



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

VINÍCIUS CISNEIROS DE OLIVEIRA SANTOS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CARDIOPROTETOR DO
NEROL EM MODELO DE HIPERTROFIA CARDÍACA
INDUZIDA POR ISOPROTERENOL**

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2019

	VINÍCIUS CISNEIROS DE OLIVEIRA SANTOS AVALIAÇÃO DO EFEITO CARDIOPROTETOR DO NEROL EM MODELO DE HIPERTROFIA CARDÍACA INDUZIDA POR ISOPROTENERENOL
	2019

VINÍCIUS CISNEIROS DE OLIVEIRA SANTOS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CARDIOPROTETOR DO NEROL
EM MODELO DE HIPERTROFIA CARDÍACA INDUZIDA
POR ISOPROTERENOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Maria Lins de Vasconcelos

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

S237a Santos, Vinícius Cisneiros de Oliveira
Avaliação do efeito cardioprotetor do nerol em modelo de hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol / Vinícius Cisneiros de Oliveira Santos ; orientadora Carla Maria Lins de Vasconcelos. – São Cristóvão, SE, 2019.
69 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Coração – Ventrículo esquerdo - Hipertrofia. 2. Terpenos. 3. Coração - Contração. 4. Isoproterenol. I. Vasconcelos, Carla Maria Lins de, orient. II. Título.

CDU 612.17:615.22

VINÍCIUS CISNEIROS DE OLIVEIRA SANTOS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO CARDIOPROTETOR DO NEROL
EM MODELO DE HIPERTROFIA CARDÍACA INDUZIDA
POR ISOPROTERENOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Data da aprovação: ____/____/____

Presidente: Profa. Dra. Carla Maria Lins de Vasconcelos

1º Examinador: Profa. Dra. Mônica Santos de Melo

2º Examinador: Prof. Dr. Américo Azevedo de Souza

Dedico este Mestrado a minha namorada Maria dos Santos, meus pais, Nilton e Nilsara por todas as decisões que me apoiaram em toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS, por toda a coragem que me dá para encarar todos os desafios da vida.

Agradeço imensamente a minha namorada **Maria dos Santos**, pois foi ela que me incentivou a fazer este mestrado, sempre me dizendo para levantar da cama e ir procurar o melhor para mim. Obrigado por sempre estar ao meu lado, me apoiando, me orientando na vida, sempre me estimulando para crescer como pessoa e profissionalmente. Obrigado por tudo!! Te amo!!

Agradeço imensamente aos meus pais, **Nilton e Nilsara**, por toda a educação que me deram ao longo da vida, sempre me apoiarem em todas as minhas decisões acadêmicas e por não medirem esforços para me ver realizado no caminho que escolhi. Amo vocês!!

Agradeço também a minha avó materna, **dona Sahara**, por sempre me querer tão bem e sempre me desejar felicidades e que eu me tornasse uma ótima pessoa. Te amo vovó!!

Agradeço a minha orientadora **Dr^a. Carla Maria Lins de Vasconcelos**, a qual não poderia ter escolhido melhor pessoa para me orientar nesta pós-graduação. Te agradeço por todos os ensinamentos, broncas, risadas, pelos dias que convivemos juntos no LBC com seu bom humor, sabedoria e experiência para me guiar nesta jornada. Gratidão, respeito e lealdade para sempre!!

Agradeço a todos os componentes do Laboratório de Biofísica do Coração (LBC), **Diego, Michael, Andreza, Evaldo, Katharina, Guilherme, Beatriz e Carol**, por passarmos tanto tempo juntos, adquirindo conhecimento juntos e dando boas risadas ao longo dos dias.

Agradeço aos integrantes do grupo do WhatsApp, turma mais legal PROCFIS, **Andreza, Annanda, Maiara, Dany, João, Ivana, Genivaldo, Felipe, Eline, Roberta e Luiz André** por todo conhecimento compartilhado durante esse mestrado e também pela convivência, onde todos nos tratamos por iguais, sempre querendo o melhor um do outro. Muito obrigado a vocês.

Agradeço a **Dr^a Evaleide Diniz**, pelos conselhos, dicas, aprendizado e amizade adquirido durante esses dois anos de convivência no LBC.

Agradeço a minha cunhada **Lia**, por sempre me ajudar quando pode e fornecendo alguns materiais hospitalares quando solicitei. Obrigado

Agradeço ao **Dr. Ricardo Albuquerque** e a **Dr^a Rose Nely**, por ceder o laboratório de patologia molecular e experimental, realizando minhas análises histopatológicas, fundamentais para os resultados deste projeto. Muito obrigado

Agradeço aos professores do PROCFIS, os quais destaco, **Carla, Murilo, Enilton, Charles, Danilo, Ronaldo, Josi, Badauê, Luís Felipe, Patrícia e Felipe Aidar** os quais conseguiram contribuir com mais experiência para a minha formação, transmitindo-me todo o conhecimento necessário para a conclusão desde mestrado. Muito obrigado a todos vocês.

Agradeço ao secretário mais eficiente da UFS, **Renivan**, sempre sendo solícito e ágil para resolver todos os problemas que enfrentei no mestrado, sempre disposto a ajudar. Muito obrigado.

Agradeço aos animais, que doaram sua vida, como contribuição científica para a realização deste projeto.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro, o qual não seria possível sem o seu auxílio.

Agradeço a Universidade Federal de Sergipe, por disponibilizar seu espaço físico, para a realização deste mestrado.

RESUMO

EFEITO CARDIOPROTETOR DO NEROL EM MODELO DE HIPERTROFIA CARDÍACA INDUZIDA POR ISOPROTERENOL. SANTOS, V.C.O., Dissertação de mestrado em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2019.

O nerol é um monoterpeneo presente em várias plantas como *Cymbopogon flexuosus* (capim-limão), *Wisteria brachybotrys* (glicínia) e *Rosa damascaena* (rosa-chá) com efeitos antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, antifúngico e antiarrítmico. O objetivo do presente trabalho foi investigar a atividade cardioprotetora do nerol sobre modelo de hipertrofia cardíaca induzida pelo isoproterenol (ISO). Foram usados ratos Wistar (200-250 g, CEPA: 29/18), distribuídos em 5 grupos e tratados por 7 dias por via i.p.: 1) Grupo controle (CTR; n = 6), animais que receberam solução salina + DMSO 0,1%; 2) Grupo nerol (n = 6), animais tratados com 50 mg/kg de nerol + DMSO 0,1%; 3) Grupo hipertrofia (ISO; n = 6), animais que receberam ISO (4,5 mg/kg), 4) Grupo hipertrofia + nerol (ISO + nerol, n = 6), animais receberam ISO + nerol, e 5) Grupo hipertrofia + N-acetilcisteína (ISO + NAC, n = 6), animais tratados com ISO + NAC (50 mg/kg). Os resultados morfométricos evidenciaram um aumento na relação peso do coração/peso corporal ($4,89 \pm 0,13$ mg/g) e peso do coração/tamanho da tíbia ($350 \pm 8,64$ mg/cm) no grupo ISO, que foram prevenidos no grupo ISO + nerol ($3,77 \pm 0,16$ mg/cm e $211,6 \pm 3,29$ mg/cm, respectivamente, $p < 0,05$). Os marcadores enzimáticos mostraram-se elevados nos animais hipertróficos (LDH: $126,8 \pm 11,23$ U/L, CPK: $235,6 \pm 29,9$ U/L e CPK-MB $49,5 \pm 5,5$ U/L). Entretanto, o tratamento com o nerol foi capaz de prevenir essas alterações (LDH: $78,5 \pm 11,29$ U/L, CPK: $48,2 \pm 9,7$ U/L, CPK-MB: $12,9 \pm 2,5$ U/L, $p < 0,05$). O tratamento com o nerol foi capaz de reduzir a duração do QRS ($43,46 \pm 0,63$ ms para $23,04 \pm 0,6$ ms, $p < 0,05$) e abolir a inversão da onda T característico da hipertrofia cardíaca e do QTc (de $114,2 \pm 0,2$ ms para $56,6 \pm 5,7$ ms, $p < 0,05$). Também foi observado melhora na contratilidade ventricular ($47,2 \pm 3,0$ mmHg, $p < 0,05$) em relação ao grupo hipertrofia ($12,36 \pm 4,42$ mmHg). Não foi observado alteração de PRi e frequência cardíaca nos grupos experimentais avaliados. Na pressão coronariana podemos observar que houve redução no grupo hipertrofia ($44,6 \pm 1,6$ cmH₂O, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($90,6 \pm 1,7$ cmH₂O, $p < 0,05$), o qual foi atenuado no grupo ISO + nerol ($77,6 \pm 1,4$ cmH₂O, $p < 0,05$). O NAC, usado como controle positivo, também foi capaz de atenuar as alterações morfométricas, enzimáticas, eletrocardiográficas e contráteis observadas nos animais hipertróficos. Além disso, a histopatologia (Tricoma de mansson) revelou melhora significativa da fibrose tecidual, infiltrado inflamatório e edema dos corações hipertróficos com o tratamento com nerol. A área de fibrose e a área da secção transversa do ventrículo esquerdo foram reduzidas em 58% e 36% (n = 6), respectivamente, nos corações hipertróficos tratados com o nerol. Concluimos que o nerol possui efeito cardioprotetor em modelo de hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol.

PALAVRAS-CHAVE: Hipertrofia Ventricular Esquerda; Isoproterenol; Terpeno; Contração miocárdica.

ABSTRACT

NEROL CARDIOPROTECTOR EFFECT IN ISOPROTERENOL-INDUCED HEART HYPERTROPHY MODEL. SANTOS, V.C.O., Master's Dissertation in Physiological Sciences, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, 2019.

The nerol is a monoterpene present in several plants such as *Cymbopogon flexuosos* (lemon grass), *Wisteria brachybotrys* (wisteria) and *Rosa damascaena* (rose tea) with antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, antifungal and antiarrhythmic effects. The objective of the present study was to investigate the cardioprotective activity of the nerol on isoproterenol-induced cardiac hypertrophy (ISO) model. Wistar rats (200-250 g, CEPA: 29/18) were distributed in 5 groups and treated for 7 days ip: 1) Control group (CTR; n = 6), animals receiving saline + DMSO 0,1%; 2) Nerol group (n = 6), animals treated with 50 mg / kg nerol + 0.1% DMSO; 3) Group hypertrophy (ISO, n = 6), animals receiving ISO (4.5 mg / kg), 4) Group hypertrophy + nerol (ISO + nerol, n = 6), animals received ISO + nerol, Group hypertrophy + N-acetylcysteine (ISO + NAC, n = 6), animals treated with ISO + NAC (50 mg / kg). The morphometric results showed an increase in the heart weight / body weight ratio (4.89 ± 0.13 mg / g) and heart weight / tibia size (350 ± 8.64 mg / cm) in the ISO group, which were in the ISO + nerol group (3.77 ± 0.16 mg / cm and 211.6 ± 3.29 mg / cm, respectively, $p < 0.05$). Enzyme markers were elevated in hypertrophic animals (LDH: 126.8 ± 11.23 U / L, CPK: 235.6 ± 29.9 U / L and CPK-MB 49.5 ± 5.5 U / L). However, treatment with the nerol was able to prevent these changes (LDH: 78.5 ± 11.29 U / L, CPK: 48.2 ± 9.7 U / L, CPK-MB: $12.9 \pm 2, 5$ U / L, $p < 0.05$). The treatment with the nerol was able to reduce the duration of the QRS (43.46 ± 0.63 ms to 23.04 ± 0.6 ms, $p < 0.05$) and abolish the T wave inversion characteristic of cardiac hypertrophy and of QTc (from 114.2 ± 0.2 ms to 56.6 ± 5.7 ms, $p < 0.05$). An improvement in ventricular contractility (47.2 ± 3.0 mmHg, $p < 0.05$) was also observed in relation to the hypertrophy group (12.36 ± 4.42 mmHg). No alteration of PRi and heart rate was observed in the experimental groups evaluated. At coronary pressure, we observed a reduction in the hypertrophy group (44.6 ± 1.6 cmH₂O, $p < 0.05$) in relation to the control group (90.6 ± 1.7 cmH₂O, $p < 0.05$) which was attenuated in the ISO + nerol group (77.6 ± 1.4 cmH₂O, $p < 0.05$). The NAC, used as a positive control, was also able to attenuate the morphometric, enzymatic, electrocardiographic and contractile alterations observed in hypertrophic animals. In addition, histopathology (Mansson's Tricycle) revealed significant improvement of tissue fibrosis, inflammatory infiltrate and edema of hypertrophic hearts with nerol treatment. The area of fibrosis and the left ventricular cross-sectional area were reduced by 58% and 36% (n = 6), respectively, in the hypertrophic hearts treated with the nerol. We conclude that the nerol has a cardioprotective effect in a model of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.

