



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES**

**ALLAN BEZERRA VITALIANO**

**EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO E DO  
METILSULFONILMETANO EM RATOS WISTAR NORMOTENSOS**

**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)

---

V822e Vitaliano, Allan Bezerra.  
Efeitos cardiovasculares do ácido alfa-lipóico e do metilsulfonilmetano em ratos Wistar normotensos /  
Allan Bezerra Vitaliano. – 2023.  
33 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Cardiovasculares, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Camila Ferreira Roncari.  
Coorientação: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá.

1. Espécies reativas de oxigênio. 2. Pressão arterial. 3. Angiotensina II. I. Título.

CDD 616.1

---

ALLAN BEZERRA VITALIANO

EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO E DO  
METILSULFONILMETANO EM RATOS WISTAR NORMOTENSOS

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Ciências biomédicas.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari  
Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá

FORTALEZA

2022

ALLAN BEZERRA VITALIANO

EFEITOS CARDIOVASCULARES DO ÁCIDO ALFA-LIPÓICO E DO  
METILSULFONILMETANO EM RATOS WISTAR NORMOTENSOS

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Ciências biomédicas.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari

Coorientador: Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá

Aprovada em 31/10/2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Camila Ferreira Roncari  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Mariana Ruiz Lauer  
University of Minnesota

À Deus e aos meus pais.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Professora Dra. Camila Ferreira Roncari por toda dedicação, disponibilidade e paciência no processo de orientação do mestrado, por todo conhecimento transmitido e principalmente por todas as demonstrações de humanidade. Sou e serei eternamente grato.

Ao Professor Dr. Alexandre Havt Bindá por estar sempre disponível em ajudar quando solicitado, coorientando com muita sabedoria e humildade.

Ao Professor Dr. Richard David por todos os ensinamentos e por inspirar nos alunos a busca em fazer sempre o melhor possível e dar o melhor de si em todas as situações.

A Dra. Mariana Ruiz Lauer, Dra. Roberta Jeane Bezerra Jorge e ao Dr. Thyago Moreira de Queiroz por disponibilizarem de seu tempo na colaboração e melhoria do presente trabalho.

E por fim a todas os colegas, amigos e familiares que estiveram junto comigo nesse processo. Meu muito obrigado.

Erros são, no final das contas, fundamentos da verdade. Se um homem não sabe o que uma coisa é, já é um avanço do conhecimento saber o que ela não é. (Carl Gustav Jung)

## RESUMO

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são geradas pelo metabolismo celular e fazem parte de mecanismos fisiológicos, como moléculas sinalizadores ou neuromodulares no sistema nervoso central, e patológicos. A angiotensina II (ANG II) estimula a produção de EROs e estes parecem mediar suas ações dipsogênica e pressora. O ácido alfa-lipóico (AAL), um potente antioxidante, reduz a produção de EROs em diversos modelos animais de hipertensão. O tratamento com AAL reduz a pressão arterial e aumenta a sensibilidade do barorreflexo de ratos com hipertensão renovascular 2 rins 1 clipe. O metilsulfonilmetano (MSM) possui atividade antioxidante e estudo prévio demonstrou que esse composto apresenta efeitos hemodinâmicos cardiopulmonares benéficos no modelo de hipertensão pulmonar. Dessa forma, no presente estudo, investigamos os efeitos cardiovasculares do AAL e do MSM em ratos Wistar normotensos. Em ratos Wistar (290 - 310 g) foram investigados: a) a alteração na pressão arterial sistólica (PAS) após administração por via oral (gavagem) de veículo, AAL (60 mg/kg), MSM (200 mg/kg) ou AAL (60 mg/kg) combinado com MSM (200 mg/kg) diariamente por 14 dias; b) o efeito da administração aguda intraperitoneal de AAL (60 mg/kg) sobre a resposta pressora induzida por ANG II (50 ng/0,1 ml). O tratamento apenas com AAL reduziu significativamente a PAS de ratos normotensos, porém não foram observadas alterações significativas nos grupos tratados com MSM, sozinho ou combinado. A administração prévia de AAL (60 mg/kg) não alterou a resposta pressora e a bradicardia reflexa induzidas pela ANG II (50 ng/0,1 ml). A injeção de AAL sozinho também não alterou os valores basais de pressão arterial média e frequência cardíaca. Portanto, o presente estudo mostra que o MSM não possui efeito sobre a pressão arterial. O AAL, por sua vez, tem leve efeito hipotensor quando administrado a longo prazo. Os resultados ainda sugerem que essa resposta hipotensora do AAL não parece estar relacionada à interferência aguda nos mecanismos angiotensinérgicos periféricos.

**Palavras-chave:** espécies reativas de oxigênio; pressão arterial; angiotensina II.

## ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS) are generated by cellular metabolism and are part of physiological, acting as signaling molecules or neuromodulators in the central nervous system, and pathological mechanisms. Angiotensin II (ANG II) stimulates ROS production which seem to mediate its dipsogenic and pressor actions. Alpha-lipoic acid (ALA), a potent antioxidant, reduces ROS production in several animal models of hypertension. Treatment with ALA lowers blood pressure and increases baroreflex sensitivity of 2 kidneys-1 clip renovascular hypertensive rats. Methylsulfonylmethane (MSM) has antioxidant activity, and a previous study has shown that this compound has beneficial hemodynamic effects in the pulmonary hypertension model. Thus, in the present study, we investigated the cardiovascular effects of ALA and MSM in normotensive Wistar rats. Wistar rats (290 - 310 g) were used to investigate: a) the change in systolic blood pressure (SBP) after oral administration (gavage) of vehicle, AAL (60 mg/kg), MSM (200 mg/kg) or AAL (60 mg/kg) combined with MSM (200 mg/kg) daily for 14 days; b) the effect of acute intraperitoneal administration of AAL (60 mg/kg) on the pressor response induced by ANG II (50 ng/0.1 ml). Treatment with only ALA significantly reduced the SBP of normotensive rats, but no significant changes were observed in the groups treated with MSM, alone or combined with ALA. Previous administration of ALA (60 mg/kg) did not alter the pressor response and reflex bradycardia induced by ANG II (50 ng/0.1 ml). ALA injection alone also did not change baseline mean arterial pressure and heart rate. Therefore, the present study shows that MSM has no effect on blood pressure. ALA, on the other hand, has a mild hypotensive effect when long-term administered. The results also suggest that ALA hypotensive response does not seem to be related to acute interference in peripheral angiotensinergic mechanisms.

**Keywords:** reactive oxygen species; blood pressure; angiotensin II.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Pressão arterial sistólica de ratos normotensos antes, durante e após a administração oral (gavagem) de AAL (60 mg/kg), MSM (200 mg/kg) ou tratamento combinado com AAL + MSM diariamente por 14 dias. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; n = número de animais. .... 20

**Figura 2.** Variação da pressão arterial sistólica (PAS) de ratos normotensos antes, durante e após a administração oral (gavagem) de AAL (60 mg/kg), MSM (200 mg/kg) ou tratamento combinado com AAL + MSM diariamente por 14 dias. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; n = número de animais. .... 21

**Figura 3.** Traçados representativos das alterações na PAP, PAM e FC induzida por ANG II (50 ng/0,1 ml) iv em ratos que receberam injeção ip de (A) veículo ou (B) AAL (60 mg/kg)..... 23

**Figura 4.** Variações da (A) PAM e (B) FC induzidas por ANG II (50 ng/0,1 ml) iv em ratos que receberam injeção ip de veículo ou AAL (60 mg/kg). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; n = número de animais. .... 24

