



# EFEITO ANTI-HIPERTENSIVO DO CARVACROL ENVOLVE REDUÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA EM RATOS SUBMETIDOS AO TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO

## ARTIGO ORIGINAL

SILVA, Daiane Pereira da<sup>1</sup>, MOURA, Jhônata Costa<sup>2</sup>, COSTA, Vicenilma de Andrade Martins<sup>3</sup>, CARVALHO, Rafael Cardoso<sup>4</sup>, MENDES, Thiago Teixeira<sup>5</sup>, DIAS, Carlos José Moraes<sup>6</sup>, FRANÇA, Lucas Martins<sup>7</sup>, PAES, Antonio Marcus de Andrade<sup>8</sup>, BORGES, Marilene Oliveira da Rocha<sup>9</sup>, BORGES, Antonio Carlos Romão<sup>10</sup>, MOSTARDA, Cristiano Teixeira<sup>11</sup>, COSTA, Herikson Araujo<sup>12</sup>, RIBEIRO, Rachel Melo<sup>13</sup>

SILVA, Daiane Pereira da *et al.* **Efeito anti-hipertensivo do carvacrol envolve redução dos níveis séricos da enzima conversora de angiotensina em ratos submetidos ao treinamento físico aeróbio.** Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ano 09, Ed. 03, Vol. 02, pp. 05-24. Março 2024. ISSN: 2448-0959, Link de acesso: <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/educacao-fisica/efeito-anti-hipertensivo>, DOI:

10.32749/nucleodoconhecimento.com.br/educacao-fisica/efeito-anti-hipertensivo

## RESUMO

**Introdução:** O presente estudo foi realizado para investigar os efeitos do carvacrol sobre parâmetros hemodinâmicos, lipídicos e inibição da Enzima Conversora de Angiotensina em animais submetidos a treinamento físico aeróbio. **Métodos:** Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos: Wistar- controle normotenso tratado com sorbitol; SHR- controle hipertenso tratado com sorbitol; SHR- tratado com losartana 50mg/kg (Los -50); SHR- tratado com Carvacrol 20 mg/kg (Carv-20); SHR- treinado com exercício aeróbio 60 minutos (Exer); SHR- tratado com Carvacrol (Exercarv) + 60 minutos de exercício aeróbio. O tratamento consistiu em quatro semanas com monitoramento de peso, consumo de ração, frequência cardíaca, pressão arterial sistólica, diastólica e média. Posterior ao tratamento, foram realizadas dosagens bioquímicas para parâmetros renais, hepáticos, lipídicos e dosagens séricas de ECA I. Foram analisadas reduções significativas nos níveis pressóricos dos animais hipertensos, após o protocolo de intervenção. O grupo Exercarv, apresentou



maiores reduções da PA, quando comparado aos demais grupos, apresentando valores pressóricos de PAS  $122,0 \pm 3,8$  mmHg, PAD  $97 \pm 3,0$  mmHg, PAM  $105,5 \pm 2,3$  mmHg. Ainda, o grupo ExerCarv ocasionou reduções nos níveis de TG, CT, VLDL, TG/HDL e CT/HDL assim como, nos níveis de ureia e AST. **Resultados:** O procedimento isolado com carvacrol, assim como sua combinação com treinamento físico aeróbio, teve capacidade de reduzir atividade da ECA I comparando ao grupo SHR com  $p < 0,001$ . **Considerações finais:** Um mês de tratamento com carvacrol combinado com exercício físico aeróbio apresentaram efeito antihipertensivo, relacionado a inibição da ECA I. Além disso, o tratamento melhorou os parâmetros renais, hepáticos e lipídicos.

Palavras-chave: Carvacrol, Exercício aeróbio, Hipertensão.

## 1. INTRODUÇÃO

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é caracterizada como uma doença crônica e multifatorial conhecida por manifestar níveis sustentados e elevados de Pressão Arterial (PA)<sup>1,2</sup>. A HAS está amplamente associada ao envelhecimento, hereditariedade, comportamentos sedentários, má alimentação, alcoolismo, podendo levar a distúrbios lipídicos e glicêmicos, aumentando o risco de doenças cardiovasculares.

Atualmente, existe um amplo arsenal terapêutico disponível para o tratamento da HAS e causas de risco cardiovasculares<sup>3</sup>. São medicamentos eficientes, porém apresentam diversos efeitos inotrópicos. Diante disso, novas alternativas terapêuticas estão sendo investigadas, como a utilização de plantas consideradas medicinais, bem como seus metabolitos secundários com potencial de tratar a HAS<sup>4,7</sup>. Entre os diversos estudos já reportados na literatura, há interesse em intensificar o uso do carvacrol<sup>5,6,8</sup>.

Entre as ações biológicas do carvacrol, destacam-se as propriedades antiinflamatória<sup>9</sup> e antioxidante<sup>10</sup>. No que se refere as propriedades sobre o sistema cardiovascular, foi possível observar efeito vasorelaxante e ação hipotensora em ratos<sup>11, 12</sup>.

Em relação as vias de controle da PA, vale ressaltar o Sistema Renina Angiotensina-Aldosterona (SRAA)<sup>13</sup>. Do SRAA destacam-se 1) A Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) capaz de modificar Angiotensina I (Ang I) em Angiotensina II (Ang



II); 2) A Ang II, é um peptídeo que estimula a vasoconstrição, podendo levar ao aumento da pressão arterial (PA) e 3) A Angiotensina 1-7 (Ang 1-7) é um agente que tem ação vasodilatadora e cardioprotetora, proporcionando redução da PA.

Nesse sentido, trabalhos anteriores desenvolvidos recentemente por nosso grupo de pesquisa, mostraram que a administração oral de carvacrol diariamente, associado ou não ao treinamento aeróbio em ratos espontaneamente hipertensos reduziu a PA,

sugerindo efeito anti-hipertensivo comparáveis a amlodipina e losartana, drogas empregadas como padrão de tratamento anti-hipertensivo, com resultados promissores sobre a expressão gênica dos receptores AT1 e MAS em tecido renal, apontando uma provável interação do carvacrol com o SRAA<sup>14, 15</sup>.

Associadamente à terapia medicamentosa, tem-se o treinamento físico aeróbio, o qual já é consenso na literatura os seus efeitos sobre a PA, agindo na prevenção e tratamento da HAS, modulando a atividade do SRAA, como demonstrado em vários estudos pré-clínicos<sup>3, 16, 18</sup> e estudos clínicos<sup>19, 20</sup>.

Adicionalmente, estudos mostram que o treinamento aeróbio pode induzir a mecanismos cardioprotetores e anti-hipertensivos associados a reduções na atividade da ECA I e nos níveis de Ang II<sup>21, 22</sup>, além de favorecer o crescimento da expressão de Ang 1-7<sup>23</sup>.

Diante do exposto, são relevantes estudos que abordam a ação do uso oral do arvacrol e sua combinação com treinamento físico aeróbio na HAS, bem como esclarecer seu efeito na modulação do SRAA. Desse modo, o trabalho atual faz parte da dissertação de Silva *et al.*<sup>35</sup>, que teve como objetivo avaliar o efeito da combinação do treinamento físico aeróbio e carvacrol sobre modulação do sistema renina angiotensina-aldosterona. Esses resultados são úteis para respaldar o carvacrol fitoquímico promissor como matéria prima na geração de novos medicamentos antihipertensivos.