KEYWORDS: Left Ventricular Hypertrophy; Isoproterenol; Terpen; Myocardial contraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Potencial de ação cardíaco ventricular e as correntes envolvidas em seu formato, assim como as fases do PA em que elas atuam.....	05
Figura 2- Mecanismos intracelular do acoplamento excitação-contração no cardiomiócito, demonstrando todos os componentes envolvidos levando ao fenômeno conhecido como liberação de cálcio induzido por cálcio.....	07
Figura 3- Traçado eletrocardiográfico, demonstrando suas diferentes ondas.....	09
Figura 4- Coração normal (acima), seguido das duas classificações da hipertrofia cardíaca: Fisiológica (esquerda) e patológica (direita)	13
Figura 5- Estrutura do isopreno	14
Figura 6- Estrutura química do Nerol.....	15
Figura 7- Delineamento experimental do tratamento dos animais para a indução da hipertrofia cardíaca.....	19
Figura 8- Imagem representativa do sistema de perfusão aórtica de fluxo constante do tipo Langendorff usado para registrar simultaneamente o ECG e a pressão intraventricular.....	21
Figura 9- Parâmetros morfométricos nos animais hipetróficos e tratados com o nerol.....	23
Figura 10- Peso corporal dos animais nos diferentes grupos experimentais.....	24
Figura 11- Parâmetros bioquímicos de dano tecidual avaliados nos animais hipertróficos e tratados com o nerol.....	25
Figura 12- Parâmetros eletrocardiográficos nos animais hipetróficos e tratados com o nerol.....	27
Figura 13- Parâmetros contráteis nos animais hipetróficos e tratados com o nerol.....	29
Figura 14- Pressão coronariana nos animais hipertróficos e tratados com nerol.....	30
Figura 15- Cortes histológicos mostrando o dano tecidual do coração ocasionado pelo isoproterenol.....	31
Figura 16- Cortes histológicos dos corações nos diferentes grupos experimentais.....	32
Figura 17- Cortes histológicos dos corações dos grupos experimentais avaliados.....	33
Figura 18- Cortes seccionais transversos dos corações dos grupos experimentais avaliados.....	34

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$[Ca^{2+}]$ –	Concentração de cálcio
$[Ca^{2+}]_i$ –	Corrente de Cálcio
+dP/dt –	Derivada máxima da pressão intraventricular
AMPC –	Monofosfato cíclico de adenosina
ANP –	Peptídeo natriurético atrial
ATP –	Adenosina trifosfato
AV –	Atrioventricular
AVC –	Acidente vascular Cerebral
BNP –	Peptídeo natriurético do tipo B
C-	Carbono
Ca^{2+} –	Cálcio
$CaCl_2$ –	Cloreto de cálcio
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ –	Cloreto de cálcio diidratado
CaMKII –	Cálcio-calmodulina quinase II
CICR –	Liberação de cálcio induzida por cálcio
CmH_2O –	Centímetro de água
$CmHg$ –	Centímetro de mercúrio
COX-2 –	Ciclooxygenase 2
CPK-MB –	Creatinofosfoquinase fração MB
CPK-Total –	Creatinofosfoquinase total
CTR –	Controle
-dP/dt –	Derivada mínima da pressão intraventricular
ECG –	Eletrocardiograma
E_m –	Potencial de membrana
GH –	Hormônio do crescimento
GPCRs –	Receptores acoplados a proteína G
Gs –	Proteína G estimulatória
H^+ –	Hidrogênio
i.p. –	Via intraperitoneal
IGF-1 –	Fator de crescimento semelhante a insulina
IK –	Canal de potássio retificador retardado

IK ₁ –	Canal de potássio retificador interno
IK _r –	Canal de potássio retificador rápido
IK _s –	Canal de potássio retificador rápido
IL-1 β –	Interleucina 1 beta
IL-6 –	Interleucina 6
ISO –	Isoproterenol
K ⁺ –	Potássio
KCl –	Cloreto de potássio
KH ₂ PO ₄ –	Fosfato monopotássico
LDH –	Desidrogenase láctica
LTCC –	Canal para cálcio do Tipo-L
MgCl ₂ .6H ₂ O –	Cloreto de magnésio hexahidratado
MgSO ₄ –	Sulfato de magnésio
mTOR –	Alvo mecanicista da rapamicina
mV –	Milivolts
Na ⁺ –	Sódio
NAC –	N-acetilcisteína
NaCl –	Cloreto de sódio
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O –	Fosfato de sódio monobásico monohidratado
NaHCO ₃ –	Bicarbonato de sódio
NCX –	Trocador Sódio-Cálcio
NEL –	Nerol
NF- κ B –	Fator nuclear regulador da transcrição κ B
OMS –	Organização Mundial de Saúde
P –	Despolarização atrial
PA –	Potencial de Ação
PVE –	Pressão do ventrículo esquerdo
PI3K –	Fosfoinositídeo 3-quinase
PKA –	Proteína quinase dependente de AMPc
PKB/Akt –	Proteína quinase B
PLB –	Fosfolambam
PRi –	Intervalo PR
QRS –	Despolarização ventricular
QT –	Intervalo QT

QTc –	Intervalo QT corrigido
RR –	Intervalo RR
RS –	Retículo sarcoplasmático
RyRs –	Receptor de Rianodina
SERCA –	ATPase de cálcio do retículo sarco/endoplasmático
ST –	Segmento ST
T –	Repolarização ventricular
TGF- β –	Fator de crescimento tumoral beta
TNF- α –	Fator de necrose tumoral alfa
β -AR –	Receptor beta adrenérgico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1 Estrutura e fisiologia do coração.....	2
2.2 Potencial de ação cardíaco.....	3
2.3 Acoplamento excitação-contração do miocárdio.....	5
2.4 Eletrocardiograma (ECG).....	7
2.5 Hipertrofia Cardíaca.....	9
2.6 Terpenos.....	13
2.7 Nerol.....	15
3 OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivo Geral.....	17
3.2 Objetivos Específicos.....	17
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1 Animais.....	18
4.2 Reagentes.....	18
4.3 Hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol.....	18
4.4 Parâmetros morfométricos.....	19
4.5 Determinação dos marcadores bioquímicos do dano tecidual.....	20
4.6 Registro eletrocardiográfico (ECG).....	20
4.7 Medidas da pressão ventricular esquerda e coronariana.....	20
4.8 Análises histopatológicas.....	22
4.9 Análise Estatística.....	22
5 RESULTADOS	23
5.1 Análise morfométrica.....	23
5.2 Marcadores bioquímicos de lesão tecidual.....	24
5.3 Parâmetros eletrocardiográficos.....	26
5.4 Contratilidade cardíaca.....	28
5.5 Pressão Coronariana.....	30
5.6 Histopatologia.....	30

6 DISCUSSÃO.....	35
7 CONCLUSÃO.....	42
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	43
REFERÊNCIAS.....	44
ANEXO A – Formulário CEPA.....	54

1 INTRODUÇÃO

Conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2017), as doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidade no mundo, para qual foi estimado que 17,5 milhões de pessoas morreram por doenças cardiovasculares em 2015, o que corresponde a 31% de todas as mortes em nível global. A taxa de mortalidade causada por doenças cardiovasculares foi estimada em 7,4 milhões de óbitos e por acidentes vasculares cerebrais (AVC) foi de 6,7 milhões.

Já no Brasil, as doenças cardiovasculares são responsáveis por 29,4% de todos os óbitos registrados no país, isso significa que mais de 308 mil pessoas morreram principalmente a infarto e acidentes vasculares cerebrais. A alta frequência desta causa de mortalidade coloca o Brasil entre os 10 países com maior índice de mortes por doenças cardiovasculares (BRASIL, 2017).

Dentre as as doenças cardiovasculares podemos destacar a hipertrofia cardíaca que é caracterizada por um espessamento do miocárdio como consequência das reações nos cardiomiócitos frente a uma variedade de estímulos fisiológicos e patológicos, como estímulos neuro-humoral e estresse biomecânico (GAO et al., 2017). Segundo Zhao et al. (2017), a hipertrofia também pode ser caracterizada como uma resposta adaptativa das células musculares estriadas cardíacas, onde ocorre o espessamento da parede dos ventrículos, aumento da massa muscular cardíaca, aumento do tamanho dos cardiomiócitos e o excesso de colágeno (ZHAO et al., 2017).

Pode-se dizer que esta adaptação pode acontecer em resposta ao aumento de necessidade metabólica que impõe um aumento do débito cardíaco (MACHIDA et al., 2000), indução hormonal (isoproterenol) (VASSALLO et al., 1988), em resposta ao aumento de carga pressórica ou de volume ou resultante de mecanismos intrínsecos de natureza genética, tais como as hipertrofias idiopáticas que podem ocorrer mesmo na ausência de sobrecargas (RAPP, 2000; FREY et al., 2004). Evidências apontam que a hipertensão arterial é a causa majoritária do acometimento da hipertrofia cardíaca associada com alterações morfológicas do miocárdio, tais como aumento do tamanho das fibras musculares dos ventrículos (POURZITAKI et al., 2016).

Nos estágios iniciais da hipertrofia cardíaca, é evidenciado aumento das paredes do coração em uma tentativa de adaptação para compensar o aumento do estresse no qual o miocárdio está sendo submetido. Entretanto, o prolongamento da patologia prejudica o bom

funcionamento do coração e, possivelmente, pode levar o mesmo à insuficiência cardíaca, afetando cerca de 5 milhões de pessoas na América do Norte (MAAYAH et al., 2017).

Embora exista atualmente uma ampla gama de fármacos que são usados no tratamento das doenças cardiovasculares, ainda continua sendo um desafio para a medicina o controle e a prevenção dessas doenças. Nesse contexto, os óleos essenciais representam uma nova opção de substâncias biologicamente ativas, que estão sendo utilizados no estudo pré-clínico para o tratamento de doenças cardiovasculares. Dos óleos essenciais estudados, cerca de 90% são compostos por monoterpenos, que são substâncias químicas, extremamente importantes do ponto de vista econômico, da saúde e também no que se refere à evolução biológica. (CHRISTMANN et al., 2010). Dentre os monoterpenos, podemos destacar o nerol foi originalmente isolado do óleo neroli e também encontrado em muitos óleos essenciais de várias plantas, como *Cymbopogon flexuosos* (capim-limão), *Wisteria brachybotrys* (glicínia) e *Rosa damascaeana* (rosa-chá).