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

2R1C	2 rins 1 clipe
AAL	Ácido alfa lipóico
ANG II	Angiotensina II
ANOVA	Análise de variância
AT <sub>1</sub>	Receptor angiotensinérgico do tipo 1
ATZ	3-amino-1,2,4-triazol
DHE	Dihidroetídio
DHLA	Ácido dihidrolipóico
EPM	Erro padrão da média
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FC	Frequência cardíaca
g	Gramas(s)
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HO <sup>•</sup>	Radical hidroxila
ip	Intraperitoneal
iv	Intravenoso
kg	Quilograma(s)
M	Molar
MDA	Malondialdeído
mg	Miligrama(s)
ml	Mililitro(s)
MSM	Metilsulfonilmetano
ng	Nanograma(s)
NO	Óxido nítrico
NTS	Núcleo do trato solitário
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Ânion superóxido
PA	Pressão arterial
PAM	Pressão arterial média
PAP	Pressão arterial pulsátil
PAS	Pressão arterial sistólica

sc	Subcutâneo
SHR	Ratos espontaneamente hipertensos
SOD	Superóxido dismutase
SRA	Sistema renina-angiotensina

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	MATERIAL E MÉTODO .....	16
2.1	Animais	16
2.2	Registro da pressão arterial sistólica por pletismografia de cauda .....	16
2.3	Canulação da artéria e veia femorais para medida dos parâmetros cardiovasculares e administração de angiotensina II. ....	16
2.4	Drogas utilizadas .....	17
2.5	Protocolo experimental.....	17
2.5.1	Respostas cardiovasculares induzidas pelo tratamento crônico com AAL e MSM de forma isolada ou combinada .....	17
2.5.2	Efeito pressor induzido por ANG II em ratos tratados com AAL .....	17
2.6	Eutanásia	18
2.7	Análise estatística .....	18
3	RESULTADOS .....	19
3.1.1	Respostas cardiovasculares induzidas pelo tratamento crônico com AAL e MSM de forma isolada ou combinada .....	19
3.1.2	Efeito pressor induzido por ANG II em ratos tratados com AAL .....	22
4	DISCUSSÃO .....	25
5	CONCLUSÃO .....	28

## 1 INTRODUÇÃO

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são formadas pela redução parcial da molécula de oxigênio e geradas pelo metabolismo, proliferação e diferenciação celular (PANIERI; SANTORO, 2016). Por conterem um elétron não emparelhado no orbital externo, as EROs também são conhecidas como radicais livres. De maneira geral, os radicais livres, e mais especificamente as EROs, são moléculas instáveis, de curta duração, e capazes de reagir com outras moléculas através do processo de oxidação. As EROs conseguem remover elétrons de átomos presentes em moléculas intracelulares ou constituintes da membrana, prejudicando o funcionamento celular. Dessa forma, a produção exacerbada de EROs é comumente associada a diversas condições patológicas, incluindo a hipertensão (BARADARAN; NASRI; RAFIEIAN-KOPAEI, 2014; HIGGINS et al., 2010; SMITH et al., 2004; TOUYZ, 2004). Contrabalanceando os efeitos deletérios das EROs, o organismo dispõe de agentes antioxidantes que impedem o acúmulo de radicais livres. O ânion superóxido ( $O_2^-$ ) é dismutado pela enzima superóxido dismutase (SOD) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), uma EROs não radicalar, sendo este degradado pela catalase em água e oxigênio (MCCORD; FRIDOVICH, 1969). Recentemente, estudos também têm associado as EROs não apenas a estados patológicos, mas também a funções fisiológicas, visto que estas parecem atuar como sinalizadores ou neuromodulares no sistema nervoso central (LAUAR et al., 2010, 2020; ST-LOUIS et al., 2012; ZIMMERMAN et al., 2002; ZIMMERMAN; DAVISSON, 2004).

O sistema renina-angiotensina (SRA) tem um papel importante na regulação cardiovascular e no controle do balanço hidroeletrólítico (FITZSIMONS, 1998; STECKELINGS et al., 1992). A angiotensina II (ANG II), o principal peptídeo produzido pela ativação do SRA, possui inúmeras ações fisiológicas, como regulação da pressão arterial (PA) e secreção de vasopressina, além de estimular a ingestão de água e/ou NaCl, tanto por suas ações periféricas (controle da secreção de aldosterona), quanto pela ação direta em algumas áreas do cérebro (FITZSIMONS, 1998; PHILLIPS; SUMNERS, 1998). O receptor  $AT_1$  é o receptor para ANG II mais importante para seus efeitos dipsogênico e pressor e a distribuição desse receptor no sistema nervoso central coincide com as diversas áreas encefálicas que sabidamente estão envolvidas com o controle cardiovascular e do equilíbrio hidroeletrólítico (JOHREN; INAGAMI; SAAVEDRA, 1995; LENKEI et al., 1997; LENKEI; CORVOL; LLORENS-CORTES, 1995).

A ANG II estimula a produção de  $O_2^{\bullet-}$  através da ativação da NADH/NADPH oxidase (RAJAGOPALAN et al., 1996). Estudos prévios mostraram que a produção de  $O_2^{\bullet-}$  por

células de músculo liso vascular em cultura está aumentada após o tratamento com ANG II (GRIENGLING et al., 1994). Ratos espontaneamente hipertensos (SHR) tratados com tempol (mimético da SOD) apresentam redução da PA e dos indicadores de formação de EROs (oxidação do indicador dihidroetídio – DHE) no núcleo do trato solitário (NTS) (CHENG et al., 2010). Por outro lado, a administração periférica ou central de ATZ (3-amino-1,2,4-triazol), um inibidor da catalase, reduz a resposta pressora induzida por ANG II intracerebroventricular (icv) em ratos normotensos e hipertensos, mas não altera as respostas da ANG II intravenosa (iv) (LAUAR et al., 2010). Os autores demonstraram ainda que a injeção iv de ATZ reduz a pressão arterial média (PAM) em ratos com hipertensão renovascular 2 rins 1 clipe (2R1C) (LAUAR et al., 2020).

O ácido alfa-lipóico (AAL) é um importante cofator para as reações enzimáticas do metabolismo energético e exerce um papel protetor contra a disfunção mitocondrial induzida por EROs (PARK et al., 2014; SHAY et al., 2009). O AAL pode ser sintetizado nas mitocôndrias ou obtido a partir da dieta, especialmente de carnes vermelhas, vísceras e vegetais verdes escuros (por exemplo, espinafre e brócolis) (SMITH et al., 2004). Devido às características da sua molécula, como a posição dos átomos de enxofre e a torção do anel tiolato, o AAL tem uma grande densidade de elétron, o que confere uma alta capacidade de atuar como agente redutor e sequestrador de EROs, ou seja, o AAL, assim como sua forma reduzida ácido dihidrolipóico (DHLLA), é um potente antioxidante (BIEWENGA; DEJONG; BAST, 1994; DENEKE, 2001; HANDELMAN et al., 1994; TAYLOR; ZIEGLER, 1987; WOLLIN; JONES, 2003).

Ratos submetidos a uma dieta rica em glicose (dieta padrão + solução de sacarose 10%) apresentam aumento da PA e resistência à insulina, sendo essas respostas prevenidas pelo tratamento com AAL (MIDAQUI; DE CHAMPLAIN, 2002). De forma semelhante, em ratos Zucker diabéticos, a suplementação com o AAL na dieta previne o desenvolvimento de hipertensão e reduz os parâmetros relacionados à obesidade, como a adiposidade, sem alterar aqueles relacionados ao metabolismo da glicose (resistência à insulina, hiperglicemia e hiperinsulinemia) (MIDAQUI et al., 2019). Estudos também demonstraram um efeito protetor do AAL no modelo de dieta hiperlipídica, reduzindo a síntese de mediadores pró-inflamatórios e a peroxidação lipídica e prevenindo a redução da expressão das enzimas SOD e catalase.