## 2. MATERIAIS E MÉTODO

### 2.1 ANIMAIS E ASPECTOS ÉTICOS

Foram utilizados ratos machos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar e ratos espontaneamente hipertenso (SHR) com peso de 200 a 250 g. Os animais foram obtidos das colônias do Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão, onde os experimentos foram conduzidos. Todos os animais foram acomodados em gaiolas de polipropileno, providas de camas de maravalha e alojadas em estantes climatizadas. Os animais tiveram livre acesso a comida e água e a temperatura ambiente mantida ao redor de 22 °C, com ciclo de 12 h, claro e escuro. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal da Universidade Federal do Maranhão, sob protocolo 23115.004102/2019-21.

### 2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Antecedendo o início do experimento, todos os animais que seriam submetidos aos protocolos experimentais, Wistar (n=5) e SHR (n=25), passaram por um período de adaptação de 15 dias, passaram por processo de gavagem, contensor para aferição de PA caudal e esteira ergométrica. Ao fim do período de adaptação, os animais foram randomizados aleatoriamente em 6 grupos, cada grupo com 5 animais.

G1- Wistar- controle normotenso tratado com sorbitol (Wistar);

G2- SHR- controle hipertenso tratado com sorbitol (SHR-Veículo);

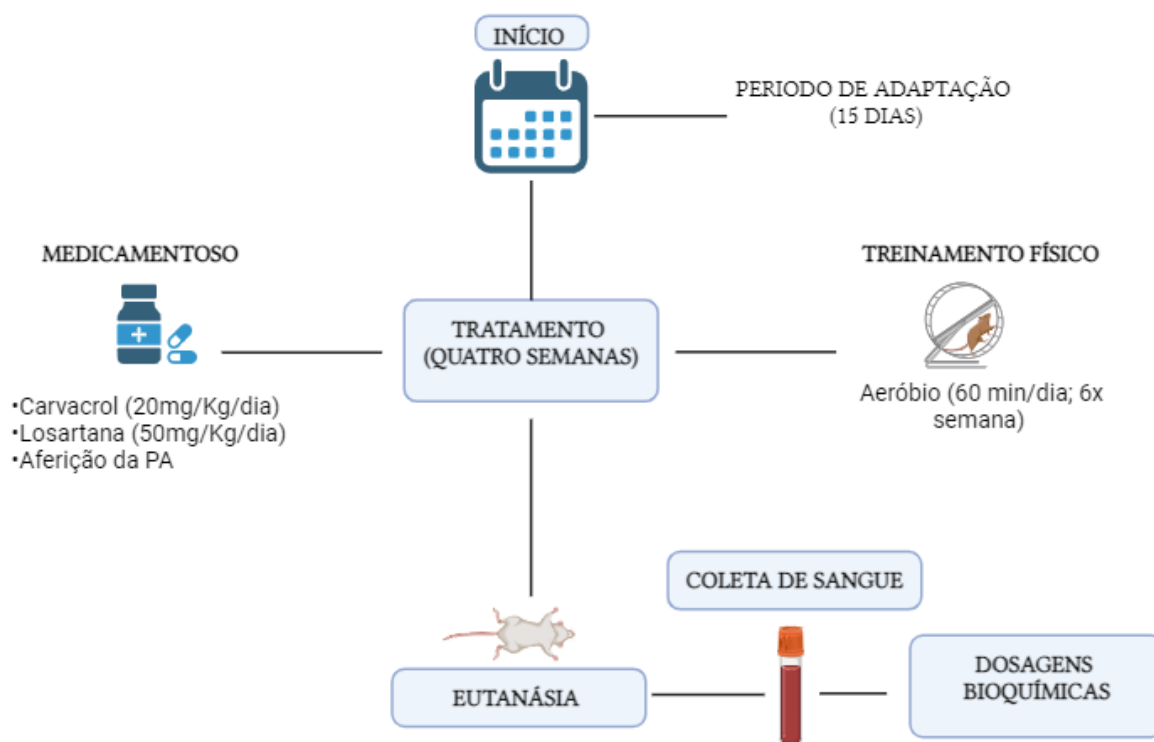
G3- SHR- tratado com losartana (Los-50mg);

G4- SHR- tratado com Carvacrol (Carv-20mg);

G5-SHR- treinado com exercício aeróbio 60 minutos (Exer-Veículo);

G6-SHR- tratado com Carvacrol (20mg/kg) + 60 minutos de exercício aeróbio (ExerCarv).

Figura 1: Desenho Experimental



Fonte: Autores, 2023.

Todas as considerações sobre o bem-estar dos animais foram levadas em observação, incluindo o monitoramento de esforços para minimizar o desconforto, bem como o uso de anestésicos cetamina e xilazina (via intraperitoneal) para eutanásia.

## 2.3 REAGENTES

Carvacrol (pureza  $\geq 98\%$ ), sorbitol e Losartan foram adquiridos da *Sigma Aldrich Corporation* (St. Louis, MO, EUA). Todos os outros produtos químicos eram de alto grau de pureza analítica (*MerckDarmstadt*, Índia).



## **2.4 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE RAÇÃO E EVOLUÇÃO PONDERAL**

Durante o procedimento experimental, o consumo de ração e evolução ponderal dos animais foram mensurados três vezes por semana, usando balança analítica, sendo essa verificação posterior à mensuração dos parâmetros hemodinâmicos e anterior à gavagem.

## **2.5 PROTOCOLO DE TREINAMENTO AERÓBIO**

Para o protocolo de treinamento físico, os animais passaram por um período de adaptação a esteira ergométrica (IMBRAMED), sem a utilização de choque elétrico, por sete dias. Nesse período, os animais corriam 30min/dia a 8m/min. No decimo dia, realizou-se um teste de esforço máximo em esteira ergométrica, começando a 5m/min, com zero grau de inclinação com incrementos de 3 m/min a cada 3 minutos até a Fadiga de cada animal. A fadiga foi definida e os teste interrompido quando os animais não aguentaram a corrida de acordo com velocidade da esteira<sup>24, 25</sup>. Apenas os animais dos grupos Exer e ExerCarv realizaram o programa de treinamento físico aeróbio, que consistiu em quatro semanas (6x/semana), com intensidade moderada (55 a 70% da velocidade máxima obtida no teste de esforço máximo), com duração de cinco minutos de aquecimento a 8m/min antes de cada sessão de treino e 55 minutos de treino, utilizando uma adaptação do programa de treinamento aeróbio contínuo descrito por Jakovljevic *et al.*<sup>26</sup>. A intensidade do treinamento era ajustada a cada semana sendo 10m/min na primeira semana, 12 m/min na segunda, 13 m/min na terceira e 15 m/min na quarta semana.