A literatura já descreve algumas atividades farmacológicas para o nerol, tais como efeito antioxidante, antinociceptivo, antiinflamatório e antifúngico (ONO et al., 2013; TIAN et al., 2013; GONZÁLEZ-RAMÍREZ et al., 2016). Estudo recente demonstrou que o nerol tem ação bloqueadora do canal de cálcio tipo-L em coração de cobaia apresentando efeito antiarrítmico (MENEZES-FILHO et al., 2019). Estudos anteriores apontam para o fato de que bloqueadores de canais para cálcio, tais como nifedipina e o verapamil, por diminuírem a sobrecarga de cálcio intracelular, apresentam um efeito antihipertrófico (PINELLI et al., 2004; AGO et al., 2010; FERREIRA FILHO et al., 2010). Dessa forma, como nerol age como um antagonista de cálcio e ainda apresenta efeito antioxidante e antiinflamatório, resolvemos investigar o seu efeito cardioprotetor em modelo de hipertrofia cardíaca em ratos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estrutura e fisiologia do coração

O coração é descrito como um órgão muscular localizado na cavidade mediastinal, situado posteriormente ao esterno, onde o mesmo possui quatro compartimentos, sendo dois superiores denominados de átrio, sendo um direito e esquerdo e dois inferiores chamados de ventrículos, sendo um direito e um esquerdo (AKHTER, 2011). A principal função do coração é realizar o controle do sistema cardiovascular sendo o componente principal e assim mantendo a homeostase (BUCKBERG et al., 2018).

O coração é um órgão robusto e confiável que, aproximadamente, uma vez por segundo, bombeia o sangue para todo o corpo. A função cardíaca depende do metabolismo celular, da eletrofisiologia, da força mecânica, e da disposição de junções gap, entre outros. Compreender os detalhes desses sistemas complexos, bem como as interações entre eles, é crucial para entender o bom funcionamento do coração na saúde e na doença (SANTOS et al., 2015).

As funções atriais podem ser divididas em três fases distintas: 1) durante a sístole ventricular, os átrios servem de reservatório para sangue drenado pelas veias pulmonares, veia cava superior e veia cava inferior, 2) durante a diástole ventricular, o átrio atua como um canal para o retorno venoso, e 3) durante o final da sístole, a função de bomba de reforço dos átrios completam o enchimento dos ventrículos. Considerando que as funções dos átrios são determinadas pela complacência, relaxamento, e contratilidade atrial (DELGADO et al., 2017).

Já as funções ventriculares podem ser divididas em algumas fases bem definidas, como: contração isovolumétrica, ejeção ventricular rápida, relaxamento isovolumétrico e enchimento ventricular (BUCKBERG et al., 2014). Para que ocorra um bom funcionamento cardíaco, tanto a função atrial quanto a função ventricular precisa estar em harmonia e, para isso o coração possui valvas, sendo duas atrioventriculares localizadas nos óstios atrioventriculares direito e esquerdo, uma valva aórtica e uma valva pulmonar, as mesmas possuem funções de garantir o fluxo sanguíneo unidirecional durante a fase de contração isovolumétrica (sístole) e a outra função é de impedir o refluxo do sangue durante a mesma fase supracitada (MALANGA, 2007).

2.2 Potencial de ação cardíaco

A propagação da atividade e a coordenação do funcionamento eletromecânico dos ventrículos dependem do acoplamento elétrico entre as células, mediado por junções comunicantes. A atividade elétrica miocárdica é iniciada no marcapasso das células atriais, precisamente no nodo sinoatrial (NS) e depois propagado dos átrios para os ventrículos pelo nodo atrioventricular (NAV). Após uma breve pausa no NAV, a excitação se espalha pelo feixe de His e seus ramos e pelas fibras de Purkinje até o ápice do coração (GARCIA, 1998; NERBONNE; KASS, 2005).

A propagação do potencial de ação pelo miocárdio é fundamental para uma eficiente contração muscular. A velocidade e a direção da propagação do impulso elétrico dependem de múltiplos fatores tais como, a orientação das fibras, distribuição das junções intercelulares, canais iônicos da membrana plasmática, como também as condutividades elétricas intra e extracelulares (BAKIR; DOKOS, 2015). O potencial de ação nos cardiomiócitos resulta da abertura e fechamento sequencial de canais iônicos localizados na membrana plasmática dos miócitos (DEHGHANI-SAMANI; MADRESEH-GHAHFAROKHI; DEHGHANI-SAMANI, 2019).

O potencial de ação cardíaco em humanos possui cinco fases diferentes (de 0 a 4). A despolarização das células marcapasso no NS traz o potencial de membrana para o limiar, abrindo os canais para sódio ativados por voltagem, então a corrente de sódio (I_{Na}) produz um feedback positivo o qual faz com que outros canais de sódio se abram permitindo o influxo de sódio do meio extracelular para o meio citosólico (fase 0). Na próxima etapa chamada de fase 1, ocorre uma repolarização incompleta proveniente da ativação de canais transientes de potássio ($I_{to,f}$ e $I_{to,s}$). Nessa fase também ocorre inativação dos canais para sódio. Em seguida, inicia-se a fase de platô ou fase 2, decorrente de correntes de entrada mediadas pelos canais de cálcio do tipo-L e trocador de sódio cálcio (NCX). Na fase 3 ocorre a repolarização completa do cardiomiócito, com efluxo de potássio pelos canais de potássio retificador retardado (I_{Kr} e I_{Ks}) e abertura do canal de potássio retificador de entrada (I_{Kir} ou K_1). O potencial de membrana retorna ao seu valor de repouso após a repolarização total, que corresponde à fase 4 do potencial de ação cardíaco, e é normalmente polarizado em valores entre -80 e -90 mV em relação ao espaço extracelular. Este estado de repouso é mantido principalmente pelo I_{Kir} e pela ATPase de Na^+ e K^+ (TAMARGO, 2004; SCHMITT et al., 2014; HEGYI et al., 2018; ALARCÓN et al., 2019; HEGYI et al., 2019).

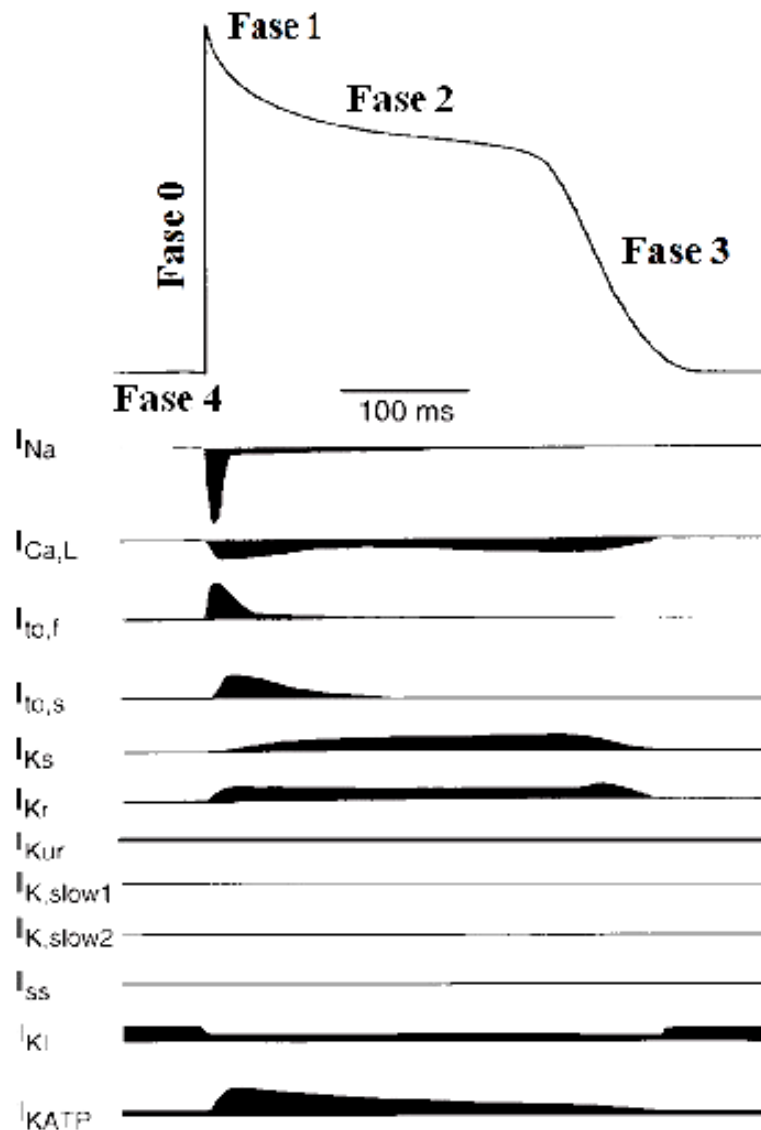


Figura 1. Potencial de ação cardíaco ventricular e as correntes envolvidas em seu formato, assim como as fases do PA em que elas atuam. Corrente de sódio - I_{Na} ; Corrente de cálcio pelos canais do tipo-L ($I_{Ca,L}$); Corrente transiente de efluxo de inativação rápida ($I_{to,f}$), inativação lenta ($I_{to,s}$); Corrente de potássio retificador retardado lento (I_{Ks}), rápido (I_{Kr}), ultrarrápido (I_{Kur}); Corrente de potássio de baixa condutância ($I_{K,slow1}$; $I_{K,slow2}$; I_{ss}); Corrente transiente de influxo (I_{KI}); Corrente de potássio dependentes de ATP (I_{KATP}) (NERBONNE; KASS, 2005).

2.3 Acoplamento excitação-contração do miocárdio

Cada batimento cardíaco é o resultado da liberação e recaptação de cálcio (Ca^{2+}) na célula. Durante este processo, a presença deste cátion é essencial para a conversão da estimulação elétrica (potencial de ação) em força mecânica (contração), em um processo comumente denominado acoplamento excitação-contração (GAMBARDELLA et al., 2017).

Nas células cardíacas, as unidades estruturais que medeiam a liberação de cálcio induzida por cálcio (CICR) são denominados díades, consistindo em micro domínios celulares especializados, cada um composto por cisternas terminais de retículo sarcoplasmático (RS), também conhecidas como RS juncional, localizado nas proximidades das invaginações da membrana plasmática, o túbulo transverso ou túbulo T (HOHENDANNER et al., 2014).

Do lado da membrana plasmática, ao longo dos túbulos T, existem canais para cálcio voltagem dependentes, os quais podem ser classificados em tipo-T e tipo-L, também conhecidos receptores de diidropiridina, enquanto do lado das cisternas do RS existem os canais de liberação de Ca^{2+} intracelular, os receptores de rianodina (RyRs) (JAFRI, 2012).

Os canais para cálcio do tipo-L (LTCC) são ativados na despolarização e através dele, o Ca^{2+} do meio extracelular vai adentrar ao citosol, ativando os RyRs localizados no RS. Estima-se que para cada LTCC, aproximadamente 4 á 6 receptores de rianodina são ativados no retículo sarcoplasmático, ativando canais RyRs vizinhos, resultando em liberação maciça de cálcio do RS (KNOLLMANN, 2017). O cálcio liberado pelo RS no citosol vai iniciar o processo de contração muscular.

As células musculares apresentam um sistema contrátil organizado, constituído pelo sarcômero, que é a unidade contrátil do miocárdio. O sarcômero é formado por filamentos finos (actina, troponinas e tropomiosina) e grossos (miosina). O complexo troponina consiste em três subunidades: tropomiosina (TnT), inibitória (TnI) e cálcio sensor (TnC). A TnT ancora as outras duas subunidades no complexo tropomiosina. A TnI, no repouso, os níveis intracelulares de Ca^{2+} compete com a miosina para um local de ligação aos miofilamentos da actina, forçando a tropomiosina para uma posição, onde a mesma bloqueia alostericamente o sítio de ligação das cabeças da miosina. A ligação do cálcio citosólico a TnC induz mudanças conformacionais, levando ao estado ativado, no qual os locais de ligação à miosina na actina são expostos. Desse modo, a formação das pontes cruzadas entre actina e miosina produz o deslizamento de miofilamentos um sobre o outro, resultando eventualmente na contração muscular (sístole) (MAACK; OROURKE, 2007; HOHENDANNER et al., 2014).

