobora com achados de Silva, (2018), onde os efeitos relaxantes em seus estudos foram maiores na presença de outro agente, que não o KCl. Quanto ao veículo, é importante mencionar que não apresentaram efeitos sobre o tônus basal de preparações de aorta. Achados que corroboram com Vasconcelos (2018), onde utilizou o veículo (DMSO), e Barbosa (2019), onde utilizou tween 80 em seus experimentos, os compostos diferiram da resposta ao veículo, diante dos estímulos contráteis, o que descarta sua influência sobre os efeitos já relatados.

Segundo Somlyo; Somlyo (1968), é importante realizar investigação nas preparações pré-contraídas com estímulo eletromecânico, e farmacomecânico, já que ambos podem influenciar nessas respostas de contratilidade. O estímulo eletromecânico acontece com elevação extracelular de potássio, que gera diferença de concentração entre os meios (externo, menos concentrado e interno, mais concentrado), levando o potencial de membrana a atingir valores menos negativos, causando a despolarização da membrana e abrindo os canais de cálcio⁺⁺ dependentes de voltagem. (RIBEIRO-FILHO et al., 2012; VASCONCELOS, 2018).

Já em relação ao estímulo farmacomecânico, o mesmo ocorreu pós adição de fenilefrina, um agonista adrenérgico que se liga ao seu receptor acoplado à proteína G na membrana celular, e estimula a fosfolipase C, que catalisa o fosfatidilinositol 4,5-bifosfato em segundos

mensageiros, atuando para liberação de Ca^{++} do retículo sarcoplasmático e diacilglicerol, ativando a quinase C, e por fim fosforilando proteínas alvo específicas no processo contrátil. (SOMLYO; SOMLYO, 1998;).

6 CONCLUSÃO

Portanto, foi possível verificar que o óleo essencial *lippia sidoides* obteve uma resposta hipotensora e bradicárdica aguda e significativa em ratos wistar normotensos e anestesiados, repostas divididas em três fases, onde a primeira fase ocorria devido um efeito vaso-vagal mediado por fibras eferentes do sistema nervoso autônomo. E que esses efeitos iniciais provenientes de resposta vagal foram abolidos quando os animais eram tratados com o OELS mas diante de bivagotomia, admitindo que o efeito sugestivo do óleo essencial, seria o padrão da resposta na fase P2.

Durante o tratamento com o mesmo na presença de um inibidor das fibras vagais, capsaicina o OELS alcançou resposta hipotensora mais significativa do que a resposta bradicárdica, tais achados são confirmados quando foram realizados testes em tecidos isolados com anéis de aorta, onde foram observadas vasodilatação importantes dos tecidos diante de agentes contráteis como a fenilefrina. Portanto, o óleo essencial *lippia sidoides* foi capaz de reduzir a pressão arterial nesses animais, sugere-se mais estudos para análise do mesmo na presença de outros agentes farmacológicos para investigações de mais efeitos cardiovasculares.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 4a edição. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. 2015.
- ANDRADE, A., PINTO, SC., and OLIVEIRA, RS., orgs. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p.
- AVIADO, D. M; AVIADO, D. G. The Bezold-Jarisch Reflex A Historical Perspective of Cardiopulmonary Reflexes. **Ann N Y Acad Sci**. 2001 Jun; 940:48-58.
- BARBOSA, F. H. **Avaliação da atividade anti-inflamatória do óleo essencial de Psidium myrtooides O. Berg em linhagem transgênica de Drosophila melanogaster**. Uberlândia, 2019. 30 p. Monografia (Bacharel em Biotecnologia) - Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia.
- BEAR, M. F; CONNORS, B.W; PARADISO, M.A. **Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso**. Porto Alegre. Artmed Editora. 2007.