## **2.6 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA**

Para a aferição da PA utilizou-se o método indireto de pletismografia de pulso de calda. Onde obteve-se os registros de Frequência Cardíaca (FC), Pressão Arterial Média (PAM), Pressão Arterial Sistólica (PAS) e Pressão Arterial Diastólica (PAD). Para a mensuração da pressão arterial os animais foram aquecidos a 42 ° C por 3 min



em uma gaiola. Somente SHR com PAS > 170 mmHg foram selecionados para este estudo. A aferição da PA foi realizada durante as 4 semanas de tratamento.

## 2.7 AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS

Para avaliação dos parâmetros bioquímicos os animais foram submetidos a um jejum de 12 horas, onde valores glicêmicos foram mensurados a partir de um pequeno corte na cauda dos animais, utilizando-se um aparelho digital de glicose (*On Call® Plus*). Para os demais índices bioquímicos (AST; ALT; Ureia; Creatinina e perfil lipídico) utilizou-se o soro obtido através da coleta sanguínea da artéria abdominal em tubos sem anticoagulante e centrifugados a 3500 rpm por 10 minutos. As análises foram realizadas utilizando kits Labtest® (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil), através de aparelho semiautomático Bioplus (BIO-200®).

### 2.7.1 CONCENTRAÇÃO SÉRICAS ECA I

A ECA I foi avaliada com kit de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) para ratos (*Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute*) de acordo com as instruções do fabricante.

## 2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados no *software SigmaPlot 14.0.* e apresentados como média  $\pm$  erro padrão das médias e analisados por análise de variância (ANOVA), *oneway* e *two way* com *post hoc* de Tukey. Diferenças com  $P < 0,05$  indicaram significância estatística.

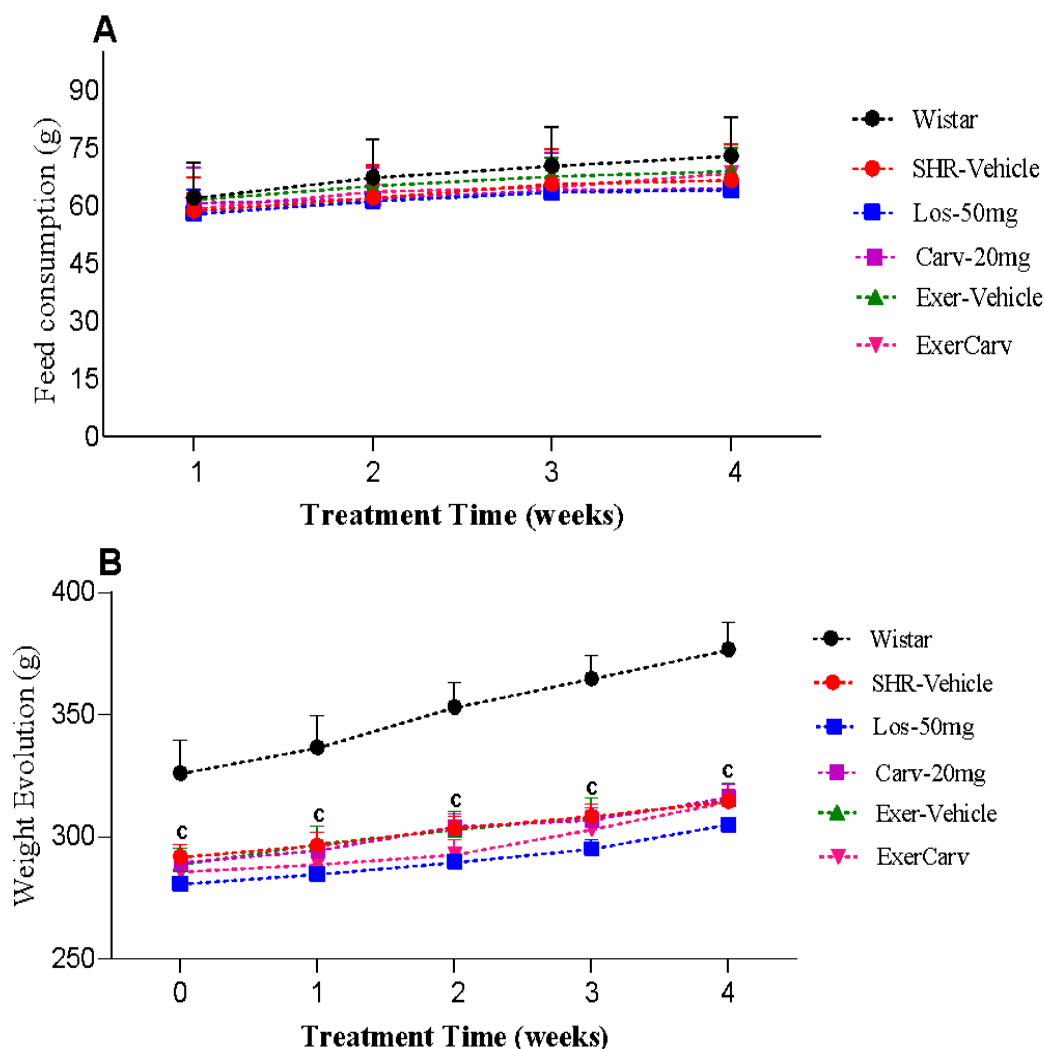
## 3. RESULTADOS

A figura 2 evidencia o consumo de ração dos animais, onde observa-se um consumo padrão entre os grupos em estudo no período de quatro semanas de intervenções. Na figura 2 B, observa-se a evolução ponderal desses animais, onde evidencia-se um padrão semelhante de evolução ponderal entre os grupos SHR-Vehicle ( $303,7 \pm 9,5$  g), Los-50mg ( $291,1 \pm 9,0$  g), Carv-20mg ( $302,3 \pm 10,4$  g), Exer-Vehicle ( $302,5 \pm 11,5$  g).



g) e ExerCarv ( $297,0 \pm 12,3$  g), onde se é observado um ganho de peso corporal até a quarta semana de tratamento, diferindo apenas do grupo Wistar ( $353,3 \pm 21,8$  g). Diante disso, é possível evidenciar que o carvacrol semelhante a droga padrão anti-hipertensiva, losartana, não interferiu no consumo de ração e evolução ponderal desses animais, onde observa-se a mesma evolução para os grupos *Exer-Vehicle* e *ExerCarv*.

Figura 2: A administração do carvacrol por via oral combinado com treinamento físico aeróbio sobre consumo de ração e evolução ponderal



Fonte: Autores, 2023. Média  $\pm$  DP; A, valores do consumo de ração; B, valores da evolução ponderal; Wistar, grupo controle normotenso; SHR-Vehicle, grupo controle de hipertensão; Los-50mg, grupo





controle positivo tratado com Losartana; Carv-20mg, grupo tratado com Carvacrol; Exer-Vehicle, grupo tratado com exercícios; ExerCarv, grupo tratado com Exercício + Carvacrol; 0- repouso; 1-semana 1; 2-semana 2; 3-semana 3; 4-semana 4; c, comparação com o grupo Wistar; Two-way ANOVA,  $p \leq 0,05$ .