Para ocorrer o relaxamento muscular cardíaco (diástole), mecanismos de recaptção do cálcio citosólico devem mediar ativamente um fluxo retrogrado de Ca^{2+} . Sendo o principal recaptador de cálcio citosólico para o retículo sarcoplasmático é a Ca^{2+} -ATPase do retículo sarco/endoplasmático (SERCA) e o trocador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX), para a regulação desta função. Uma grande porção de Ca^{2+} é bombeado pela SERCA do citosol de volta para o retículo sarcoplasmático (KNOLLMANN, 2017).

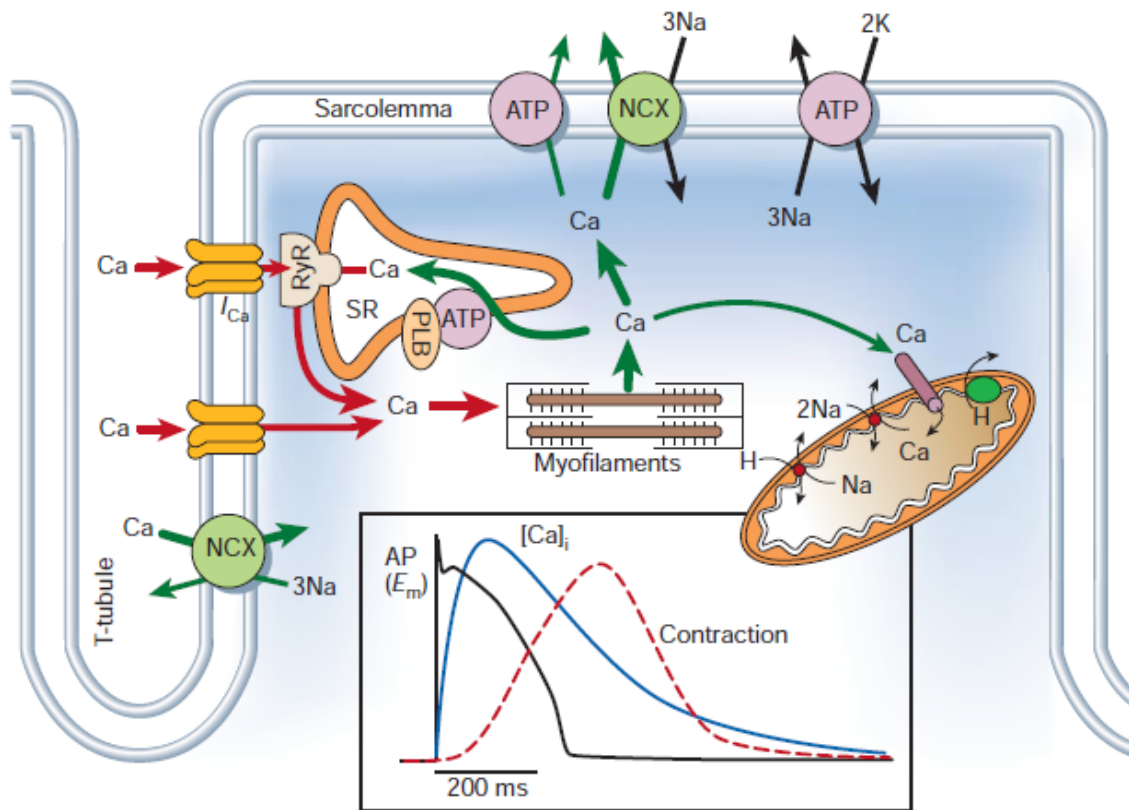


Figura 2. Mecanismos intracelulares do acoplamento excitação-contracção no cardiomiócito, demonstrando todos os componentes envolvidos levando ao fenômeno conhecido como liberação de cálcio induzido por cálcio (BERS, 2002).

2.4 Eletrocardiograma (ECG)

O eletrocardiograma é descrito como um dos maiores desenvolvimentos na cardiologia no século XX, em que conhecimentos em eletrocardiografia e interpretação precisa dos dados do ritmo cardíaco fornece informações vitais sobre as condições fisiológicas dinâmicas dos pacientes (LUX, 2017).

Três principais propriedades do músculo cardíaco podem ser avaliadas com o ECG: automaticidade, condutividade e excitabilidade. A automaticidade define-se como à capacidade do marca-passo em iniciar um impulso elétrico, um efeito do cronotropismo. O impacto das mudanças na frequência cardíaca, implica na resposta cronotrópica onde a mesma possui implicações importantes para a função cardíaca (DARPO, 2015).

A condutividade refere-se à capacidade dos cardiomiócitos em conduzir o impulso elétrico (dromotropismo). A ordem de ativação do sistema de condução elétrica cardíaca inicia com um impulso no NS, propagando uma onda de despolarização através do miocárdio atrial para o NAV. A onda de despolarização se move através dos ventrículos através do feixe

de His, ramos direito e esquerdo, seguindo seu fluxo elétrico através das fibras de Purkinje até o ápice do ventrículo (BACHAROVA et al., 2014). O sistema de condução intraventricular compreende o feixe de His, os ramos direito e esquerdo, e as divisões do ramo esquerdo (ântero-superior, pósterio-inferior e ântero-medial), onde a função deste sistema de condução é realizar a propagação elétrica de modo rápido para que ocorra o impulso elétrico para ambos os ventrículos de forma simultânea (KURBEL, 2014).

A excitabilidade é a capacidade do miócito cardíaco de responder a um estímulo elétrico, a qual também pode ser denominada como batmotropismo. O estímulo elétrico é necessário para uma consistente despolarização cardíaca e a mesma pode ser mensurada em termos de energia (microjoules), largura de pulso (milissegundos) e amplitude (volts) (PAHLM; PAHLM; WAGNER, 2014).

O eletrocardiograma normal é composto pela onda P, complexo QRS e onda T (Fig. 3). A onda P corresponde a despolarização atrial direita e esquerda, onde o primeiro componente do registro eletrocardiográfico representa a atividade elétrica do átrio direito e o segundo componente da onda representa a atividade elétrica atrial esquerda. Desse modo, a onda P apresenta uma morfologia de onda elétrica arredondada. Esta onda possui uma deflexão positiva, mas em menor amplitude do que outras ondas devido a massa muscular atrial ser menor em comparação com os ventrículos (HARRIS, 2016).

Na geração do complexo QRS, ocorre a despolarização do músculo septal e das paredes do ventrículo esquerdo e direito. A onda T representa a recuperação elétrica, ou seja, a repolarização ventricular. A morfologia da onda, cuja polaridade é igual à do complexo QRS, é assimétrica, com fase ascendente lenta e fase descendente mais rápida. A repolarização ventricular inicia-se no epicárdio, sendo as camadas subendocárdicas as últimas a se repolarizarem. Sua amplitude não excede um terço da amplitude do QRS correspondente (KLABUNDE, 2017).

No estudo eletrocardiográfico, ainda podemos observar e avaliar trechos de traçados elétricos, os quais podemos denominar de intervalo PR (PRi), intervalo RR, segmento ST e intervalo QT. O PRi representa o intervalo entre a despolarização das células do NS até o início da despolarização do miocárdio ventricular, onde é mensurado desde o início da onda P até o início da onda Q. A repolarização atrial que é oposta ao eixo da onda P mas como a repolarização atrial normalmente tem uma baixa amplitude, fica localizado posteriormente ao PRi, junto ao complexo QRS (KURBEL, 2014; HARRIS, 2016).

O intervalo RR, onde a sua duração pode ser mensurada a frequência cardíaca, seu intervalo é compreendido pela distância entre duas ondas R sucessivas. Em ritmo sinusal, o

intervalo RR deve ser constante e comumente pode ser denominado de frequência da despolarização ventricular (LUX, 2017).

O segmento ST pode ser descrito como um período de inatividade entre a despolarização e o início da repolarização ventricular, onde normalmente é isoeletrico, e é medido ao final do complexo QRS até início da onda T (DARPO, 2015).

O intervalo QT (QTi) representa a sístole elétrica ventricular, ou seja, o conjunto da despolarização e repolarização ventricular. Seu valor deve ser corrigido, já que o mesmo varia de acordo com a variabilidade da frequência cardíaca. Esta correção é feita através da fórmula de Bazett ($QT/\sqrt{RR}$), onde pode ser denominado de intervalo corrigido (QTc) (DARPO, 2015; HARRIS, 2016).

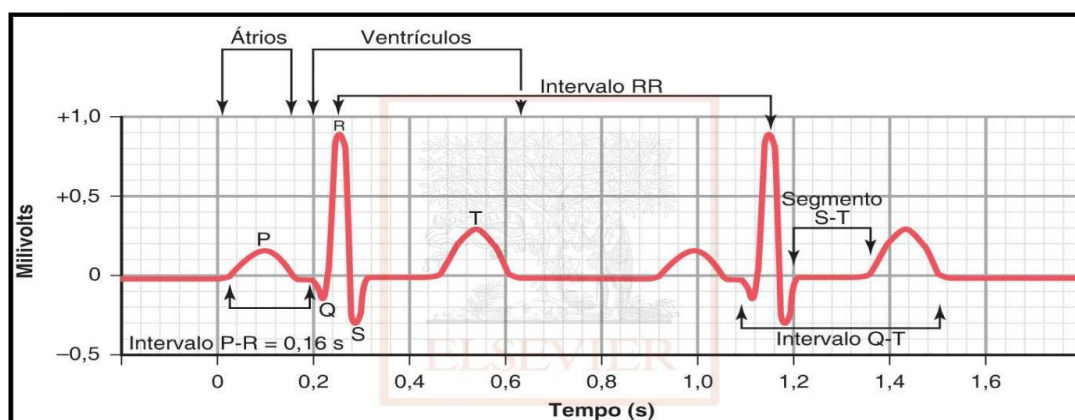


Figura 3. Traçado eletrocardiográfico, demonstrando suas diferentes ondas, a de despolarização atrial (P), despolarização ventricular (QRS), repolarização ventricular (T), os intervalos (PR, RR, QT) e o segmento (ST) (HALL, 2010).

2.5 Hipertrofia Cardíaca

O coração deve impulsionar o sangue de forma constante para suprir todas as células do corpo com oxigênio e nutrientes, onde o mesmo consome mais energia do que qualquer outro órgão para a manutenção do acoplamento de excitação-contração (CHEN et al., 2014). Para manter a alta demanda energética exigida por esta função, o coração é equipado com numerosos sistemas biológicos complexos que permitem a adaptação a mudanças da demanda sistêmica. O processo de crescimento celular, angiogênese, metabolismo a plasticidade está criticamente envolvida na manutenção da homeostase cardíaca (SHIMIZU; MINAMINO, 2016). No entanto, o músculo cardíaco apresenta capacidade de se adequar permitindo ao coração responder as demandas ambientais, e as células podem crescer ou morrer em reação ao estímulo de vários fatores de estresse celular, podendo ser classificado em fisiológico ou patológico (BERNARDO et al., 2010).

O crescimento do cardiomiócito depende do início de vários eventos em resposta a um aumento na carga pressórica, abrangendo a ativação de vias de sinalização, aumento da taxa síntese de proteínas e a organização de proteínas contráteis em unidades dos miofilamentos e alterações na expressão gênica (GAO et al., 2017). Algumas dessas alterações, envolvem a reativação da expressão gênica, o aumento da expressão de genes expressos normalmente em coração embrionário e neonatal, mas não em cardiomiócito ventricular adulto, incluindo proteínas de transdução de sinal como o peptídeo natriurético atrial (ANP), peptídeo natriurético do tipo B (BNP) e proteínas fetais como a α -actina, a cadeia leve da miosina atrial-1 e cadeia pesada de β -miosina (COTECCHIA et al., 2015).