A dieta rica em sódio induz aumento da atividade simpática renal e da PA, além de maior produção de EROs no núcleo paraventricular do hipotálamo, e o tratamento crônico com AAL reduz essas respostas (SU et al., 2016; VASDEV et al., 2003). Demonstrou-se também que o AAL foi capaz de reduzir a hipertrofia cardíaca e a formação de EROs no bulbo

rostromventrolateral de ratos com hipertensão induzida por sobrecarga de sódio na dieta, resultando em redução da atividade simpática e, conseqüentemente, da PA (HUANG; JIN; YU, 2017). Em ratos SHR com dieta rica em sódio (NaCl 6%), o AAL reduz a PA, hipertrofia cardíaca e disfunção endotelial induzidas pela ciclosporina, sugerindo que o AAL tem um papel importante na prevenção do desenvolvimento da hipertensão e da nefrotoxicidade nesse modelo (LOUHELAINEN et al., 2006). Finalmente, o tratamento crônico com AAL por via intragástrica, em ratos com hipertensão renovascular 2R1C, reduz a PA e aumenta a sensibilidade do barorreflexo (QUEIROZ et al., 2012). Os autores ainda mostram que o AAL não altera os parâmetros registrados em animais normotensos (QUEIROZ et al., 2012). Entretanto, estudo posterior demonstrou efeito hipotensor após 50 minutos da administração única do AAL pela via intraperitoneal (ip) em ratos normotensos (DUDEK et al., 2016).

Outro antioxidante amplamente utilizado como suplemento dietético é o metilsulfonilmetano (MSM) ou dimetilsulfona. O MSM é um composto organosulfurado natural, produzido a partir do metabolismo do dimetilsulfóxido, e está presente em plantas verdes, frutas, vegetais, grãos, carne, peixe, ovo e leite, sendo considerado uma importante fonte de enxofre para a síntese de aminoácidos sulfonados, metionina e cisteína (AMIRSHAHROKHI; KHALILI, 2017; VELUSAMY; TAMIZHSELVI, 2018). Estudos clínicos e experimentais mostram potenciais efeitos preventivos e terapêuticos do MSM por suas fortes atividades antioxidante e anti-inflamatória (AMIRSHAHROKHI; BOHLOOLI, 2013; AMIRSHAHROKHI; KHALILI, 2017).

O MSM melhora os sintomas da dor e da função física em pacientes com osteoartrite do joelho (KIM et al., 2006). Demonstrou-se também que o MSM protege contra distúrbios metabólicos induzidos pela obesidade (hiperglicemia, hiperinsulinemia, resistência à insulina e inflamação), inflamação das membranas mucosas, cistite intestinal, rinite alérgica, melhora a cicatrização de feridas, colite, danos no fígado, pâncreas e pulmões através de suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (BUTAWAN; BENJAMIN; BLOOMER, 2017; SOUSA-LIMA et al., 2016; VELUSAMY; TAMIZHSELVI, 2018). A administração de monocrotalina induz hipertensão pulmonar, caracterizada pelo aumento da pressão sistólica no ventrículo direito e redução da atividade das enzimas SOD e catalase, e o tratamento crônico com MSM é capaz de atenuar essas alterações hemodinâmicas devido ao seus efeitos antioxidantes e, conseqüentemente, do menor dano oxidativo (MOHAMMADI et al., 2012). Entretanto, não existem estudos avaliando o efeito do MSM sobre a PA sistêmica.

Portanto, considerando que as EROs estão envolvidas em mecanismos patológicos, mas também possuem ação fisiológica como sinalizador intracelular, incluindo sua importância

para as respostas induzidas pela ANG II, um importante peptídeo envolvido na regulação da pressão arterial, e a ação antioxidante do AAL e do MSM, é possível que o AAL e MSM modifiquem os parâmetros cardiovasculares em ratos hipertensos ou normotensos. Dessa forma, no presente estudo, investigamos os efeitos cardiovasculares do AAL e do MSM em ratos Wistar normotensos.

## **2 MATERIAL E MÉTODO**

### **2.1 Animais**

Ratos Wistar, provenientes do Biotério Central da UFC, pesando entre 290 a 310 g foram utilizados. Os animais foram alocados em gaiolas coletivas, três animais por caixa, com livre acesso a água filtrada e ração Nuvilab CR-1 irradiada (Quimtia, Colombo, PR, Brasil) e foram mantidos em ambiente climatizado com temperatura  $23 \pm 2$  °C e ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acesas às 7 h). A realização do protocolo experimental foi autorizada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará - UFC (CEUA-UFC) sob nº 9825260819.

### **2.2 Registro da pressão arterial sistólica por pletismografia de cauda**

A pressão arterial sistólica foi registrada por método de pletismografia de cauda utilizando equipamento MRBP System (IITC Life Sciences, Woodland Hills, EUA). Os animais foram previamente ambientados aos procedimentos de elevação da temperatura corporal e contenção necessários à metodologia.

### **2.3 Canulação da artéria e veia femorais para medida dos parâmetros cardiovasculares e administração de angiotensina II.**

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de cetamina (80 mg/kg; Dechra Brasil, Londrina, PR, Brasil) combinada com xilazina (5 mg/kg; Syntec do Brasil Ltda., Santana de Parnaíba, SP, Brasil) e posicionados em uma mesa cirúrgica para canulação da aorta abdominal através da artéria femoral, para o registro direto da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), e da veia cava inferior pela veia femoral, para injeção intravenosa (iv) de ANG II. A cânula consistiu em um tubo de polietileno PE-10 soldado a um tubo de polietileno PE-50. As cânulas foram preenchidas com solução fisiológica estéril e, no final da canulação, foram exteriorizadas e suturadas na pele do dorso dos animais para permitir o acesso em animais não anestesiados. Após a cirurgia, os ratos receberam uma injeção subcutânea de analgésico/anti-inflamatório (5 mg/kg; Venco, Londrina, PR, Brasil). No dia seguinte ao procedimento de canulação, para o registro da PAM e FC dos animais, as cânulas arteriais foram conectadas a um transdutor de pressão (ADInstruments, Sydney, Austrália) acoplado a um amplificador (ETH-200, CB SCIENCES INC) e a um sistema de aquisição de análise de dados

(PowerLab, ADInstruments). A PAM foi calculada a partir do sinal de pressão arterial pulsátil (PAP) e a FC foi calculada como a frequência instantânea do sinal de PAP.

## 2.4 Drogas utilizadas

Ácido alfa-lipóico (AAL; Sigma-Aldrich, Saint Louis, EUA) foi dissolvido em veículo (carboximetilcelulose 0,3% em NaCl 0,15 M) e administrado por via ip ou oral (gavagem) na dose de 60 mg/kg de peso corporal. Metilsulfonilmetano (MSM; Sigma-Aldrich) foi dissolvido em salina isotônica estéril (NaCl 0,15 M) e administrado por via oral (gavagem) na dose de 200 mg/kg de peso corporal. Angiotensina II (ANG II) foi adquirida da Sigma-Aldrich e dissolvida em salina isotônica estéril (NaCl 0,15 M) e administrada por via iv na concentração de 50 ng/0,1 ml. As doses utilizadas no presente estudo de AAL, MSM e ANG II foram baseadas em estudos prévios (AMIRSHAHROKHI; KHALILI, 2017; COLOMBARI et al., 1992; HUANG; JIN; YU, 2017; LAUAR et al., 2010; MOHAMMADI et al., 2012; QUEIROZ et al., 2012; SU et al., 2016; THUNHORST; BELTZ; JOHNSON, 2010).