### 3.1 CARVACROL COMBINADO AO TREINAMENTO AERÓBIO SOBRE O DESEMPENHO FÍSICO

Em relação à comparação do desempenho físico, distância percorrida em metros (m) entre estágio basal e pós-treino em todos os grupos. É possível observar que o programa de treinamento físico utilizado, melhorou a capacidade de corrida, bem como aumentando a distância percorrida em metros para os animais dos grupos *Exer-Vehicle* (Momento basal  $315 \pm 13,4$  m, Pós-treino  $658,3 \pm 17,2$  m) e *ExerCarv* (Momento basal  $323,33 \pm 13,66$  m, Pós-treino  $660,33 \pm 32,87$  m).

### 3.2 CARVACROL COMBINADO A TREINAMENTO AERÓBIO SOBRE A FREQUÊNCIA CARDÍACA

Quando avaliado a intervenção farmacológica do carvacrol juntamente com a utilização do treinamento físico aeróbio durante quatro semanas, não evidenciou-se diferença significativa para FC entre os grupos Wistar ( $420 \pm 20$  bpm), SHR-Vehicle ( $409 \pm 115$  bpm), Los-50 mg ( $414 \pm 86$  bpm), Carv-20mg ( $442 \pm 113$  bpm), *Exer-Vehicle* ( $407 \pm 111$  bpm) e *ExerCarv* ( $419 \pm 109$  bpm).

### 3.3 EFEITO DA INTERVENÇÃO ORAL DO CARVACROL COMBINADO COM TREINAMENTO FÍSICO AERÓBIO SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL EM ANIMAIS SHR.

A Figura 3 revela o Efeito da intervenção oral do carvacrol combinado com treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial dos animais no decorrer de quatro semanas. Avaliando a PAS, observa-se que os ratos normotensos (Wistar) apresentaram média de  $139,3 \pm 7,9$  mmHg. Observou-se redução da PA a partir da primeira semana para o grupo *ExerCarv* ( $164,8 \pm 8,5$  mmHg) quando comparado ao grupo SHR-Vehicle



( $201,3 \pm 6,7$  mmHg), onde esse efeito perdurou até o 30º dia de tratamento. Além disso, o grupo *ExerCarv* apresentou magnitude de redução da PAS com valores pressóricos semelhantes ao grupo *Los-50 mg* ( $145,8 \pm 8,5$ ).

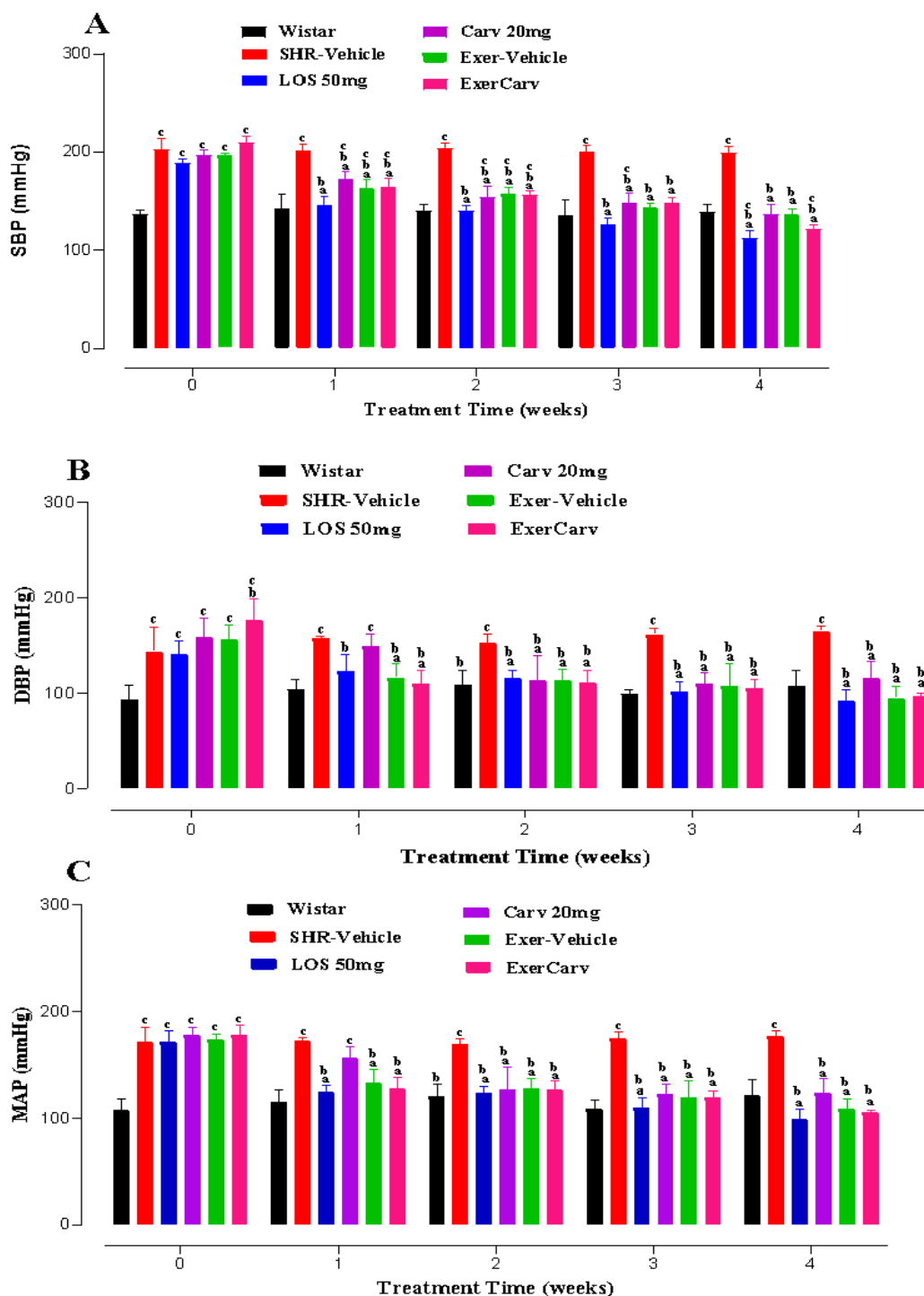
Para a PAD observou-se que o grupo *Wistar* apresentou valores pressóricos de  $107 \pm 16,3$  mmHg, onde o grupo *Exer-Vehicle* ( $116 \pm 14,6$  mmHg) e *ExerCarv* ( $110,2 \pm 13,3$  mmHg) apresentaram reduções significativas a partir da 1ª semana de tratamento.

Para os grupos *Carv-20mg* e *Los-50mg* obteve-se valores pressóricos de  $113,7 \pm 25,3$  mmHg e  $116,0 \pm 7,4$  mmHg, respectivamente a partir da segunda semana, apresentando efeito anti-hipertensivo acentuado no decorrer das quatro semanas em comparação ao grupo *SHR-Vehicle* ( $157,2 \pm 2,0$  mmHg).