A hipertrofia cardíaca pode ser classificada como fisiológica quando associada à função cardíaca preservada ou como patológica quando associada à alguma disfunção cardíaca (Fig. 4) (LYON et al., 2015). A hipertrofia cardíaca fisiológica é caracterizada como o aumento da espessura do coração em resposta ao crescimento tecidual, exercício físico e gravidez, e está associada à manutenção da homeostase cardíaca.

A hipertrofia cardíaca fisiológica se desenvolve através do aumento da produção do hormônio do crescimento (GH) e forças mecânicas. Dentre a superfamília dos hormônios de crescimento podemos citar a insulina, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) e forças mecânicas que induzem a hipertrofia através da ativação de várias vias de sinalização como fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K), proteína quinase B (Akt/PKB), proteína quinase dependente de AMP cíclico (PKA) a qual é mediada pela proteína G estimulatória (GPCRS) e vias do mTOR (BERNARDO et al., 2010; SHIMIZU; MINAMINO, 2016).

Já a hipertrofia cardíaca patológica pode ser causada por diversos fatores como o aumento da carga pressórica (hipertensão arterial sistêmica), o qual leva ao aumento do espessamento da massa ventricular, lesão dos cardiomiócitos e um aumento da ativação neuro-humoral pode levar a disfunção cardíaca. O funcionamento cardíaco inicialmente é mantido em sobrecarga devido ao aumento da força mecânica, entretanto, a sobrecarga da pressão sustentada por um longo período de tempo irá promover a transição da fase adaptativa (fisiológica) para a patológica, a qual é caracterizada por uma diminuição da fração de ejeção e dilatação ventricular esquerda (BERNARDO et al., 2010; LYON et al., 2015; TANG et al., 2016).

A hipertrofia cardíaca patológica pode torna-se uma descompensada ou mal adaptada para as devidas funções cardiológicas quando, além do crescimento celular e o aumento da síntese de proteínas, podem ocorrer os seguintes processos patológicos: morte celular, fibrose, desregulação das proteínas de modulação do cálcio, disfunções mitocondriais, reprogramação

metabólica, reativação da expressão gênica fetal, e controle da atividade mitocondrial (CHEN et al., 2014).

Os mecanismos de sinalização celular que envolvem e induzem estas respostas podem promover a remodelamento e a disfunção cardíaca, podendo acarretar em insuficiência cardíaca (SU et al., 2017). Portanto, o aumento do coração acompanhado pelas respostas celulares acima é caracterizado como patológico, e ao inibir as vias de sinalização poderá ser de interesse na terapêutica. Condições patológicas, tais como a hipertensão arterial sistêmica e infarto agudo do miocárdio, podem promover a hipertrofia cardíaca principalmente através de ação hormonal do eixo neuroendócrino e forças mecânicas, acompanhadas das vias de sinalização distintas das quais estão envolvidas no desenvolvimento da hipertrofia fisiológica (NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018).

É sabido que a estimulação β -adrenérgica pode levar ao aumento das taquiarritmias ventriculares, podendo levar a morte súbita dos cardiomiócitos. A estimulação dos receptores beta-adrenérgicos (β -AR) pode promover o aumento do vazamento do cálcio diastólico do RS através da ação da cálcio-calmodulina quinase II (CAMKII), podendo levar a uma diminuição do potencial de ação (APD). Em estudos recentes, também foi observado que a estimulação dos β -AR de forma aguda provocou falha cardíaca em seres humanos (KAMADA et al., 2019).

O aumento da atividade e da sinalização beta adrenérgica no cardiomiócito ventricular e a mesma sendo mantida com níveis elevados de catecolaminas na corrente sanguínea é comumente um forte indutor da hipertrofia cardíaca (SALEEM; PRASAD; GOSWAMI, 2017). Ademais, uma catecolamina adrenérgica agonista, como o isoproterenol (ISO) pode induzir hipertrofia cardíaca em animais, sendo a hipertrofia cardíaca induzida pelo ISO bem caracterizada, reprodutível e um modelo confiável da hipertrofia cardíaca patológica (CHA et al., 2010). O ISO, um agonista β -AR, representa o modelo mais utilizado que mimetiza a estimulação adrenérgica sustentada e representa um importante marco para a fisiopatologia da hipertrofia cardíaca (LI et al., 2014).

As catecolaminas são hormônios neuroendócrinos os quais podem ativar a adenilato ciclase para que ocorra uma elevação dos níveis do AMPc, através da ligação ao β -AR transmembrana. A sinalização do AMPc desempenha um papel essencial na proliferação e crescimento celular, e a mesma está envolvida no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca (SCHIRMER et al., 2018). O AMPc vai ativar a PKA, promovendo um aumento da concentração de Ca^{2+} citosólico através da fosforilação direta de proteínas de regulação do cálcio e proteínas contráteis (NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018).

Pesquisas recentes evidenciaram que um aumento no Ca^{2+} citosólico, causado por uma liberação abrupta de cálcio durante a sístole através dos RyR e aumento subsequente da $[\text{Ca}^{2+}]$ no citosol, está envolvido no mecanismo de doenças cardiovasculares, onde uma causa importante aumento do cálcio citosólico é causado pela enzima cálcio calmodulina quinase II (CaMKII) fosforilando o RyR2 (OKUDA et al., 2018). A CaMKII ainda pode modular uma série de proteínas chaves envolvidas na modulação do cálcio, como a SERCA e seu regulador a fosfolambam (PLB) e também o LTCC (NI et al., 2011).

O entendimento completo da cardiotoxicidade induzida pelo agonista do β -AR ainda não está elucidado e há alguns relatos de que a inflamação, a fibrose e estresse oxidativo, determinam um papel importante no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. Em estudos recentes mostraram que a hipertrofia cardíaca induzida por ISO está associada com aumento do estresse oxidativo cardíaco e alterações no eletrocardiograma (ELADWY et al., 2018).

Evidências substanciais demonstram que o aumento do estresse oxidativo leva a ativação do fator nuclear regulador da transcrição- κB (NF- κB) (NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018). O NF- κB é relatado como influenciador da fisiopatologia da hipertrofia cardíaca, incluindo remodelamento vascular, onde a via de sinalização do NF- κB é considerada uma via pró-inflamatória uma vez que aumenta a expressão de genes pró-inflamatórios incluindo citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão (ZHAO et al., 2017). A transcrição de mediadores pró inflamatórios, como IL-1 β , IL-6, TNF- α e COX-2 são regulados pelo NF- κB e o mesmo está ligado à hipertrofia cardíaca. Além disso, aumento do estresse oxidativo está ligado ao desenvolvimento da fibrose, e subsequentemente a indução da expressão de citocinas pró fibrogênicas como o TGF- β (MAAYAH et al., 2017).

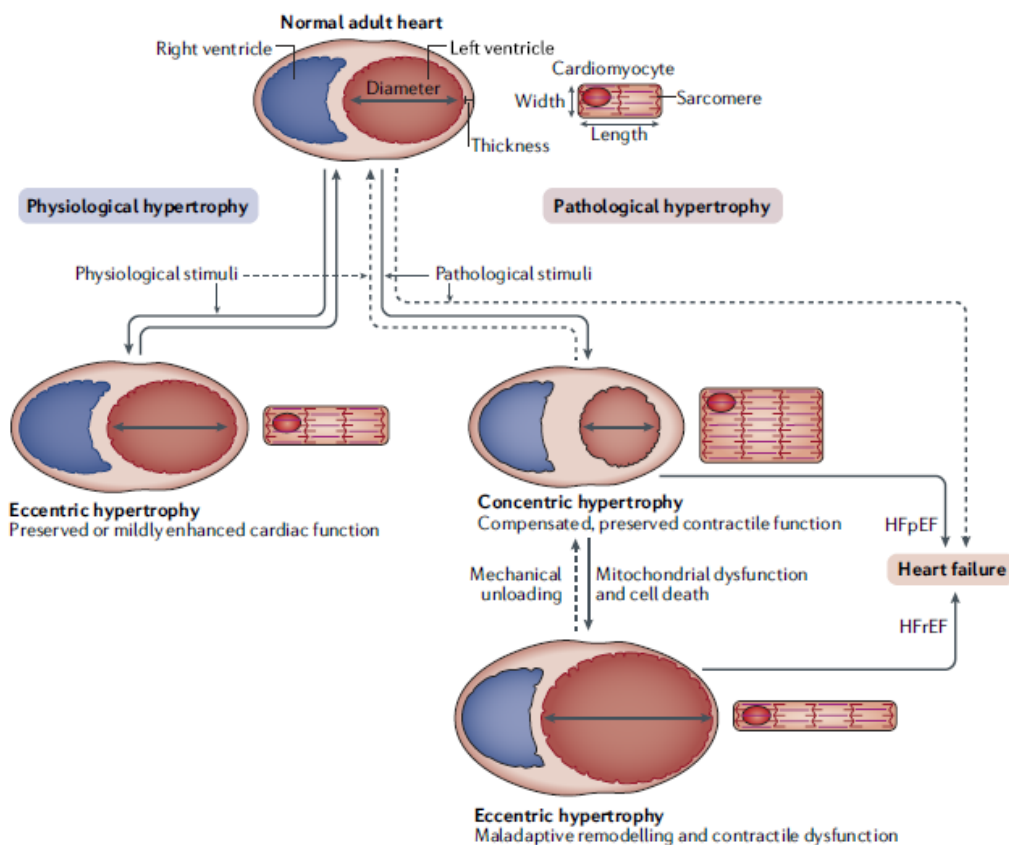


Figura 4. Coração normal (acima), seguido das duas classificações da hipertrofia cardíaca: Fisiológica (esquerda) e patológica (direita), (NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018).

2.6 Terpenos

Com a maior representação dentre os produtos naturais, os terpenos têm uma diversidade de funções na mediação de interações antagônicas e benéficas entre os organismos. Os mesmos podem ser encontrados em várias espécies de plantas, animais e microorganismos os quais atuam contra predadores, patógenos e competidores. Apesar da pluralidade, os quais os terpenos são conhecidos, é notável como características geneticamente diferentes, possuem propriedades estruturais semelhantes para objetivos em comum (GERSHENZON; DUDAREVA, 2007).

Os óleos essenciais são empregados e explorados há cerca de 3.500 anos pela humanidade (THOMPSON, 2005). De forma geral, os óleos essenciais são constituídos majoritariamente por terpenos ou seus derivados. Tais substâncias constituem-se como um extenso grupo de moléculas orgânicas produzidas como metabólitos secundários com a principal função de evitar injúrias promovidas por agentes externos (CORREIA et al., 2008; VIEGAS JÚNIOR, 2003). Todos os terpenos são basicamente estruturados em blocos de

cinco carbonos denominados de unidades de isopreno (C_5H_8), normalmente, ligadas entre si pela ordem “cabeça-a-cauda” (Fig. 5).

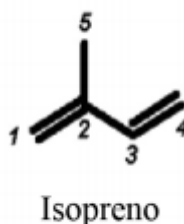


Figura 5. Estrutura do isopreno (FELIPE; BICAS, 2017).

Dessa forma, os terpenos podem ser classificados de acordo com a quantidade de resíduos de isopreno que sua estrutura possui: hemiterpenóides (C_5), monoterpenóides (C_{10}), sesquiterpenóides (C_{15}), diterpenóides (C_{20}), triterpenóides (C_{30}), tetraterpenóides (C_{40}) e politerpenóides ($C > 40$) (OLIVEIRA et al., 2003; KRIVORUCHKO; NIELSEN, 2015). Os monoterpenos são as moléculas mais encontradas nos óleos essenciais, representando 90% da sua composição. São moléculas constituídas por 10 átomos de carbono formados pela justaposição de duas unidades isoprênicas (SIMÕES et al., 2004).