## 2.5 Protocolo experimental

### 2.5.1 *Respostas cardiovasculares induzidas pelo tratamento crônico com AAL e MSM de forma isolada ou combinada*

Os animais receberam administração por via oral (gavagem) de veículo (1 ml/kg), AAL (60 mg/kg), MSM (200 mg/kg) ou AAL (60 mg/kg) combinado com MSM (200 mg/kg) diariamente por 14 dias. A PAS foi registrada por pletismografia de cauda antes, durante (7 dias após o início) e após o período de tratamento. A variação da PAS foi calculada como a diferença da PAS antes e após o tratamento.

### 2.5.2 *Efeito pressor induzido por ANG II em ratos tratados com AAL*

Após o registro basal da PAM e FC, os animais foram desconectados do sistema de registro de pressão e receberam uma injeção ip de veículo (1 ml/kg), sendo imediatamente reconectados ao sistema para registro da PAM e FC por 10 minutos. Em seguida, ANG II (50 ng/0,1 ml) foi administrada iv. O registro da PAM e FC se estendeu por 40 minutos após a injeção de ANG II. Após 4 horas, o registro foi reiniciado e o protocolo experimental repetido,

porém os animais receberam injeção ip de AAL (60 mg/kg) e, em seguida, ANG II (50 ng/0,1 ml).

## **2.6 Eutanásia**

Ao final dos experimentos, os animais foram novamente anestesiados como descrito anteriormente e eutanasiados por exsanguinação. Ausência de movimentos respiratórios e batimentos cardíacos foram utilizados como parâmetros para confirmação da morte dos animais.

## **2.7 Análise estatística**

Os resultados foram tabelados e representados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). A análise de variância (ANOVA) de 1 fator (tratamento) ou 2 fatores (tratamento e tempo) e o pós-teste de Student-Newman-Keuls foram utilizados para a análise dos dados. Diferenças foram consideradas significantes para  $P < 0,05$ .

### 3 RESULTADOS

#### 3.1.1 *Respostas cardiovasculares induzidas pelo tratamento crônico com AAL e MSM de forma isolada ou combinada*

Previamente ao início do tratamento com AAL e/ou MSM, não foi observada diferença significativa na PAS dos animais alocados nos grupos posteriormente tratados com veículo ( $135 \pm 3$  mmHg), AAL ( $145 \pm 4$  mmHg), MSM ( $140 \pm 3$  mmHg) ou AAL + MSM ( $142 \pm 4$  mmHg) [ $F(3,28) = 1,660$ ;  $P > 0,05$ ]. A PAS não foi alterada durante ou após o tratamento com AAL e/ou MSM [ $F(3,84) = 0,514$ ;  $P > 0,05$ ] (Figura 1). Entretanto, a análise da variação da PAS ( $\Delta$ PAS) após o tratamento mostrou que o AAL reduziu significativamente a  $\Delta$ PAS ( $-8 \pm 4$  mmHg) de ratos normotensos em relação aos grupos tratados com veículo ( $8 \pm 3$  mmHg) e MSM ( $6 \pm 2$  mmHg) [ $F(3,28) = 4,790$ ;  $P < 0,05$ ] (Figura 2). O tratamento combinado com AAL e MSM não alterou a  $\Delta$ PAS de ratos normotensos ( $-2 \pm 4$  mmHg).

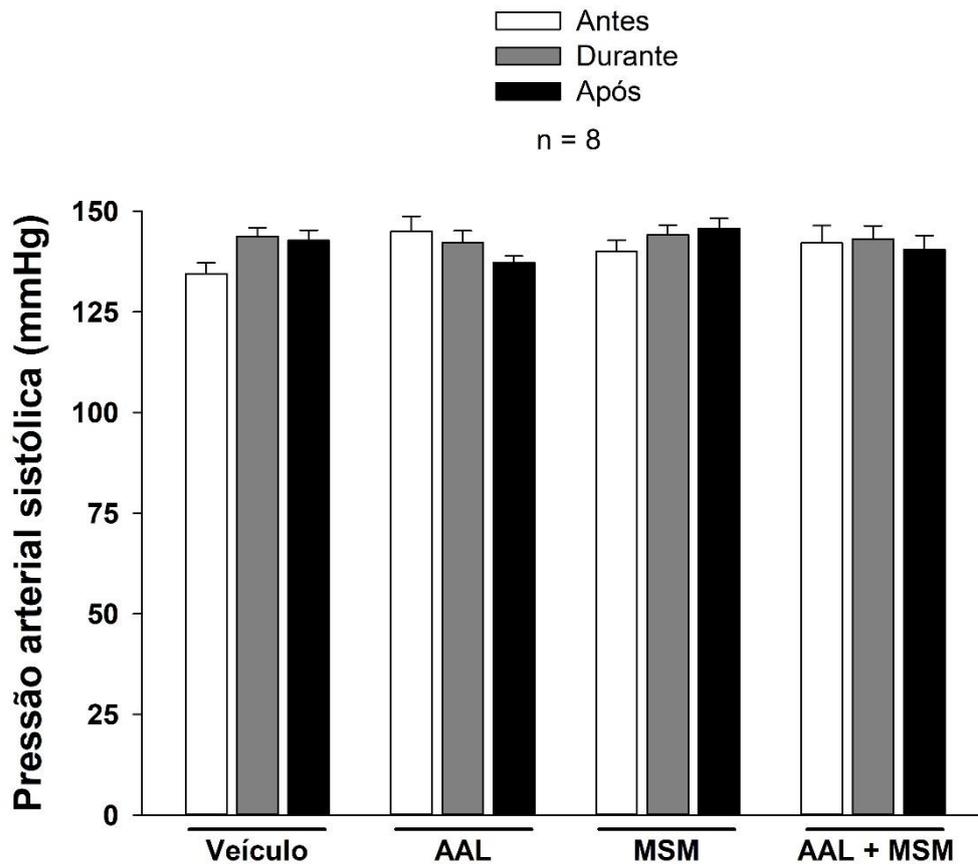


Figura 1. Pressão arterial sistólica de ratos normotensos antes, durante e após a administração oral (gavagem) de AAL (60 mg/kg), MSM (200 mg/kg) ou tratamento combinado com AAL + MSM diariamente por 14 dias. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; n = número de animais.

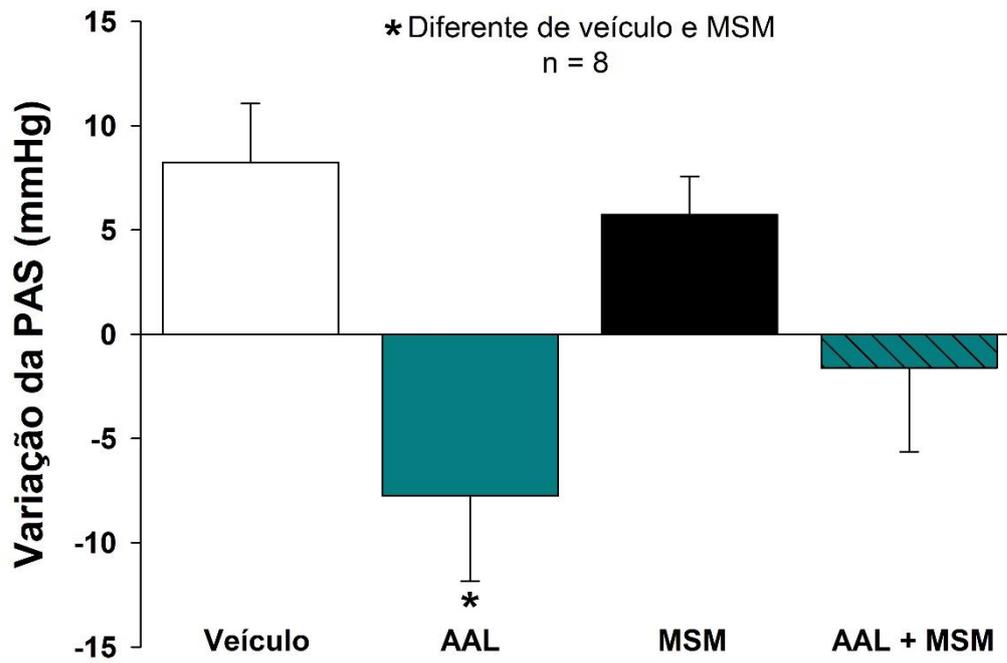


Figura 2. Variação da pressão arterial sistólica ( $\Delta$ PAS) de ratos normotensos antes, durante e após a administração oral (gavagem) de AAL (60 mg/kg), MSM (200 mg/kg) ou tratamento combinado com AAL + MSM diariamente por 14 dias. Valores são representados como média  $\pm$  EPM; n = número de animais.