Quando avaliada a PAM, observa-se que os animais *Wistar* (normotensos) apresentaram valores pressóricos de  $121,7 \pm 14,2$  mmHg. No que se refere a ação antihipertensiva evidencia-se a redução da pressão arterial desde a primeira semana para os grupos *Los-50mg* ( $99,3 \pm 9,0$  mmHg), *Exer-Vehicle* ( $108,5 \pm 9,3$  mmHg) e *ExerCarv* ( $105,5 \pm 2,3$  mmHg), enquanto o grupo *Carv-20mg* ( $123,2 \pm 14,2$  mmHg), apresentou redução a partir da segunda semana de tratamento quando comparado ao grupo *SHR-Vehicle* ( $176,5 \pm 5,5$  mmHg) no decorrer das quatro semanas de intervenção.

Em linhas gerais, os resultados obtidos para os parâmetros hemodinâmicos mostram que o grupo *ExerCarv* apresentou diferença significativa nos valores de pressão arterial desde a primeira semana de intervenção para PAS, PAD e PAM, enquanto o grupo *Carv-20 mg*, individualmente, favoreceu redução da PAD e PAM a partir da Segunda semana, o que sinaliza que o tratamento combinado (*ExerCarv*) é mais eficaz no controle da hipertensão, atingindo valores ótimos de PA, comparáveis aos valores já esperados e obtidos pelos animais normotensos e tratados com o medicamento anti-hipertensivo losartana.

Figura 3: Ação do tratamento oral com carvedilol combinado ao treinamento aeróbio sobre a pressão arterial de ratos SHR



Fonte: Autores, 2023. Média  $\pm$  DP; A, valores da pressão arterial sistólica; B, valores da pressão arterial diastólica; C, valores da pressão arterial média, Wistar, grupo controle normotenso; SHR-Vehicle, grupo

controle hipertensão; Los-50mg, grupo controle positivo tratado com Losartana; Carv-20mg, grupo tratado com Carvacrol; Exer-Vehicle, grupo tratado com exercícios; ExerCarv, grupo tratado Exercício + Carvacrol; 0- repouso; 1-semana 1; 2-semana 2; 3-semana 3; 4-semana 4; a, comparação tempo com repouso; b, comparação com o grupo SHR controle; c, comparação com o grupo wistar; Two-way ANOVA.

### 3.4 CARVACROL COMBINADO A EXERCÍCIO AERÓBIO SOBRE PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Na Tabela é possível observar os valores relacionados aos parâmetros bioquímicos expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A execução do tratamento por quatro semanas provocou reduções dos níveis de TG para os grupos Carv-20mg, Exer-Vehicle, ExerCarv. Em continuidade, evidenciou-se reduções significativas nos níveis de VLDL, TG/HDL, TC/HDL para os grupos Exer-Vehicle e ExerCarv quando comparados aos demais grupos. Somente o grupo ExerCarv apresentou diferença significativa para os parâmetros TC com decréscimos proeminentes.

No que se refere aos parâmetros da função renal e hepática, observou-se reduções nos níveis séricos de AST e ureia, sugerindo uma melhora na função renal e hepática nos grupos Los-50mg, Carv-20mg, Exer-Vehicle e ExerCarv. Não observou-se diferenças significativas para os níveis de ALT nos grupos avaliados.

Tabela 1: Efeito da administração oral do carvacrol combinado ao treinamento físico aeróbio sobre parâmetros bioquímicos séricos em animais SHR

	Wistar	SHR-Veículo	Los-50mg	Carv20mg	Exer-Veículo	ExerCarv
Glicose	83.40 $\pm$ 8.96	77.20 $\pm$ 5.17	78.80 $\pm$ 5.81	74.60 $\pm$ 4.16	76.40 $\pm$ 5.68	73.40 $\pm$ 2.30
TG	69.84 $\pm$ 12.66	80.20 $\pm$ 12.68	62.6 $\pm$ 14.36	60.2 $\pm$ 13.42 <sup>a</sup>	39.80 $\pm$ 3.83 <sup>a,b,c</sup>	38.2 $\pm$ 7.26 <sup>a,b,c</sup>
CT (mg/dl)	63.80 $\pm$ 16.66	53.20 $\pm$ 4.09	53.8 $\pm$ 5.07	53.60 $\pm$ 2.7	48.6 $\pm$ 3.78	48.0 $\pm$ 2.74 <sup>a</sup>
HDL (mg/dl)	25.42 $\pm$ 4.69	20.40 $\pm$ 2.19	21.60 $\pm$ 5.46	24.60 $\pm$ 6.47	26.80 $\pm$ 2.77	25.80 $\pm$ 3.56
LDL (mg/dl)	39.42 $\pm$ 15.23	32.28 $\pm$ 11.10	23.44 $\pm$ 4.73	36.64 $\pm$ 6.35	21.44 $\pm$ 2.46 <sup>b</sup>	23.26 $\pm$ 3.35
VLDL (mg/dl)	14.02 $\pm$ 2.58	16.08 $\pm$ 2.56	15.18 $\pm$ 4.43	12.22 $\pm$ 2.71	8.4 $\pm$ 0.65 <sup>a,b,c</sup>	7.74 $\pm$ 1.3 <sup>a,b,c</sup>
TG/HDL(mg/dl)	2.76 $\pm$ 0.24	3.94 $\pm$ 0.62	2.32 $\pm$ 0.54	2.65 $\pm$ 1.20	1.50 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	1.49 $\pm$ 0.25 <sup>a,b</sup>
CT/HDL(mg/dl)	2.48 $\pm$ 0.23	2.62 $\pm$ 0.15	2.19 $\pm$ 0.17	2.07 $\pm$ 0.30	1.83 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	1.89 $\pm$ 0.26 <sup>a,b</sup>
Ureia (mg/ml)	60.20 $\pm$ 13.10	61.26 $\pm$ 9.63	46.38 $\pm$ 7.78	48.12 $\pm$ 6.39	48.14 $\pm$ 4.87 <sup>a</sup>	49.32 $\pm$ 7.92 <sup>a</sup>
Creatinina(mg/ml)	0.78 $\pm$ 0.04	0.46 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	0.48 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.52 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.48 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.44 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
ALT (UL/I)	62.00 $\pm$ 6.20	68.58 $\pm$ 7.40	70.38 $\pm$ 19.76	60.16 $\pm$ 7.98	62.0 $\pm$ 2.75	61.96 $\pm$ 8.09
AST (UL/I)	126.80 $\pm$ 5.72	175.14 $\pm$ 4.14 <sup>b</sup>	162.20 $\pm$ 3.49 <sup>a,b</sup>	160.36 $\pm$ 6.36 <sup>a,b</sup>	158.7 $\pm$ 3.9 <sup>a,b</sup>	161.54 $\pm$ 4.25 <sup>a,b</sup>

Fonte: Autores, 2023. Média  $\pm$  DP; Wistar, grupo controle normotenso; SHR-Veículo, grupo controle de