- BERNE RM, LEVY MN. **Fisiologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2009.
- BOSKABADY, M. H.; JAFARI, Z.; POURABOLI, I. The effect of carvacrol on muscarinic receptors of guinea-pig tracheal chains. **Phytother Res**, 25(4):530-535, 2011.
- BOTELHO, M.A., NOGUEIRA, N.A.P., BASTOS, G.M., FONSECA, S.G.C., LEMOS T.L.G., MATOS, F.J.A., et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Braz J Med Biol Res**; 40:349–56, 2007.
- BIANCHINI, et al. Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, n. 12, e6346, 2017.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J; HAIBARA, A. S. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens** vol 8(1): janeiro/março de 2001.
- COSTA, S. M. O. et al. Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 66-67, 2002.
- COSTA, M. F. B. **EFEITO NEFROPROTETOR DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Lippia sidoides* EM MODELOS DE LESÃO RENAL AGUDA POR ISQUEMIA/REPERFUSÃO**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2019.
- CHIU, Y. J. et al. Analgesic and antiinflammatory activities of the aqueous extract from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. both In Vitro and In Vivo. **Evid Based Complement Alternat Med**, vol. 2012, Article ID 508137, 11 pages, 2012.
- DA COSTA, et al. Red propolis ameliorates ischemic-reperfusion acute kidney injury. **Phytomedicine**, v. 22, n. 9, p. 787-95, 2015.
- DE ANGELIS, K; SANTOS, M. S. B; IRIGOYEN, M. C. SISTEMANERVOSO AUTÔNOMO E DOENÇA CARDIOVASCULAR. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul** - Ano XIII no 03 Set / Out / Nov / Dez 2004.
- DOMOKI et al. Perineural capsaicin treatment attenuates reactive hyperaemia in the rat skin. **Neuroscience Letters**. Volume 341, Issue 2, 1 May 2003, Pages 127-130.
- FERNANDES, M. L. **Investigação da ação central do timol em modelos comportamentais de ansiedade, depressão e convulsão em camundongos**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2012.
- FREITAS, et al. AVALIAÇÃO In Vitro DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CARVACROL ATRAVÉS DOS MÉTODOS DE CONTATO DIRETO E GASOSO. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 3, p. 781-786, May/June 2013.
- FONTENELLE, R.O.S., MORAIS, S.M., BRITO, E.H.S., KERNTOPF, M.R., BRILHANTE, R.S.N., CORDEIRO, R.A., et al. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **J Antimicrob Chemother.**; 59:934–40, 2007.

- FUNARI, C. S. et al. Chemical and antifungal investigations of six *Lippia* species (Verbenaceae) from Brazil. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2086-2094, 2012.
- FIGUEIREDO, et al. Lethal and sublethal effects of essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae) and monoterpenes on Chagas' disease vector *Rhodnius prolixus*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 112(1): 63-69, January 2017.
- GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis Schauer*. **Eclética Química**, v. 36, n. 1, p. 64-77, 2011.
- GHOLAMI-AHANGARAN et al. Thymol and carvacrol supplementation in poultry health and performance. **Vet Med Sci**.2022;8:267–288.
- GUIMARAES et al. Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais: Composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 267-275, abr-jun, 2014.
- GUYTON, A; HALL, J. **Tratado de Fisiologia Médica**. 13 ed. Rio de Janeiro. Elsevier. 2017.
- GRACE, et al. Transient receptor potential channels mediate the tussive response to prostaglandin E2 and bradykinin. **Thorax**. v. 67, n. 10, p. 891-900, 2012.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. Free radicals in biology and medicine. New York: **Oxford University Press**, 2007.
- JANCSÓ, G; SUCH, G, (1983), Effects of capsaicin applied perineurally to the vagus nerve on cardiovascular and respiratory functions in the cat. **The Journal of Physiology**, 341 doi: 10.1113/jphysiol. 1983.sp014810.
- KIZUB, I. V, et al. Rho kinase and protein kinase C involvement in vascular smooth muscle myofilament calcium sensitization in arteries from diabetic rats. **Br J Pharmacol**, v.159, n.8, p.1724-31. 2010.
- KHEMANI, P.; MEHDIRAD, A.A. Cardiovascular Disorders Mediated by Autonomic Nervous System Dysfunction. **Cardiology in Review**, volume 28, number 2, March/April, 2020.
- LEDOUX, J et al. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone. **Physiology**, v.21, p.69-79, 2006.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: Nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.
- MACIEL, M. V. et al. Atividade inseticida dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Coriandrum sativum* sobre *Lutzomyia longipalpis*. **Ciência Animal**, v. 19, n. 2, p. 77-87, 2009.
- MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste brasileiro. 3. ed. Fortaleza: Ed. UFC, 2007.
- MEDEIROS, A. R. S. **ATENUAÇÃO DO REFLEXO BEZOLD-JARISCH APÓS TRATAMENTO CRÔNICO COM DOSES SUPRAFISIOLÓGICAS DE DECANOATO DE NANDROLONA EM RATOS SEDENTÁRIOS**. Dissertação de Mestrado – Programa

de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo. 2007, 73. p.

MORAIS, et al. Chemical Constituents of Essential Oil from *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) Leaves Cultivated in Hidrolândia, Goiás, Brazil. **International Journal of Analytical Chemistry**. Volume 2012, 4 p. doi:10.1155/2012/363919.

MOTA, A. P. P; DANTAS, J. C. P; FROTA, C. C. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. **Ciência Rural**, v.48, n.6, 2018.