### 3.1.2 *Efeito pressor induzido por ANG II em ratos tratados com AAL*

A PAM e FC basal dos animais foi  $107 \pm 2$  mmHg e  $401 \pm 20$  bpm, respectivamente. A Figura 3 mostra os traçados representativos dos registros de pressão arterial pulsátil (PAP), PAM e FC em ratos tratados com injeção ip veículo ou AAL (60 mg/kg) combinado com ANG II (50 ng/0,1 ml) por via intravenosa.

O efeito pressor da ANG II (50 ng/0,1 ml) iv não foi alterado pela administração ip de AAL (60 mg/kg) ( $22 \pm 3$  mmHg, vs. veículo:  $25 \pm 1$  mmHg) [ $F(3,20) = 28,171$ ;  $P > 0,05$ ] (Figura 4A). ANG II combinada com veículo ou AAL reduziu a FC (AAL:  $-62 \pm 5$  bpm; veículo:  $-41 \pm 18$  bpm) [ $F(3,20) = 4,890$ ;  $P < 0,05$ ] (Figura 4B). A injeção ip de AAL sozinho não alterou os valores basais de PAM ( $3 \pm 2$  mmHg, vs. veículo:  $4 \pm 2$  mmHg) e FC ( $11 \pm 14$  bpm, vs. veículo:  $-9 \pm 18$  bpm).

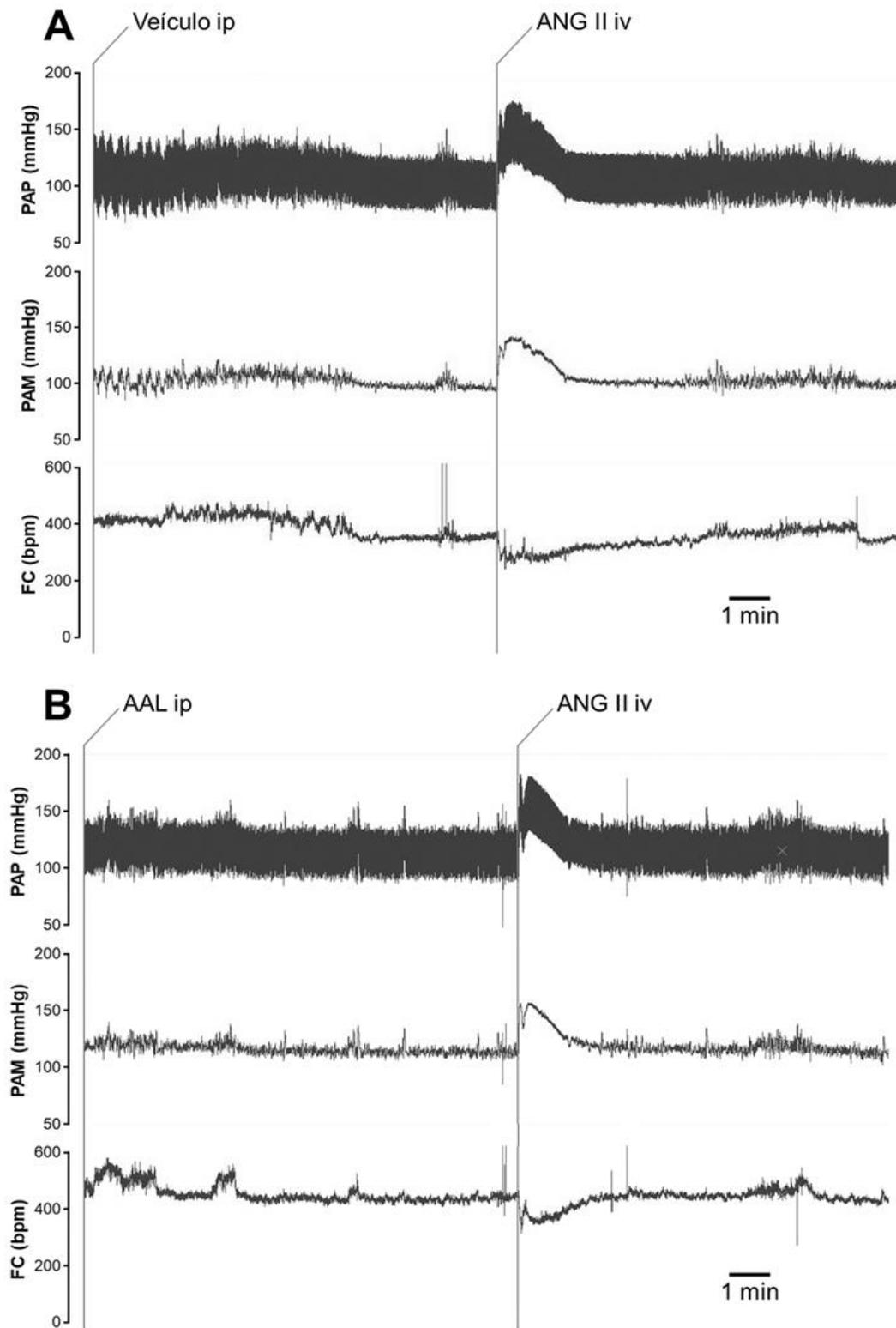


Figura 3. Traçados representativos das alterações na PAP, PAM e FC induzida por ANG II (50 ng/0,1 ml) iv em ratos que receberam injeção ip de (A) veículo ou (B) AAL (60 mg/kg).