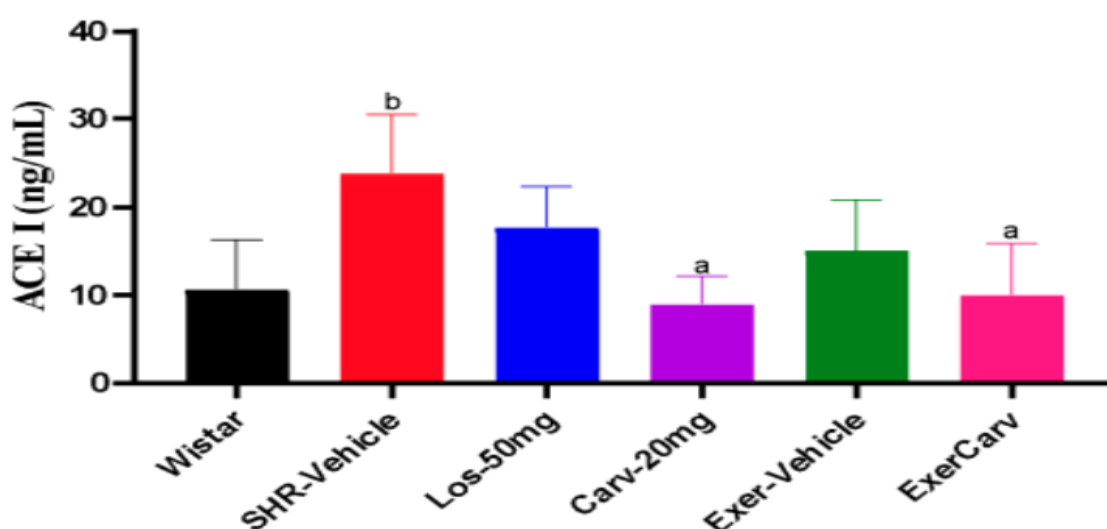
hipertensão; Los50mg, grupo controle positivo tratado com Losartana; Carv-20mg, grupo Carvacrol; Exer-Veículo, grupo de exercícios; *ExerCarv*, grupo Exercício + Carvacrol; a, comparação com o grupo SHR controle; b, comparação com o grupo wistar; c, comparação com o grupo Losartana; One Way ANOVA,  $p \leq 0.05$ .

### 3.5 CARVACROL COMBINADO AO TREINAMENTO AERÓBIO SOBRE A ECA I

Para o efeito da administração do carvacrol combinado ao treinamento aeróbico na atividade da ECA I, a figura 4 evidencia que o grupo SHR-Veículo apresentou aumento dos níveis plasmáticos dessa enzima ( $23,8 \pm 6,7$  ng/mL). Continuamente, tratamento isolado com carvacrol 20 mg/Kg/dia ( $9,0 \pm 3,1$  ng/mL) e o ExerCarv 20 mg/Kg/dia ( $10,0 \pm 5,8$  ng/mL), mostraram menor atividade da ECA I, com valores semelhantes aos animais Wistar.

Os resultados sugerem que ação anti-hipertensivo do carvacrol isolado, assim como sua combinação com exercício físico aeróbico possa envolver a inibição da ECA I, modulando assim o sistema renina-angiotensina- aldosterona.

Figura 4: Efeito da administração oral do carvacrol combinado ao treinamento aeróbico sobre os níveis séricos de ECA I



Fonte: Autores, 2023. Média  $\pm$  DP; Wistar, grupo controle normotenso; SHR-Veículo, grupo controle hipertensão; Los-50mg, grupo controle positivo tratado com Losartana; Carv-20mg, grupo Carvacrol;



Exer-Veículo, grupo de grupo SHR controle; b, comparação com o grupo *wistar*; One Way ANOVA,  $p \leq 0.05$ .

#### 4. DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta ineditismo em avaliar o efeito anti-hipertensivo do carvacrol em combinação com treinamento físico aeróbio sobre a modulação do Sistema renina-angiotensina-aldosterona na HAS em animais SHR, no período de quatro Semanas de tratamento. No que se refere aos resultados os mesmos evidenciam que a administração oral com carvacrol 20mg/Kg/dia juntamente ao treinamento físico aeróbio foi capaz de reduzir a PAS, PAD e PAM com valores similares aos animais normotensos, além de promover melhoras significativas sobre os marcadores renais, hepáticos e lipídico, bem como inibição significativa na ECA I, sem interferir no consumo de ração e evolução ponderal dos animais.

Com relação ao desempenho físico, observamos que somente os grupos ExerVeículo e *ExerCarv*, mantiveram um desempenho maior comparado com os outros grupos, isso já era de se esperar pois mostra que o treinamento físico aeróbio de quatro semanas foi eficaz e capaz de aumentar o desempenho físico aumentando a distância percorrida em metros. Assim, em relação a resposta hemodinâmica ao treinamento aeróbio, o protocolo adotado foi eficaz na normalização da PA de animais hipertensos.

Semelhante a nossos resultados, a literatura nos mostra que o exercício físico aeróbio é eficaz no controle e tratamento da HAS, controlando padrões hemodinâmicos, e demonstrando que esse controle pode ocorrer através da atividade do SRAA<sup>3, 17, 20, 22, 26</sup>. Dessa forma Azadpour *et al.*<sup>27</sup>, mostraram em seu estudo que o exercício físico aeróbio pode atuar na redução da atividade da ECA I e dos níveis de Ang II, levando assim a redução da PA.

Assim, em relação aos efeitos anti-hipertensivos exercidos pelo carvacrol, pesquisas demonstram que os monoterpenos promovem efeitos cardiovasculares por meio da combinação da atividade vasodilatadora, anti-inflamatória e antioxidante<sup>28</sup>. Nesse sentido, estudos na área da farmacologia desenvolvidos por Aydyn *et al.*<sup>11</sup> e Dantas *et al.*<sup>12</sup> examinaram a atividade hipotensora e anti-hipertensiva do carvacrol no modelo



de hipertensão induzida por L-NAME, porém, a administração do carvacrol ocorreu por via intravenosa e intraperitoneal, cujo mecanismo de ação proposto foi a inibição de canais de cálcio.

Costa *et al.*<sup>14</sup>, corroborando com os resultados aqui evidenciados, observouse que o uso do carvacrol 20 mg/Kg/dia por via oral associado ao treinamento aeróbico reduziu a pressão arterial e outros parâmetros cardiovasculares, sugerindo assim, um efeito anti-hipertensivo comparável a amlodipina, possivelmente por ação inibidora de influxo de cálcio pela membrana celular.

Corroborando com nossos achados, Dias *et al.*<sup>15</sup> aponta em seu estudo que 30 dias de tratamento com o carvacrol 20 mg/Kg por via oral, foi capaz de induzir efeito anti-hipertensivo associado a menor RVP, onde o carvacrol apresentou redução da PA a níveis comparáveis aos da droga anti-hipertensiva padrão (Losartana 50mg/Kg), e aumento na expressão dos receptores MAS no tecido renal. Esses achados colaboram com nosso estudo, onde observamos que quatro semanas de treinamento aeróbico combinado com administração oral do carvacrol foi possível reduzir a PA, apresentando valores semelhantes a droga padrão anti-hipertensiva Losartana 50mg/Kg/dia.