Os monoterpenos são cada vez mais estudados devido às diversas propriedades biológicas apresentadas por estes compostos (DUBEY et al., 2003). Os mesmos são conhecidos por possuir uma diversidade considerável de propriedades biológicas entre estas inúmeras podemos citar a atividade antimicrobiana, fungicida, antiviral, anti-hiperglicêmica, anti-inflamatória, anti-parasitária e vasorelaxante (SILVA-FILHO et al., 2011). Os monoterpenos também produzem significantes efeitos sobre o sistema cardiovascular, promovendo vasorelaxamento, diminuição da frequência cardíaca, hipotensão e podem ser úteis como agentes na prevenção e/ou tratamento de doenças cardiovasculares, tais como arritmias cardíacas (SANTOS et al., 2011; MENEZES-FILHO et al., 2014).

Os terpenos são utilizados como matérias-primas para sabores e fragrâncias e como substâncias biologicamente ativas. A maioria dos terpenoides biologicamente ativos são produzidos como metabólitos secundários de plantas, e esses compostos mostraram ser biologicamente ativos contra plantas, microorganismos e insetos, onde várias tentativas foram feitas para identificar novos monoterpenoides biologicamente ativos (ONO et al., 2013; TIAN et al., 2013; GONZÁLEZ-RAMÍREZ et al., 2016).

2.7 Nerol

O nerol (cis-3-7-Dimethyl-2-6-octadien-1-ol), (Fig. 6) é classificado como um monoterpreno que possui fórmula molecular $C_{10}H_{18}O$. O mesmo é o *cis*- isômero do geraniol, na qual a ligação dupla é *trans*, e pode ser sintetizado através de pirólise do β -pineno, resultando em mirceno. É um líquido incolor que possui aroma de rosa doce, sendo largamente utilizado na perfumaria. (FAHLBUSCH et al., 2003).

É encontrado em muitos óleos essenciais, tais como erva-cidreira e lúpulo. Ele foi originalmente isolado do óleo de néroli, um óleo similar em aroma ao óleo de tangerina, produzido da flor da laranjeira (*Citrus X sinensis*), sendo largamente usado na produção de perfumes (COELHO, 2016). Também pode ser encontrado em muitos óleos essenciais e está contido em várias plantas, como *Cymbopogon flexuosos* (capim-limão), *Wisteria brachybotrys* (glicínia) e *Rosa damascaeana* (rosa-chá) (ONO et al., 2013; TIAN et al., 2013; GONZÁLEZ-RAMÍREZ et al., 2016).

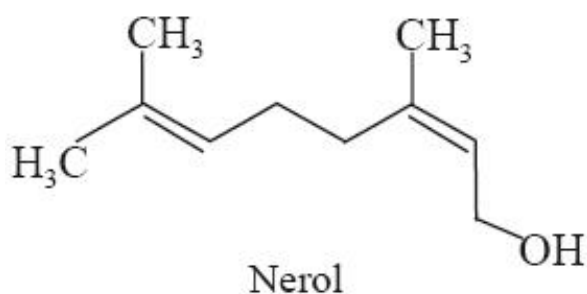


Figura 6. Estrutura química do Nerol. Disponível em <http://www.e Pharmacognosy.com/2012/05/alcohol-volatile-oils.html>.

O nerol possui algumas propriedades biológicas já descritas na literatura tais como efeitos antioxidante (COELHO, 2016), antinociceptivo (GONZÁLEZ-RAMÍREZ et al., 2016), gastroprotetor (ANGELIS, 2012), antiinflamatório (GONZÁLEZ-RAMÍREZ et al., 2016), ansiolítico (MARQUES et al., 2013) antibacteriano (JIROVETZ et al., 2007) e antifúngico (TIAN et al., 2013). Estudos recentes mostraram, utilizando a técnica de patch-clamp, que o nerol tem ação bloqueadora do canal de cálcio tipo-L em cardiomiócito de caobaia isolado apresentando efeito antiarrítmico em modelo de arritmia induzida pela ouabaína, um digitálico cardiotônico (MENEZES-FILHO et al., 2019).

Tendo em vista as diversas atividades biológicas apresentadas pelo nerol, alguns trabalhos têm sido realizados com intuito de esclarecer o mecanismo de ação deste composto. No entanto, as informações encontradas são apresentadas de forma disseminada e ainda não foram sumarizadas, o que impede o estabelecimento de conclusões acerca de seus mecanismos de ação. Além disso, a literatura já mostra que os bloqueadores de canais para cálcio, tais como nifedipina e o verapamil, por diminuïrem o cálcio intracelular, apresentam um efeito antihipertrófico. Dessa forma, como nerol age como um antagonista de cálcio, tem efeito antioxidante e antiinflamatório, resolvemos avaliar os possíveis efeitos cardioprotetores do nerol em coração de rato em modelo de hipertrofia cardíaca induzida por estimulação crônica dos β -AR.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito cardioprotetor do nerol frente à hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol em rato.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito cardioprotetor do nerol sobre a hipertrofia cardíaca determinando os seguintes parâmetros:
 - Avaliar os parâmetros morfométricos
 - Mensurar os marcadores bioquímicos de lesão tecidual;
 - Analisar os parâmetros eletrocardiográficos;
 - Avaliar a contratilidade cardíaca;
 - Determinar a pressão coronariana;
 - Avaliar os parâmetros histopatológicos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Nos procedimentos experimentais foram utilizados ratos Wistar adultos, pesando entre 200 e 250 g, reproduzidos, criados e mantidos pelo biotério setorial do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe e, posteriormente, alojados no biotério do Laboratório de Biofísica do Coração. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de horas à temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ \text{C}$), onde tiveram livre acesso à água e ração. As carcaças foram encaminhadas para o biotério setorial do Departamento de Fisiologia para posterior descarte. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFS (protocolo 29/2018/ANEXO A) e de acordo com as regras previstas pela lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008.

4.2 Reagentes

O nerol (cis-3-7-Dimethyl-2-6-octadien-1-ol, pureza 97%) foi adquirido da Sigma-Aldrich. A N-acetilcisteína foi adquirida da farmácia Santo Antônio S.A (Itabaiana, SE, Brasil). A quetamina e xilazina foram adquiridos da Ceva (Brasil). O Tissue-Tek foi adquirido da Sakura Finetek (USA). O cloreto de sódio P.A. (NaCl), cloreto de cálcio diidratado P.A. ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), cloreto de magnésio ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), fosfato de sódio monobásico monohidratado P.A. ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e o bicarbonato de sódio (NaHCO_3) foram adquiridos da Merck (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). O cloreto de potássio (KCl), Tricrômico de Masson e formalina foram adquiridos da VETEC (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a heparina da Roche (São Paulo, SP, Brasil).

4.3 Hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol

A hipertrofia cardíaca foi induzida pela administração crônica de isoproterenol (ISO), um agonista do receptor β -adrenérgico não específico (β -AR), como previamente descrito (GAVIOLI et al., 2014). Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em 5 grupos experimentais e foram tratados por 7 dias (Fig. 7).

- 1) Grupo controle (CTR; n = 6): constituído de animais que receberam solução salina + DMSO 0,1%, por via intraperitoneal;
- 2) Grupo nerol (nerol, n = 6): animais receberam nerol (50 mg/kg) diluído em DMSO 0,1%, por via intraperitoneal;
- 3) Grupo hipertrofia cardíaca (ISO; n = 6): animais receberam isoproterenol (4,5 mg/kg), por via intraperitoneal;
- 4) Grupo hipertrofia cardíaca + nerol (ISO + nerol, n = 6): animais receberam isoproterenol (4,5 mg/kg/dia, i.p) + nerol (50 mg/kg), por via intraperitoneal;
- 5) Grupo hipertrofia cardíaca + NAC (ISO + NAC, n = 6): animais receberam isoproterenol (4,5 mg/kg/dia, i.p) + N-acetilcisteína (NAC, 50 mg/kg), por via intraperitoneal;

Os animais receberam primeiramente o ISO e após 30 minutos receberam nerol ou NAC.

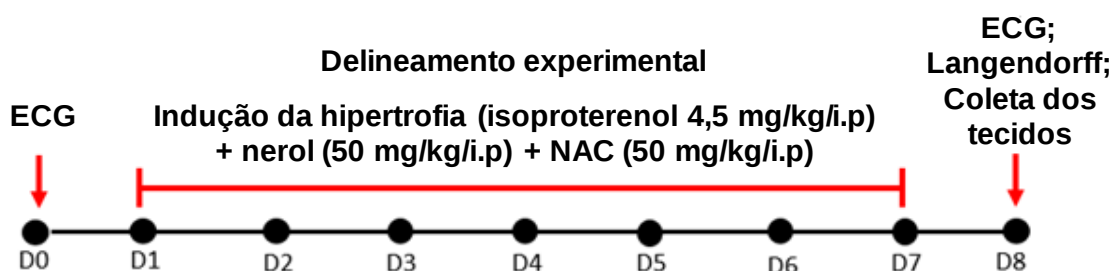


Figura 7. Delineamento experimental do tratamento dos animais para a indução da hipertrofia cardíaca.

4.4 Parâmetros morfométricos

Para análise dos parâmetros morfométricos, os animais foram pesados no 1º dia de tratamento (D1) e 24 h o término do tratamento (8º dia) (D8). No oitavo dia, os animais foram mortos e, posteriormente, foram feitas as pesagens dos corações, após secagem em papel filtro com auxílio de uma balança de precisão. As medidas do comprimento da tíbia, foram feitas com a ajuda de um paquímetro. Em todos os grupos experimentais avaliados, foi calculada a razão entre peso do coração/peso do animal (mg/g), assim como, a razão do peso do coração/comprimento da tíbia (mg/cm).

4.5 Determinação dos marcadores bioquímicos do dano tecidual

Diferentemente dos outros grupos experimentais, os animais não receberam heparina para que não ocorressem alterações nos parâmetros bioquímicos. Após tratamento, os animais foram decapitados, realizado toracotomia para posterior coleta do sangue diretamente do ventrículo esquerdo. Para obtenção do soro, o sangue foi acondicionado em tubo de coleta sem a presença de anticoagulante, centrifugado a 4.500 r.p.m, durante 15 minutos, a temperatura ambiente. Após a obtenção do soro, o procedimento operacional padrão para as dosagens foi realizado de acordo com a bula do fabricante. As dosagens enzimáticas realizadas foram a desidrogenase láctica (LDH), creatinofosfoquinase total (CPK-TOTAL) e creatinofosfoquinase fração MB (CPK-MB), em triplicata, usando kit de dosagem comercial da Labtest®. As análises das amostras foram realizadas no aparelho LABMAX 240 PREMIUM.

4.6 Registro eletrocardiográfico (ECG)

No oitavo dia, os animais foram anestesiados com quetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) e foram mantidos na posição supina com respiração espontânea. Três eletrodos de aço inoxidável foram implantados subcutaneamente para registro do ECGs de superfície na derivação II. Os sinais do ECG foram registrados durante 15 minutos, foram amplificados por um cardioscópio (EMAI RX10), digitalizados (Powerlab 4/35, ADInstrument) e armazenados em computador para processamento offline. Em todos os grupos experimentais foram medidos manualmente, em 10 batimentos consecutivos, os seguintes parâmetros: Frequência cardíaca (FC), a qual foi obtida após o seguinte cálculo ($60/RR$), intervalo PR (PRi), intervalo QT (QTi), duração do complexo QRS. O QTi foi corrigido pela FC usando a equação de Bazett normalizada para roedores: $QTc = QT/\sqrt{RR/f}$, onde f = média do intervalo RR do controle (0,259 s) (GONDIM et al., 2017; KMECOVA; KLIMAS, 2010).