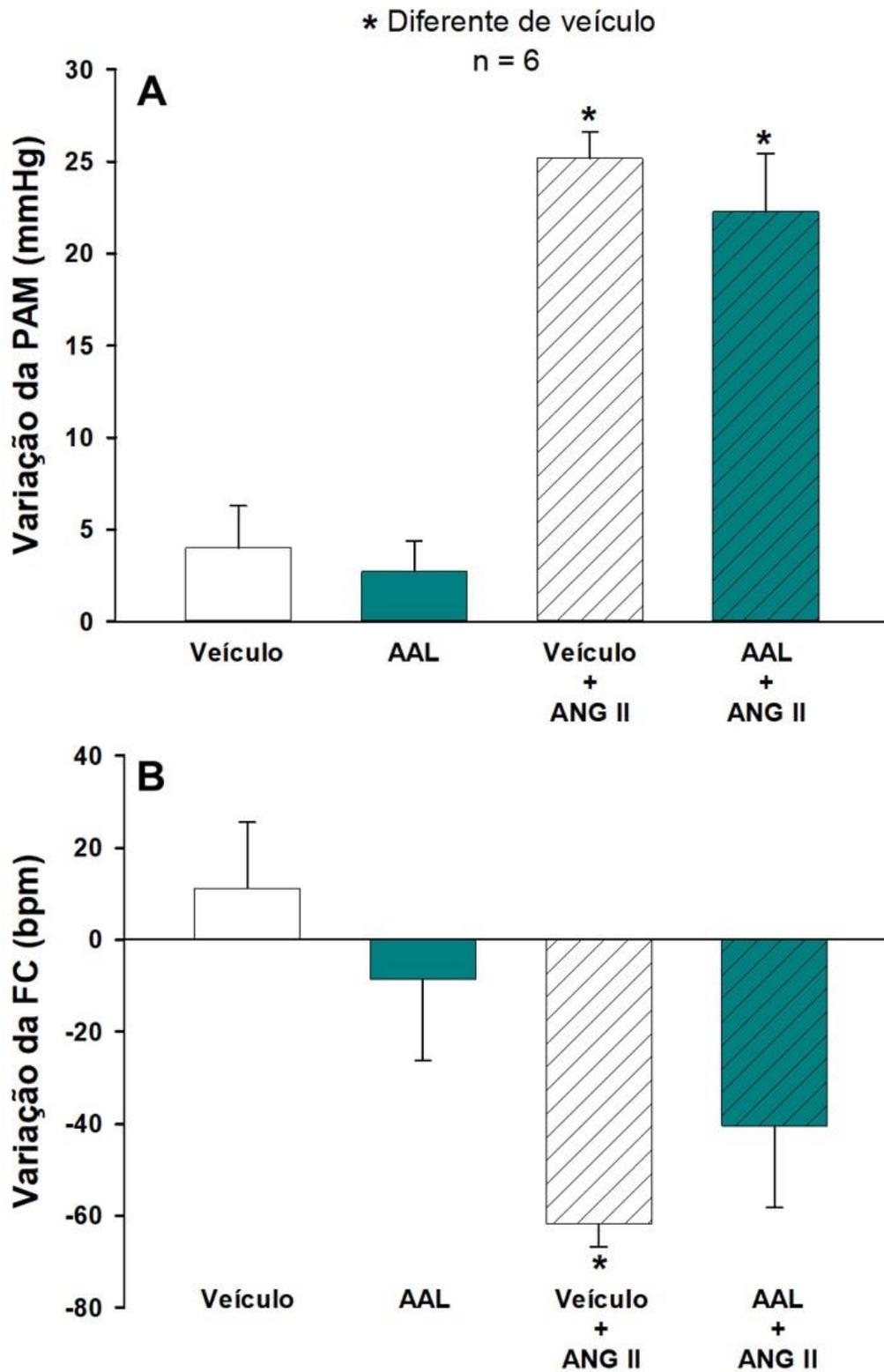


Figura 4. Variações da (A) PAM e (B) FC induzidas por ANG II (50 ng/0,1 ml) iv em ratos que receberam injeção ip de veículo ou AAL (60 mg/kg). Valores são representados como média  $\pm$  EPM; n = número de animais.

## 4 DISCUSSÃO

No presente estudo, mostramos que o MSM não altera a PAS de ratos normotensos. Por outro lado, diferente de resultados anteriores (QUEIROZ et al., 2012), observamos que a administração oral de AAL por 14 dias apresentou discreto efeito hipotensor em animais normotensos. Além disso, mostramos que o AAL ip não alterou a resposta pressora induzida pela administração iv de ANG II.

Estudo anterior mostrou que, em humanos, a administração diária de 6 g de MSM por 12 semanas reduziu a dor e aumentou o desempenho físico em indivíduos com osteoartrite (KIM et al., 2006). Posteriormente, demonstrou-se que o consumo de 6 g de MSM por longo período (16 semanas) não altera peso corporal e as funções hepática e renal, sugerindo que a formulação utilizada no estudo não apresentava toxicidade (CRAWFORD et al., 2019). O exercício físico agudo induz um aumento do estresse oxidativo analisado através dos marcadores malondialdeído (MDA) e razão da concentração plasmática de glutathiona oxidada/glutathiona reduzida (razão GSH/GSSG) (NAKHOSTIN-ROOHI et al., 2011). O consumo prévio de MSM (50 mg/kg via oral por 10 dias) foi capaz de prevenir, em análises de amostras sanguíneas, o estresse oxidativo e inclusive aumentou os níveis de GSH, confirmando o efeito antioxidante do MSM (NAKHOSTIN-ROOHI et al., 2011). Resultados semelhantes foram obtidos em estudos com animais, uma vez que o MSM inibiu o estresse oxidativo e a inflamação em modelos animais de úlcera gástrica (AMIRSHAHROKHI; KHALILI, 2017), lesão hepática e pulmonar (AMIRSHAHROKHI; BOHLOOLI, 2013), síndrome metabólica (SOUSA-LIMA et al., 2016) e pancreatite (VELUSAMY; TAMIZHSELVI, 2018). O único estudo diretamente relacionado ao sistema cardiovascular, foi realizado no modelo de hipertensão pulmonar induzida por monocrotalina, um alcaloide pirrolizidínico com toxicidade seletiva para os vasos pulmonares, em ratos (MOHAMMADI et al., 2012). Com a dose de 200 mg/kg de MSM, os autores observaram redução da PAS no ventrículo direito, dos níveis de MDA, bem como retorno da razão GSH/GSSG aos níveis observados em ratos controle não hipertensos (MOHAMMADI et al., 2012). Apesar dessas inúmeras evidências da ação antioxidante do MSM, no presente estudo, não observamos efeito do tratamento com MSM (60 mg/kg) por 14 dias sobre a PAS de ratos normotensos. Curiosamente, o MSM parece até bloquear o efeito hipotensor do AAL e não podemos descartar uma possível interação físico-química entre os fármacos. Futuros experimentos poderão determinar os marcadores de estresse oxidativo nesses animais e correlacionar com os achados cardiovasculares.

O AAL possui ação antioxidante bem descrita na literatura, sendo considerado uma molécula interessante para o tratamento de doenças crônicas (BIEWENGA; DEJONG; BAST, 1994; HANDELMAN et al., 1994; PARK et al., 2014; SHAY et al., 2009; SMITH et al., 2004; WOLLIN; JONES, 2003). Estudos anteriores já demonstraram atenuação de respostas deletérias em modelos de síndrome metabólica (MIDAOUI et al., 2019; MIDAOUI; DE CHAMPLAIN, 2002; SZTOLSZTENER; HODUN; CHABOWSKI, 2022), bem como prevenção do aumento da PA em diversos modelos animais de hipertensão, como SHR (MARTINELLI et al., 2021; VASDEV et al., 2003), sobrecarga de sal na dieta (HUANG; JIN; YU, 2017; SU et al., 2016) e hipertensão renovascular 2R1C (QUEIROZ et al., 2012), estando essas resposta sempre associadas à redução do estresse oxidativo.

O estresse oxidativo é caracterizado pelo excesso de EROs ou pela redução da capacidade de defesa antioxidante do organismo, ou seja, há um desbalanço entre os fatores oxidantes/antioxidantes. As EROs parecem ter um papel na regulação da função endotelial e, em situação de aumento da formação desses radicais livres, ocorre a aumento da contratilidade vascular, podendo levar à hipertensão (ENDEMANN; SCHIFFRIN, 2004). Alguns estudos sugerem que o estiramento do vaso pela onda de pressão de pulso é capaz de induzir a formação de EROs no endotélio (KRZEMIŃSKA et al., 2022; PARAVICINI; TOUYZ, 2006). A hipertensão, humana ou induzida experimentalmente, está associada com alterações na vasodilatação dependente de endotélio (HEGDE et al., 1998; TADDEI et al., 1993). Ainda, inúmeros fatores, incluindo a produção excessiva de citocinas inflamatórias, EROs e lipoproteínas pró-aterogênicas, contribuem para a disfunção das células endoteliais, impedindo seu importante papel no relaxamento arterial através da liberação de óxido nítrico (NO) (RAFIEIAN-KOPAEI; BARADARAN; RAFIEIAN, 2013). O NO é rapidamente degradado pelas EROs, especialmente pelo  $O_2^{\cdot-}$ , e, portanto, a produção aumentada de EROs pode exacerbar a disfunção endotelial (DIJKHORST-OEI et al., 1999). Sabe-se que a hipertensão humana está associada com redução na biodisponibilidade de NO e aumento no estresse oxidativo (TOUYZ, 2004). Esse mecanismo pode explicar o efeito hipotensor, mesmo em animais normotensos, observado no presente estudo com o tratamento crônico com AAL.