Outro resultado importante empregado a utilização do carvacrol, foi a capacidade de reduzir a atividade da ECA I, atingindo níveis comparáveis aos dos animais Wistar. Análogo a esses resultados, Alcaide-Hidalgo *et al.*<sup>34</sup>, evidenciaram em seu estudo que a utilização de peptídeos do extrato de azeite extravirgem apresentou atividade inibitória da ECA I e efeito anti-hipertensivo in vivo. Nesse sentido, em relação a essas análises, infere-se que o carvacrol é capaz de inibir a expressão da ECA I, verificando efeito antihipertensivo e interação com o SRAA.

Entende-se que, tanto o exercício físico aeróbico como sua combinação com o carvacrol é eficaz na redução da HAS. Esses achados colaboram com estudos que combinam exercício físico com outros medicamentos anti-hipertensivos. Corroborando assim, Tomas de Castro *et al.*<sup>29</sup> observaram durante oito semanas um protocolo de treinamento aeróbico combinado com bloqueadores do SRAA, tais como o captopril e losartana, indicando para uma melhor redução e normalização da PA.





No que se refere aos marcadores bioquímicos, foi evidenciado que a administração do carvacrol 20 mg/Kg/dia juntamente com treinamento físico aeróbio durante quatro semanas, reduziu os níveis séricos de TG, VLDL, CT, TG/HDL, CT/HDL, ureia e AST. Ademais, os resultados mostram que quatro semanas de treinamento físico aeróbio melhora a modulação lipídica independentemente do uso de carvacrol, estando de acordo com estudos já reportados na literatura que mostram eficácia na redução de parâmetros lipídicos e de síndromes metabólicas<sup>32, 33</sup>. Aristatile *et al.*<sup>30</sup>, demonstraram que a intervenção com carvacrol por 21 dias diminuiu os marcadores de lesão hepática, bilirrubina, AST, ALT e marcadores de VLDL, LDL, colesterol total e triglicerídeos. Kim *et al.*<sup>31</sup> também observaram efeito hepatoprotetora do carvacrol suplementados em camundongos, analisando reduções nos níveis lipídicos e hepáticos.

Em conjunto, nossos achados evidenciam que quatro semanas de treinamento físico aeróbio combinado com administração oral de carvacrol 20mg/kg/dia mostra ação anti-hipertensiva, possivelmente por inibição da ECA I modulando assim o SRAA, com melhoras nos marcadores lipídicos e da função hepática e renal.

## 5. CONCLUSÃO

O carvacrol 20mg/Kg/dia administrado por via oral combinado ao treinamento físico aeróbio por quatro semanas, proporcionou efeito anti-hipertensivo. A intervenção farmacológica com o monoterpeno em animais hipertensos reduziu significativamente os níveis séricos da ECA I. Além disso, a administração do carvacrol assim como sua combinação com treinamento aeróbio, proporcionou efeitos benéficos sobre os parâmetros renais, hepáticos e lipídicos.

## REFERENCIAS

1. Rosário TMd, Scala LCN, França GVAd, Pereira MRG, Jardim PCBVJAbdc. Prevalence, control and treatment of arterial hypertension in Nobres-MT. 2009;93:672-8.



2. Meira E, Fatima Kloster Ed, Kosak JM, Kolitski MF, Cutilaki VB, Mazur CEJlOlRdP. O Uso de Fitoterápicos na Redução e no Tratamento de Hipertensão Arterial Sistêmica. 2017;11(37):27-36.
3. Powers BG, L.; Balfe, L. Updates on the Treatment of Essential Hypertension: a summary of ahrq's comparative effectiveness review of angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin ii receptor blockers, and direct renin inhibitors. Journal Of Managed Care Pharmacy, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 1-14, out. 2011.
4. Tomazzoni MI, Negrelle RRB, Centa MdLJT, Contexto-Enfermagem. Popular phytotherapy: the instrumental search as therapy. 2006;15(1):115-21.
5. Rajput JD, Bagul SD, Pete UD, Zade CM, Padhye SB, Bendre RS. Perspectives on medicinal properties of natural phenolic monoterpenoids and their hybrids. Molecular diversity. 2018;22(1):225-45.
6. Melo FHC, Venâncio ET, De Sousa DP, Fonteles MMDF, De Vasconcelos SMM, Viana GSB, *et al.* Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. Fundamental & clinical pharmacology. 2010;24(4):437-43.
7. Samaha AA, Fawaz M, Salami A, Baydoun S, Eid AHJB. Antihypertensive indigenous Lebanese plants: ethnopharmacology and a clinical trial. Biomolecules, 2019;9(7):292.
8. Lima RA, Souza Saldanha Ld, Cavalcante FSA. Technical, Technological. A importância da taxonomia, fitoquímica e bioprospecção de espécies vegetais visando o combate e enfrentamento ao COVID-19. South American Journal of Basic Education, Technical and Technological, 2020;7(1):607-17.
9. Liu S, Song M, Yun W, Lee J, Kim H, Cho JJP. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. Poultry Science, 2019;98(5):2026-33.
10. Bellés M, Alonso V, Roncalés P, Beltrán JA. Sulfite-free lamb burger meat: antimicrobial and antioxidant properties of green tea and carvacrol. J Sci Food Agric., 2019;99(1):464 72.
11. Aydin Y, Kutlay Ö, Ari S, Duman S, Uzuner K, Aydin SJPM. Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. Planta Med., 2007;73(13):1365-71.
12. Dantas BPV, Alves QL, Assis KS, Ribeiro TP, Almeida MM, Vasconcelos AP, *et al.* Participation of the TRP channel in the cardiovascular effects induced by carvacrol in normotensive rat. Vascul Pharmacol., 2015;67:48-58.
13. Ren C-z, Yang Y-H, Sun J-c, Wu Z-T, Zhang R-W, Shen D, *et al.* Exercise training improves the altered renin-angiotensin system in the rostral ventrolateral medulla of hypertensive rats. Oxid Med Cell Longev. 2016;2016:7413963.