4.7 Medidas da pressão do ventrículo esquerdo e pressão coronariana

Após o último dia de tratamento dos respectivos grupos, os animais receberam uma dose de heparina via intraperitoneal (1000 U.I, i.p.) para evitar a formação de rombos coronarianos. Em seguida, os animais foram decapitados, realizado toracotomia, o coração foi

removido e montado em sistema de perfusão aórtica retrógrada do tipo Langendorff de fluxo constante (8 ml/min), (Bomba Peristáltica, Milan, Paraná, Brasil). O coração foi mantido sob perfusão em solução de Krebs-Henseleit (em mM: 118,0 NaCl, 4,7 KCl, 1,2 MgSO₄, 25,0 NaHCO₃, 1,25 CaCl₂, 11,1 glicose, 1,2 KH₂PO₄, pH ajustado para 7,4), previamente filtrado (0,45 µm), aerado (95% de O₂ + 5% de CO₂) e mantida à uma temperatura de $34 \pm 0,1^\circ \text{C}$ (Haake F3, Berlim, Alemanha). A pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (PDVE) foi mensurada utilizando um balonete preenchido com água (15 cmHg) e introduzido na câmara do ventrículo esquerdo após remoção da aurícula esquerda. Este dispositivo foi acoplado a um transdutor de pressão (MTL0699/A). Os sinais foram amplificados (BRIDGE Amp FE221, ADInstrument), digitalizados (PowerLab 4/35 ADInstrument) e armazenados em computador. O sistema foi calibrado utilizando uma coluna de mercúrio. Com auxílio do software Labchart Pro 8.0 (ADInstrument) foram determinados a PDVE, a derivada máxima de contração (+dP/dt), a derivada máxima de relaxamento (-dP/dt), duração da sístole e duração da diástole, as quais as duas últimas medidas foram mensuradas em segundos. A pressão coronariana foi mensurada via acesso anterior a cânula da aorta e monitorado com o auxílio de uma coluna de água (capilar de vidro) acoplada á uma régua, sendo a sua escala medida em centímetros de água (CmH₂O).

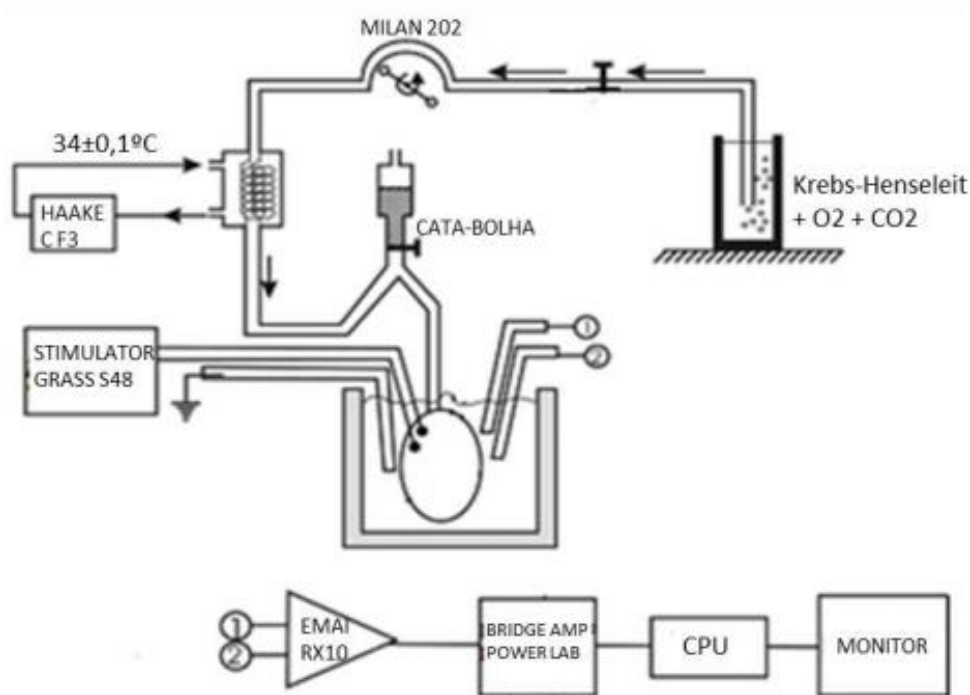


Figura 8. Imagem representativa do sistema de perfusão aórtica de fluxo constante do tipo Langendorff usado para registrar simultaneamente o ECG e a pressão intraventricular. Fonte: (VASCONCELOS et al., 2005).

4.8 Análises histopatológicas

Para as análises histopatológicas dos corações, nos diferentes grupos experimentais, os animais foram heparinizados (1000 U.I/Kg). Após 15 minutos, foi realizada a toracotomia e aplicado solução de cloreto de potássio (KCl 10%) no átrio direito afim de manter os cardiomiócitos em diástole. Em seguida, os corações foram removidos e fixados em formalina tamponada a 10%, emblocados em parafina e seccionados em 5µm de espessura para posterior coloração de Tricromo de Masson. Essa análise foi realizada no Laboratório de Patologia Molecular e Experimental (LPME), localizado no Instituto de Tecnologia e Pesquisa (ITP), situado na Universidade Tiradentes (Aracaju, Sergipe, Brasil).

A área de fibrose foi mensurada através de fotografia microscópica das lâminas histológicas dos grupos experimentais em objetiva de 10x com aumento real de 100x e para a medição relativa da área de fibrose foi realizada com auxílio do software ImageJ (1.52a, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA). A área de secção transversa do ventrículo esquerdo também foi mensurada com auxílio do software ImageJ (1.52a, Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA).

4.9 Análise Estatística

Todos os dados foram expressos como médias $\pm$ EPM. Comparações estatísticas foram realizadas usando GraphPad Prism 6.0 (San Diego, CA, EUA). Diferenças significativas entre os grupos foram determinadas por ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

5 Resultados

5.1 Análise morfométrica

A Fig. 9A mostra as imagens representativas dos corações isolados no final do tratamento nos diferentes grupos experimentais. É possível perceber o aumento do tamanho do coração no grupo hipertrofia. Os resultados da análise morfométrica evidenciaram um aumento na relação peso do coração/peso corporal ($4,89 \pm 0,13$ mg/g, $p < 0,05$) no grupo ISO em relação ao grupo controle ($2,82 \pm 0,04$ mg/g, $p < 0,05$), que foi atenuado no grupo ISO + nerol ($3,77 \pm 0,16$ mg/g, $p < 0,05$) e no grupo ISO + NAC ($3,48 \pm 0,08$ mg/g, $p < 0,05$) Fig 9B. Com relação à razão peso do coração/comprimento da tíbia, os resultados mostraram aumento nesse parâmetro no grupo ISO ($350,4 \pm 8,64$ mg/cm, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($184,8 \pm 1,94$ mg/cm), que foi atenuado pelo tratamento dos animais com ISO + nerol ($261,2 \pm 8,84$ mg/cm, $p < 0,05$) e com o ISO + NAC ($256,7 \pm 1,26$ mg/cm, $p < 0,05$) Fig. 9C.

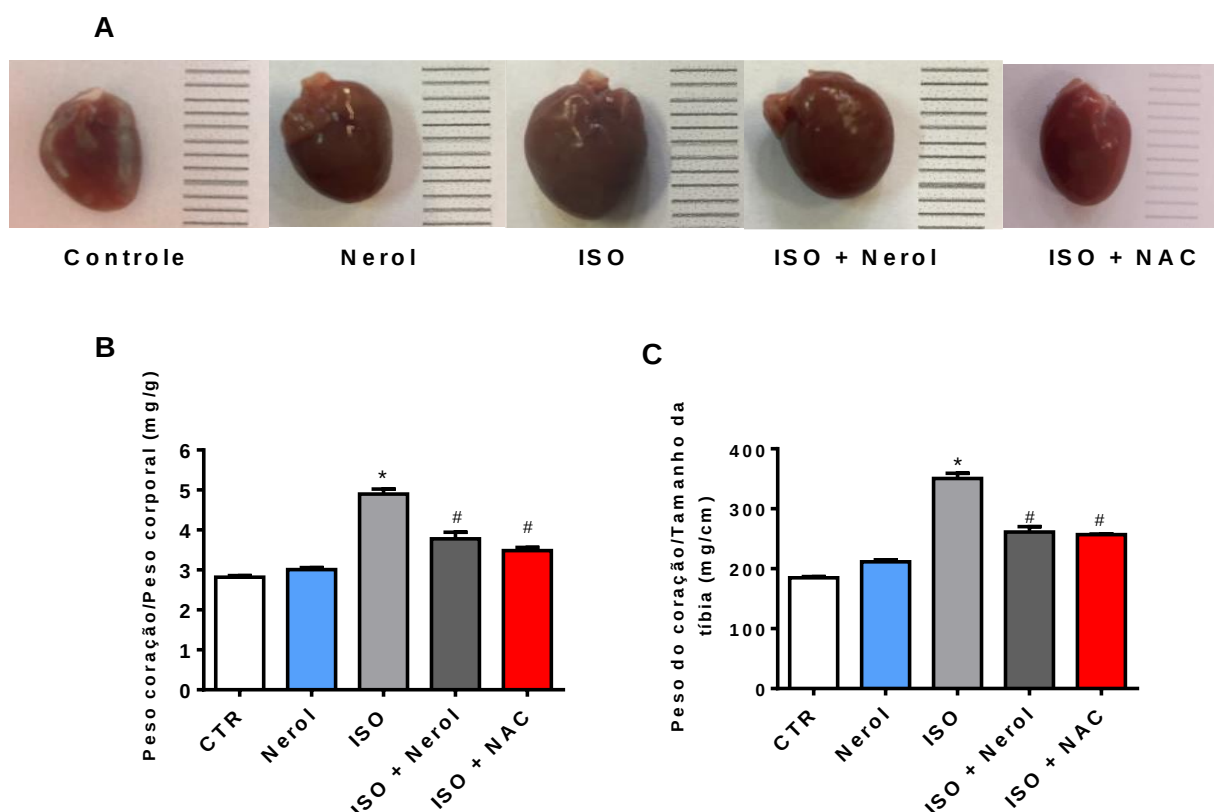


Figura 9. Parâmetros morfométricos nos animais hipertróficos e tratados com o nerol. (A) Imagens representativas dos corações dos grupos submetidos aos diferentes tratamentos (B) Relação peso do coração/peso corporal e (C) peso do coração/comprimento da tíbia nos diferentes grupos experimentais (* $p < 0,05$ vs CTR; # $p < 0,05$ vs ISO, $n = 6$). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

A Fig. 10 evidencia o peso corporal ao final do tratamento nos diferentes grupos experimentais. Os resultados mostraram diminuição do peso corporal ($187,6 \pm 2,9$ g, $p < 0,05$) no grupo ISO em relação ao grupo controle ($245,6 \pm 1,0$ g, $p < 0,05$) que foi prevenido no grupo ISO + nerol ($233,0 \pm 1,9$ g, $p < 0,05$) e no grupo ISO + NAC ($237,4 \pm 1,6$ g, $p < 0,05$).