Estudo prévio da literatura demonstrou que o tratamento crônico com AAL por via intragástrica reduz a PAM e aumenta a sensibilidade do barorreflexo em ratos com hipertensão renovascular 2R1C (QUEIROZ et al., 2012). Os autores ainda mostram que o AAL não altera a PAM em animais normotensos (QUEIROZ et al., 2012). Por outro lado, há um relato na literatura de efeito hipotensor 50 minutos após administração única do AAL (DUDEK et al., 2016). No presente estudo, a administração aguda de AAL não foi capaz de alterar a PAM em

ratos normotensos; entretanto, o tratamento crônico por 14 dias reduziu a PAS. Essa diferença de resultado pode ser explicada pela metodologia de registro da PA, visto que registramos apenas a PAS dos ratos tratamento com AAL por 14 dias. Futuros experimentos poderão investigar os valores sistólicos e diastólicos da PA e explicar a diferença de respostas observadas entre esses estudos.

A ativação do SRA estimula a produção de EROs nos vasos sanguíneos, coração e rins, estruturas importantes para a regulação da PA (GRIENGLING et al., 1994; HANNKEN et al., 1998; NAKAMURA et al., 1998). A formação de EROs, embora muito associada a processos patológicos, parece também participar dos mecanismos intracelulares de sinalização em processos fisiológicos. A superexpressão da SOD nos órgãos circunventriculares, através da transfecção por adenovírus em camundongos, reduz as respostas dipsogênica e pressora induzidas por ativação de mecanismos angiotensinérgicos centrais, mostrando que respostas induzidas por ANG II são mediadas pela produção de  $O_2^{\cdot-}$  (ZIMMERMAN et al., 2002; ZIMMERMAN; DAVISSON, 2004). A resposta pressora induzida por ANG II ainda pode ser bloqueada pela inibição da catalase, novamente mostrando que há formação de EROs após administração de ANG II (LAUAR et al., 2010). Dessa forma, nos pareceu interessante investigar se um composto com ação antioxidante, o AAL, reduziria a resposta pressora induzida pela ANG II de forma aguda. Entretanto, no presente estudo não observamos alteração do aumento da PA e bradicardia reflexa induzida pela administração iv de ANG II em animais que receberam previamente AAL. Dessa forma, sugerimos que a resposta hipotensora do AAL não parece ser por modificação da sinalização angiotensinérgica periférica basal. Experimentos posteriores poderão testar o envolvimento de mecanismos angiotensinérgicos centrais nessa resposta.

## 5 CONCLUSÃO

Portanto, o presente estudo mostra que o MSM não possui efeito sobre a pressão arterial. O AAL, por sua vez, tem discreto efeito hipotensor quando administrado a longo prazo. Os resultados ainda sugerem que essa resposta hipotensora do AAL não parece estar relacionada à interferência aguda nos mecanismos angiotensinérgicos periféricos. Futuros experimentos são necessários para melhor explorar a importância das EROs e os mecanismos envolvidos na resposta hipotensora induzida pela administração crônica de AAL em animais normotensos.

## REFERÊNCIAS

- AMIRSHAHROKHI, K.; BOHLOOLI, S. Effect of methylsulfonylmethane on paraquat-induced acute lung and liver injury in mice. **Inflammation**, v. 36, n. 5, p. 1111–21, out. 2013.
- AMIRSHAHROKHI, K.; KHALILI, A. R. Methylsulfonylmethane is effective against gastric mucosal injury. **Eur J Pharmacol**, v. 811, p. 240–248, 15 set. 2017.
- BARADARAN, A.; NASRI, H.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. **J Res Med Sci**, v. 19, n. 4, p. 358–67, abr. 2014.
- BIEWENGA, G. P.; DEJONG, J.; BAST, A. Lipoic acid favors thiolsulfinate formation after hypochlorous acid scavenging: a study with lipoic acid derivatives. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 312, n. 1, p. 114–120, 1994.
- BUTAWAN, M.; BENJAMIN, R. L.; BLOOMER, R. J. Methylsulfonylmethane: Applications and Safety of a Novel Dietary Supplement. **Nutrients**, v. 9, n. 3, 16 mar. 2017.
- CHENG, W. H. et al. Angiotensin II inhibits neuronal nitric oxide synthase activation through the ERK1/2-RSK signaling pathway to modulate central control of blood pressure. **Circ Res**, v. 106, n. 4, p. 788–95, 5 mar. 2010.
- COLOMBARI, D. S. A. et al. Effect of furosemide treatment on the central and peripheral pressor responses to cholinergic and adrenergic agonists, angiotensin II, hypertonic solution and vasopressin. **Neurosci Lett**, v. 143, n. 1–2, p. 255–8, 31 ago. 1992.
- CRAWFORD, P. et al. Methylsulfonylmethane for treatment of low back pain: A safety analysis of a randomized, controlled trial. **Complementary therapies in medicine**, v. 45, p. 85–88, 2019.
- DENEKE, S. M. Thiol-based antioxidants. **Current topics in cellular regulation**, v. 36, p. 151–180, 2001.
- DIJKHORST-OEI, L. T. et al. Acute simultaneous stimulation of nitric oxide and oxygen radicals by angiotensin II in humans in vivo. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 33, n. 3, p. 420–4, mar. 1999.
- DUDEK, M. et al. Hypotensive effect of alpha-lipoic acid after a single administration in rats. **Anatolian journal of cardiology**, v. 16, n. 5, p. 306, 2016.
- ENDEMANN, D. H.; SCHIFFRIN, E. L. Nitric oxide, oxidative excess, and vascular complications of diabetes mellitus. **Current hypertension reports**, v. 6, n. 2, p. 85–89, 2004.
- FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol Rev**, v. 78, n. 3, p. 583–686, jul. 1998.
- GRIENDLING, K. K. et al. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. **Circulation research**, v. 74, n. 6, p. 1141–1148, 1994.

HANDELMAN, G. J. et al.  $\alpha$ -Lipoic acid reduction by mammalian cells to the dithiol form, and release into the culture medium. **Biochemical pharmacology**, v. 47, n. 10, p. 1725–1730, 1994.

HANNKEN, T. et al. Angiotensin II-mediated expression of p27Kip1 and induction of cellular hypertrophy in renal tubular cells depend on the generation of oxygen radicals. **Kidney international**, v. 54, n. 6, p. 1923–1933, 1998.

HEGDE, L. G. et al. Alterations in the vasoreactivity of hypertensive rat aortic rings: role of nitric oxide and superoxide radicals. **Clin Exp Hypertens**, v. 20, n. 8, p. 885–901, nov. 1998.

HIGGINS, G. C. et al. Oxidative stress: emerging mitochondrial and cellular themes and variations in neuronal injury. **Journal of alzheimer's disease**, v. 20, n. s2, p. S453–S473, 2010.

HUANG, Y.-P.; JIN, H.-Y.; YU, H.-P. Inhibitory effects of alpha-lipoic acid on oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla in rats with salt-induced hypertension. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 39, n. 2, p. 430–436, 2017.