MUTOH, et al. Effects of Perineural Capsaicin Treatment on Cardiopulmonary Reflexes Elicited by Laryngeal Instillations of Capsaicin and Distilled Water in Sevoflurane-Anesthetized Dogs. **J. Vet. Med. Sci.** 62(6): 665–668, 2000.

PEIXOTO-NEVES, D. et al. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundam Clin Pharmacol**, 24(3):341-350, 2010.

PEREIRA, et al. O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais no centro-sul piauiense. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, p.550-561, 2015.

QUEIROZ, S. L; BATISTA, A. A. Funções biológicas do óxido nítrico. **Quím. Nova** 22 (4) • Jul 1999 • <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000400017>.

RIBEIRO FILHO, H. V. **Efeitos cardiorrespiratórios do β -citronelol: envolvimento de fibras aferentes vagais e ação direta em músculos liso e cardíaco**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2015.

RIBEIRO-FILHO, H. V, et al. Talking about bioelectrical potentials using rings of the mesenteric artery without glass micropipettes. **Adv. Physiol. Educ.**, v. 36, n. 4, p. 336-44, 2012.

ROCHA, B. M. L, et al. Diagnostic and therapeutic approach to cardioinhibitory reflex syncope: A complex and controversial issue. **Rev Port Cardiol**, 2019; Volume 38: 661-673.

SAMPAIO, et al. Nephroprotective effects of (–)- α -bisabolol against ischemic-reperfusion acute kidney injury. **Phytomedicine**, n. 14, p. Pages 1843-1852, 2016.

SANTOS, et al. Avaliação da interferência in vitro do extrato aquoso de *Lippia sidoides* Cham. na determinação da glicemia plasmática. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, p. 152-157, 2018. Disponível em:<10.14450/2318-9312.v30. e3. a2018.pp152-157> Acesso em: 06 nov 2021.

SANTOS, V. S; SILVA, P. H; PÁDUA, L. E. Bioatividade do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (alecrim-pimenta) sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Crysomelidae). **EntomoBrasilis** 11 (2): 113-117 (2018).

SEIDELMANN, S. B.; LIGHTHOUSE, J. K.; GREIF, D. M. Development and pathologies of the arterial wall. **Cellular and molecular life sciences**, v. 71, n. 11, p. 1977–1999, 2014.

SILVA, A. A. **Avaliação dos efeitos dos compostos fenólicos: ácido cafeico e rutina sobre a contração do músculo liso de aorta, útero e íleo de ratos wistar**. Dissertação (Mestrado).

- Programa de Pós-graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri. CRATO, 2018.

SILVA, F. R. O. **Efeito espasmolítico do Óleo essencial de *Lippia Sidoides* e do Carvacrol no músculo liso de fundo de estômago de rato**: investigação da participação dos canais de cálcio operados por voltagens. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais, Fortaleza, 2019.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia humana**: uma abordagem integrada. Porto Alegre: ArtMed, c2016. 930 p.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. From pharmacomechanical coupling to G-proteins and myosin phosphatase. **Acta Physiol. Scand.**, v. 164, n. 4, p. 437-448, 1998.

SOMLYO, A.V.; SOMLYO, A.P. Electromechanical and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle. **J Pharmacol Exp Ther**, 159(1):129-145, 1968

SZENTESI, P. et al. Altered elementary calcium release events and enhanced calcium release by thymol in rat skeletal muscle. **Biophys J**, 86(3):1436-1453, 2004.

TOSO, R. E. et al. Plantas de la provincia de La Pampa, Argentina, con actividad gastroprotectora y antiespasmódica. **InVet**, 9(1):145-151, 2007.

VASCONCELOS, T. B. **Efeito vasodilatador de três nitrocompostos aromáticos e estruturalmente relacionados em aorta isolada de rato: influência do grupo funcional no2 no mecanismo de ação**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2018.

VERAS, H. N. H. et al. Topical anti-inflammatory activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham: possible mechanism of action. **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 179–185, 2013.

WEHRWEIN, E. A; ORER, H. S; BARMAN, S. M. Overview of the Anatomy, Physiology, and Pharmacology of the Autonomic Nervous System. **Comprehensive Physiology**. 2016;6(3):1239–78.

YASUNAGA, T. et al. Plasma pentraxin 3 is a more potent predictor of endothelial dysfunction than high-sensitive C-reactive protein. **International heart journal**, v. 55, n. 2, p. 160–164, 2014.

ZAGO, A. S.; ZANESCO, A. Nitric oxide, cardiovascular disease and physical exercise. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 87, n. 6, p. e264–e270, 2006.