14. Costa HA, Dias CJM, Martins VdA, de Araujo SA, da Silva DP, Mendes VS, *et al.* Effect of treatment with carvedilol and aerobic training on cardiovascular function in spontaneously hypertensive rats. *Experimental Physiology*, 2021;106(4):891-901.
15. Dias CJ, Costa HA, Dias-Filho CAA, Ferreira AC, Rodrigues B, Irigoyen MC, *et al.* Carvedilol reduces blood pressure, arterial responsiveness and increases expression of MAS receptors in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.*, 2022;917:174717.
16. Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, Farquhar WB, Kelley GA, Ray CAJM, *et al.* American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. *Med Sci Sports Exerc.*, 2004;36(3):533-53.
17. Fernandes T, Magalhães FC, Roque FR, Phillips MI, Oliveira EMJH. Exercise training prevents the microvascular rarefaction in hypertension balancing angiogenic and apoptotic factors: role of microRNAs-16,-21, and-126. *Hypertension*, 2012;59(2):513-20.
18. Shah A, Oh Y-B, Lee SH, Lim JM, Kim SHJAJoP-H, Physiology C. Angiotensin-(1–7) attenuates hypertension in exercise-trained renal hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2012;302(11):H2372-H80.
19. Jones JM, Park J-J, Johnson J, Vizcaino D, Hand B, Ferrell R, *et al.* Renin-angiotensin system genes and exercise training-induced changes in sodium excretion in African American hypertensives. *Ethn Dis.*, 2006;16(3):666.
20. Magalhães DM, Nunes-Silva A, Rocha GC, Vaz LN, de Faria MHS, Vieira ELM, *et al.* Two protocols of aerobic exercise modulate the counter-regulatory axis of the renin-angiotensin system. *Heliyon.*, 2020;6(1):e03208.
21. Negrao CE, Middlekauff HRJJoAP. Exercise training in heart failure: reduction in angiotensin II, sympathetic nerve activity, and baroreflex control. *J Appl Physiol* (1985) 2008 Mar;104(3):577-8.
22. Kar S, Gao L, Zucker IHJJoAP. Exercise training normalizes ACE and ACE2 in the brain of rabbits with pacing-induced heart failure. *J Appl Physiol* (1985), 2010;108(4):923-32.
23. Filho AG, Ferreira AJ, Santos SHS, Neves SR, Silva Camargos ER, Becker LK, *et al.* Selective increase of angiotensin (1–7) and its receptor in hearts of spontaneously hypertensive rats subjected to physical training. *Exp Physiol.*, 2008;93(5):589-98.
24. Roque FR, Briones AM, García-Redondo AB, Galán M, Martínez-Revelles S, Avendaño MS, *et al.* Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. *Br J Pharmacol.*, 2013;168(3):686-703.



25. Rodrigues JA, Prímola-Gomes TN, Soares LL, Leal TF, Nóbrega C, Pedrosa DL, *et al.* Physical exercise and regulation of intracellular calcium in cardiomyocytes of hypertensive rats. *Arq Bras Cardiol.*, 2018;111:172-9.
26. Jakovljevic B, Nikolic Turnic T, Jeremic N, Jeremic J, Bradic J, Ravic M, *et al.* The impact of aerobic and anaerobic training regimes on blood pressure in normotensive and hypertensive rats: focus on redox changes. *Mol Cell Biochem.*, 2019;454(1):111-21.
27. Azadpour N, Tartibian B, Kosar SNJM. Effects of aerobic exercise training on ACE and ADRB2 gene expression, plasma angiotensin II level, and flow-mediated dilation: a study on obese postmenopausal women with prehypertension. *Menopause*, 2017;24(3):269-77.
28. Santos MR, Moreira FV, Fraga BP, Souza DPd, Bonjardim LR, Quintans-Junior LJ. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. *Rev. bras. farmacogn.*, 2011;21(4):764-71.
29. Tomaz de Castro QJ, Araujo CM, Watai PY, de Castro e Silva SS, de Lima WG, Becker LK, *et al.* Effects of physical exercise combined with captopril or losartan on left ventricular hypertrophy of hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens.*, 2021;43(6):536-49.
30. Aristatile B, Al-Numair KS, Veeramanian C, Pugalandi KV. Antihyperlipidemic effect of carvacrol on D-galactosamine induced hepatotoxic rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.*, 2009;20(1):15-28.
31. Kim E, Choi Y, Jang J, Park T. Carvacrol protects against hepatic steatosis in mice fed a high-fat diet by enhancing SIRT1-AMPK signaling. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 2013;2013.
32. Conti FF, Brito JdO, Bernardes N, Dias DdS, Malfitano C, Morris M, *et al.* Positive effect of combined exercise training in a model of metabolic syndrome and menopause: autonomic, inflammatory, and oxidative stress evaluations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 2015;309(12):R1532-R9.
33. Kazeminasab F, Marandi M, Ghaedi K, Esfarjani F, Moshtaghian J. Effects of a 4-week aerobic exercise on lipid profile and expression of LXR $\alpha$  in rat liver. *Rat Liver. Cell J.*, 2017;19(1):45.
34. Alcaide-Hidalgo, JM *et al.* Efeitos anti-hipertensivos dos peptídeos de baixo peso molecular do azeite virgem (não filtrado) com atividade inibitória da ECA em ratos espontaneamente hipertensos. *Nutrientes*, v. 12, n. 1, pág. 271, 2020.
35. Silva, DP *et al.* Efeito da combinação do treinamento físico aeróbio e carvacrol sobre modulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona na hipertensão arterial sistêmica. São Luis. Dissertação [Programa de Pós-graduação em Educação Física] - Universidade Federal do Maranhão, UFMA; 2022.



Material recebido: XXXXXXXXXX

Material aprovado pelos pares: XXXXXXXXXX

Material editado aprovado pelos autores: XXXXXXXXXX

<sup>1</sup> Mestrado em Educação Física; Pós-graduação em Docência da Educação Básica com ênfase em Educação Física; Graduação em Educação Física. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3810-6110>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6260535494228309>.

<sup>2</sup> Graduação em Farmácia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5769-6673>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4061020988365969>.

<sup>3</sup> Mestra em Saúde do Adulto e da Criança; Especialista em Enfermagem do Trabalho; Graduada em Enfermagem. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3670>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3052196276913152>.

<sup>4</sup> Doutorado e Mestrado em Ciências pela Universidade de São Paulo; Graduação em Medicina Veterinária. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7073-8308>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3863794712744490>.

<sup>5</sup> Doutor em Ciências do Esporte; Mestre em Educação Física; Graduado em Educação Física. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1644-4020>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1989081286274816>.

<sup>6</sup> Doutor em Biotecnologia em saúde (RENORBIO - UFMA); Mestre em Saúde do Adulto e da Criança (UFMA); Residência Multiprofissional em Saúde Renal (HUUFMA); Especialista em Ciência e Medicina do Esporte (UFMA) e Graduado em Educação Física (UFMA). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0508-0308>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4294276458680711>.

<sup>7</sup> Doutorado em Ciências da Saúde; Mestrado em ciências da saúde; Graduação em Farmácia-Bioquímica. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4412-1539>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9196798135350419>.

<sup>8</sup> Doutorado em Cardiologia; Mestrado em Ciências Biológicas (Biologia Celular); Graduado em Farmácia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3803-9803>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2310501964710274>.

<sup>9</sup> Doutora em Ciências; Mestre em Farmacologia; Especialização em Farmacologia; Especialização em Bioquímica; Graduada em Farmácia. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1539-5888>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3283574594616838>.

<sup>10</sup> Doutorado, Mestrado e Especialização em Farmacologia; Farmacêutico; Técnico Agrícola. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5498-6499>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4315209704773266>.

<sup>11</sup> Doutorado e Mestrado em Ciências pela UNIFESP (2002-2006- Departamento de Nefrologia); Especialista em Fisiologia (UNIFMU); Graduação em Educação Física. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1305-1697>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7154897694896564>.

<sup>12</sup> Doutor em Ciências da Saúde (PPGCS/ UFMA); Mestre em Saúde (PPGSAD/UFMA); Especialista em Medicina e Ciência do Esporte pela UFMA; Graduado em Educação Física licenciatura pela UFMA. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1698-9418>. Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7198833367765953>.

<sup>13</sup> Orientadora. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3684-3061>.