JOHREN, O.; INAGAMI, T.; SAAVEDRA, J. M. AT<sub>1A</sub>, AT<sub>1B</sub>, and AT<sub>2</sub> angiotensin II receptor subtype gene expression in rat brain. **Neuroreport**, v. 6, n. 18, p. 2549–52, 15 dez. 1995.

KIM, L. S. et al. Efficacy of methylsulfonylmethane (MSM) in osteoarthritis pain of the knee: a pilot clinical trial. **Osteoarthritis Cartilage**, v. 14, n. 3, p. 286–94, mar. 2006.

KRZEMIŃSKA, J. et al. Arterial Hypertension—Oxidative Stress and Inflammation. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, p. 172, 2022.

LAUAR, M. R. et al. Inhibition of central angiotensin II-induced pressor responses by hydrogen peroxide. **Neuroscience**, v. 171, n. 2, p. 524–30, 1 dez. 2010.

LAUAR, M. R. et al. Anti-hypertensive effect of hydrogen peroxide acting centrally. **Hypertension Research**, v. 43, n. 11, p. 1192–1203, 2020.

LENKEI, Z. et al. Expression of angiotensin type-1 (AT<sub>1</sub>) and type-2 (AT<sub>2</sub>) receptor mRNAs in the adult rat brain: a functional neuroanatomical review. **Front Neuroendocrinol**, v. 18, n. 4, p. 383–439, out. 1997.

LENKEI, Z.; CORVOL, P.; LLORENS-CORTES, C. The angiotensin receptor subtype AT<sub>1A</sub> predominates in rat forebrain areas involved in blood pressure, body fluid homeostasis and neuroendocrine control. **Molecular Brain Research**, v. 30, n. 1, p. 53–60, 1 maio 1995.

LOUHELAINEN, M. et al. Lipoic acid supplementation prevents cyclosporine-induced hypertension and nephrotoxicity in spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**, v. 24, n. 5, p. 947–956, 2006.

MARTINELLI, I. et al. Antioxidant properties of alpha-lipoic (thioctic) acid treatment on renal and heart parenchyma in a rat model of hypertension. **Antioxidants**, v. 10, n. 7, p. 1006, 2021.

- MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions: I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. **Journal of Biological Chemistry**, v. 244, n. 22, p. 6056–6063, 1969.
- MIDAOU, A. E. et al. Beneficial effects of alpha-lipoic acid on hypertension, visceral obesity, UCP-1 expression and oxidative stress in Zucker diabetic fatty rats. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 648, 2019.
- MIDAOU, A. E.; DE CHAMPLAIN, J. Prevention of hypertension, insulin resistance, and oxidative stress by  $\alpha$ -lipoic acid. **Hypertension**, v. 39, n. 2, p. 303–307, 2002.
- MOHAMMADI, S. et al. Protective effects of methylsulfonylmethane on hemodynamics and oxidative stress in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. **Adv Pharmacol Sci**, v. 2012, p. 507278, 2012.
- NAKAMURA, K. et al. Inhibitory effects of antioxidants on neonatal rat cardiac myocyte hypertrophy induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  and angiotensin II. **Circulation**, v. 98, n. 8, p. 794–799, 1998.
- NAKHOSTIN-ROOHI, B. et al. Effect of chronic supplementation with methylsulfonylmethane on oxidative stress following acute exercise in untrained healthy men. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, n. 10, p. 1290–1294, 2011.
- PANIERI, E.; SANTORO, M. ROS homeostasis and metabolism: a dangerous liaison in cancer cells. *Cell Death Dis.* 2016; 7: e2253. 2016.
- PARAVICINI, T. M.; TOUYZ, R. M. Redox signaling in hypertension. **Cardiovascular research**, v. 71, n. 2, p. 247–258, 2006.
- PARK, S. et al. Physiological effect and therapeutic application of alpha lipoic acid. **Current medicinal chemistry**, v. 21, n. 32, p. 3636–3645, 2014.
- PHILLIPS, M. I.; SUMNERS, C. Angiotensin II in central nervous system physiology. **Regul Pept**, v. 78, n. 1–3, p. 1–11, 30 nov. 1998.
- QUEIROZ, T. M. et al.  $\alpha$ -lipoic acid reduces hypertension and increases baroreflex sensitivity in renovascular hypertensive rats. **Molecules**, v. 17, n. 11, p. 13357–13367, 2012.
- RAFIEIAN-KOPAEI, M.; BARADARAN, A.; RAFIEIAN, M. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. **J Nephrothol**, v. 2, n. 2, p. 152–3, abr. 2013.
- RAJAGOPALAN, S. et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. **J Clin Invest**, v. 97, n. 8, p. 1916–23, 15 abr. 1996.
- SHAY, K. P. et al. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1790, n. 10, p. 1149–1160, 2009.
- SMITH, A. R. et al. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. **Current medicinal chemistry**, v. 11, n. 9, p. 1135–1146, 2004.

SOUSA-LIMA, I. et al. Methylsulfonylmethane (MSM), an organosulfur compound, is effective against obesity-induced metabolic disorders in mice. **Metabolism**, v. 65, n. 10, p. 1508–21, out. 2016.

STECKELINGS, U. et al. Role of brain angiotensin in cardiovascular regulation. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 19 Suppl 6, p. S72-9, 1992.

ST-LOUIS, R. et al. Reactive oxygen species are required for the hypothalamic osmoregulatory response. **Endocrinology**, v. 153, n. 3, p. 1317–29, mar. 2012.

SU, Q. et al. Alpha lipoic acid supplementation attenuates reactive oxygen species in hypothalamic paraventricular nucleus and sympathoexcitation in high salt-induced hypertension. **Toxicology letters**, v. 241, p. 152–158, 2016.

SZTOLSZTENER, K.; HODUN, K.; CHABOWSKI, A.  $\alpha$ -Lipoic acid ameliorates inflammation state and oxidative stress by reducing the content of bioactive lipid derivatives in the left ventricle of rats fed a high-fat diet. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, p. 166440, 2022.

TADDEI, S. et al. Vasodilation to acetylcholine in primary and secondary forms of human hypertension. **Hypertension**, v. 21, n. 6 Pt 2, p. 929–33, jun. 1993.

TAYLOR, K. L.; ZIEGLER, D. M. Studies on substrate specificity of the hog liver flavin-containing monooxygenase: anionic organic sulfur compounds. **Biochemical pharmacology**, v. 36, n. 1, p. 141–146, 1987.

THUNHORST, R. L.; BELTZ, T. G.; JOHNSON, A. K. Drinking and arterial blood pressure responses to ANG II in young and old rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 299, n. 5, p. R1135-41, nov. 2010.

TOUYZ, R. M. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? **Hypertension**, v. 44, n. 3, p. 248–52, set. 2004.

VASDEV, S. et al. Salt-induced hypertension in WKY rats: prevention by  $\alpha$ -lipoic acid supplementation. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 254, n. 1, p. 319–326, 2003.

VELUSAMY, R. K.; TAMIZHSELVI, R. Protective effect of methylsulfonylmethane in caerulein-induced acute pancreatitis and associated lung injury in mice. **J Pharm Pharmacol**, v. 70, n. 9, p. 1188–1199, set. 2018.

WOLLIN, S. D.; JONES, P. J.  $\alpha$ -Lipoic acid and cardiovascular disease. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 11, p. 3327–3330, 2003.

ZIMMERMAN, M. C. et al. Superoxide mediates the actions of angiotensin II in the central nervous system. **Circ Res**, v. 91, n. 11, p. 1038–45, 29 nov. 2002.

ZIMMERMAN, M. C.; DAVISSON, R. L. Redox signaling in central neural regulation of cardiovascular function. **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 84, n. 2–3, p. 125–149, 2004.