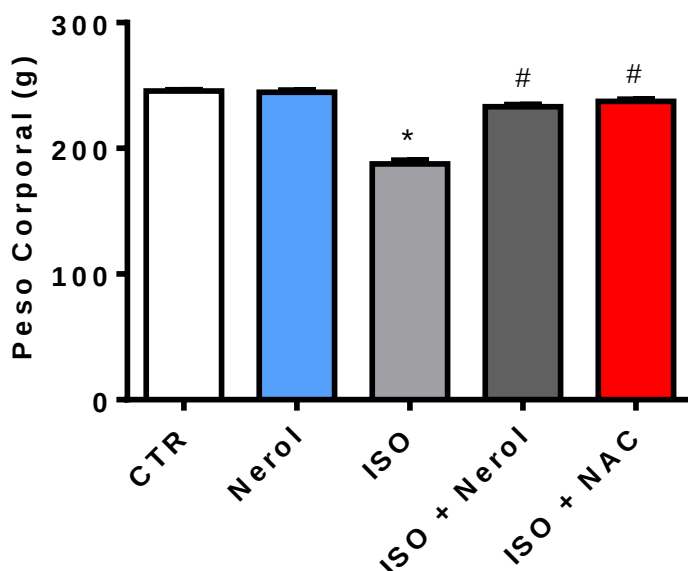


Figura 10. Peso corporal dos animais nos diferentes grupos experimentais (* $p < 0,05$ vs CTR; # $p < 0,05$ vs ISO, $n = 6$). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

5.2 Marcadores bioquímicos de lesão tecidual

Os resultados bioquímicos dos marcadores de dano tecidual evidenciaram um aumento na concentração plasmática de CPK ($235,6 \pm 29,9$ U/L, $p < 0,05$, Fig. 10A), CK-MB ($49,5 \pm 5,57$ U/L, $p < 0,05$, Fig. 10B), e LDH ($126,8 \pm 11,2$ U/L, $p < 0,05$, Fig 10C) nos animais tratados com ISO em relação ao grupo controle (CPK: $49,6 \pm 2,11$ U/L, CK-MB: $6,52 \pm 0,22$ U/L; e LDH: $56,4 \pm 2,42$ U/L). Interessantemente, como pode ser observado na Fig. 11A, B e C, os resultados revelaram que os níveis plasmáticos dos marcadores avaliados retornaram ao valor do grupo controle nos animais tratados com o nerol (CPK: $48,20 \pm 9,75$ U/L, CK-MB: $12,9 \pm 2,54$ U/L; e LDH: $78,50 \pm 11,29$ U/L, $p < 0,05$). O tratamento dos animais com o NAC também mostrou atenuação do aumento dos marcadores bioquímicos avaliados (CPK: $43,80 \pm 1,65$ U/L, CK-MB: $12,30 \pm 0,16$ U/L; e LDH: $72,60 \pm 1,72$ U/L, $p < 0,05$).

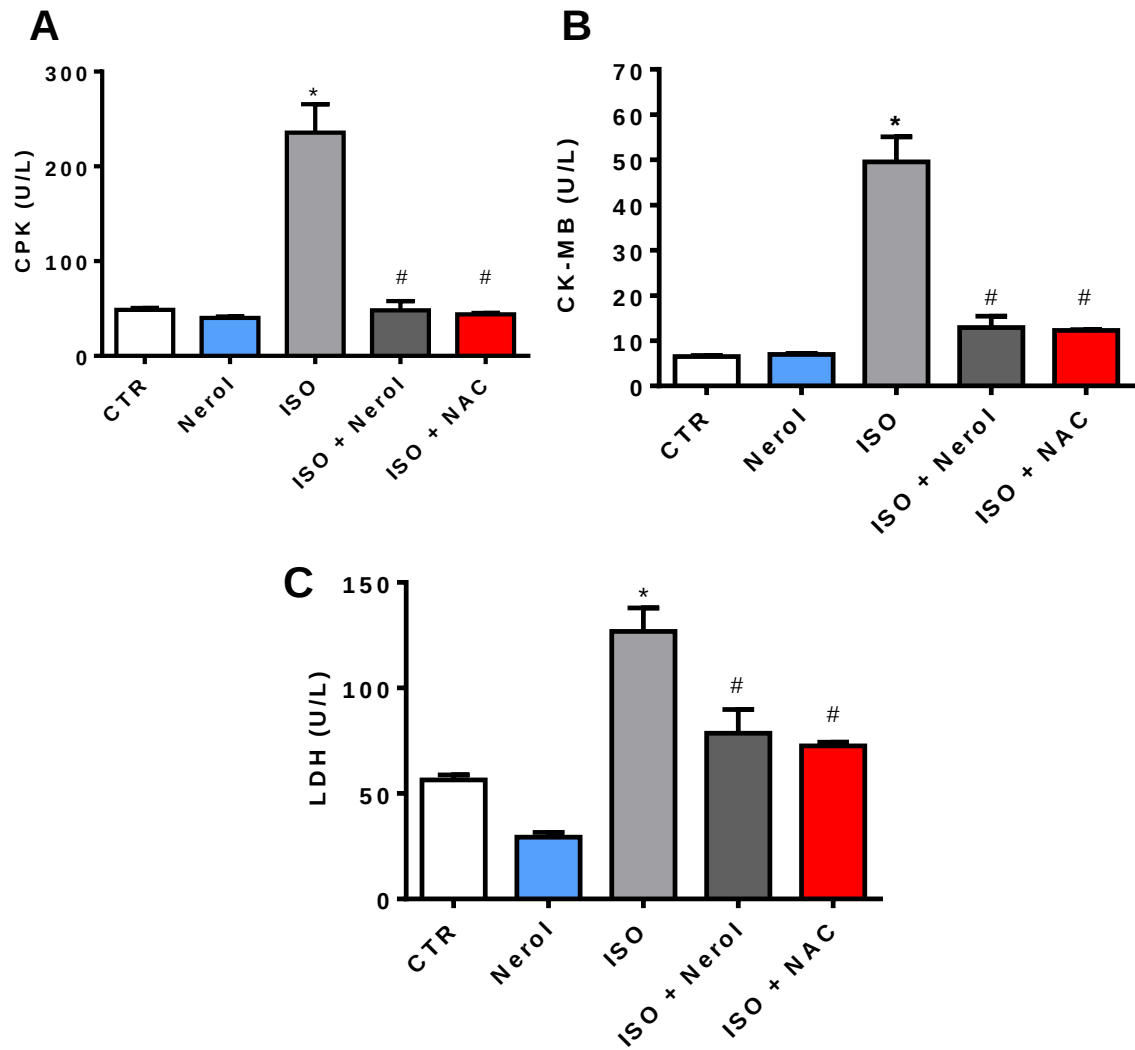


Figura 11. Parâmetros bioquímicos de dano tecidual avaliados nos animais hipertróficos e tratados com o nerol. (A) CPK, (B) CK-MB e (C) desidrogenase láctica (LDH) nos diferentes grupos experimentais (*p < 0,05 vs CTR; # p < 0,05 vs ISO, n = 6). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

5.3 Parâmetros eletrocardiográficos

A Fig. 12A mostra traçados representativos do ECG nos 5 grupos experimentais avaliados. Pode se observar que no grupo ISO ocorreu a inversão da onda T (seta) no registro eletrocardiográfico, indicativo de isquemia do miocárdio, o qual não foi evidenciado nos animais tratados com nerol ou NAC. O aumento da massa dos ventrículos na hipertrofia cardíaca causa um incremento na duração do QRS. Realmente, como pode ser observado na Fig. 12B houve um aumento na duração do complexo QRS no grupo ISO ($43,4 \pm 0,6$ ms, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($22,75 \pm 0,32$ ms, $p < 0,05$), o qual foi atenuado no grupo ISO + nerol ($23,0 \pm 0,6$ ms, $p < 0,05$) e no grupo ISO + NAC ($23,7 \pm 0,2$ ms, $p < 0,05$).

Na mensuração do QTc, que mede o tempo de despolarização e repolarização dos ventrículos, os resultados evidenciaram que houve diferença entre os grupos ISO ($114,2 \pm 0,2$ ms, $p < 0,05$), controle ($69,1 \pm 1,3$ ms, $p < 0,05$), ISO + nerol ($56,6 \pm 5,7$ ms, $p < 0,05$) e ISO + NAC ($65,3 \pm 1,8$ ms, $p < 0,05$, Fig. 12C). Entretanto, como se pode observar os animais tratados apenas com o nerol apresentaram uma redução significativa do QTc em relação ao grupo controle. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa no PRi e frequência cardíaca nos grupos experimentais avaliados (Fig. 12D e E).

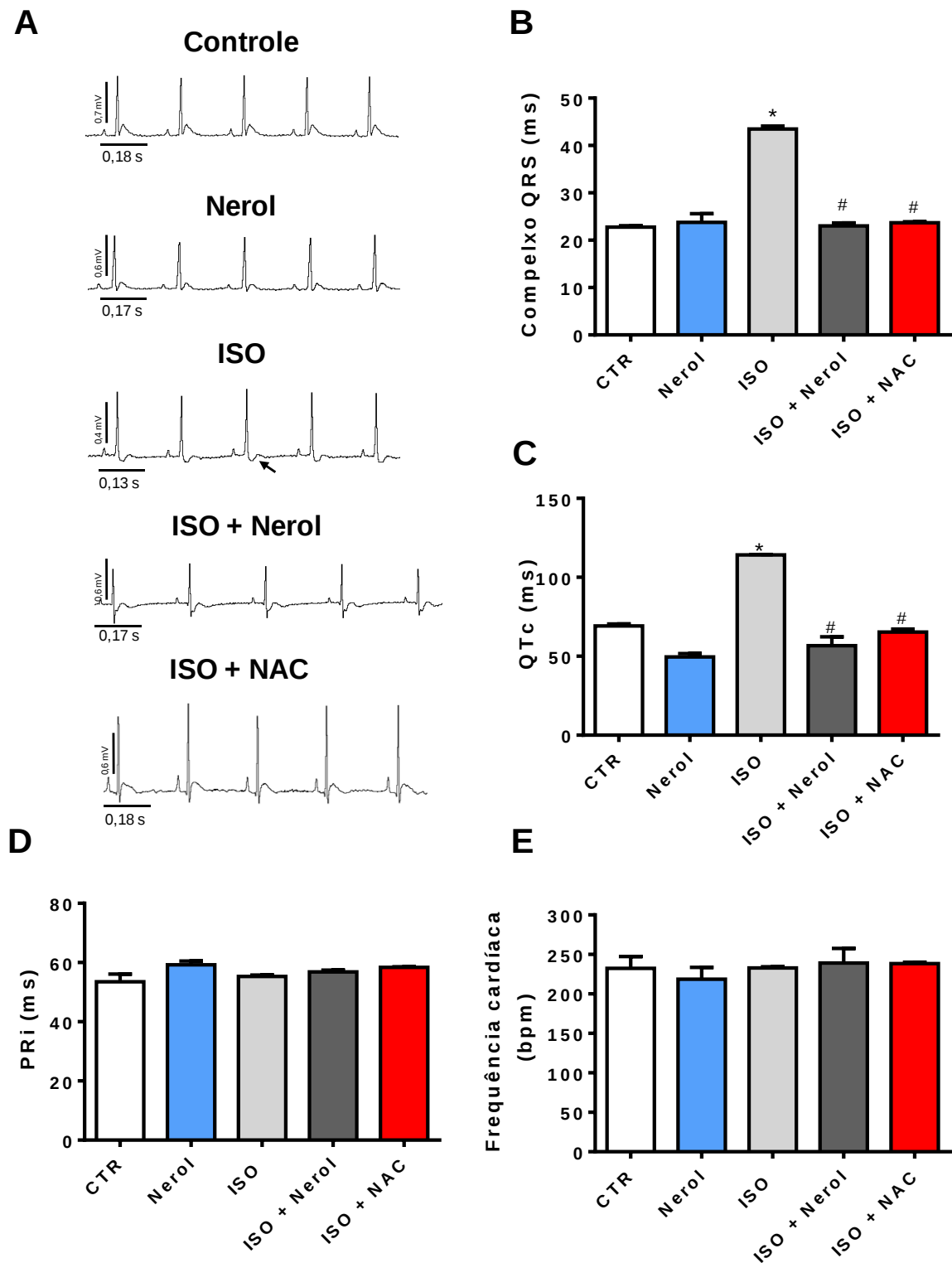


Figura 12. Parâmetros eletrocardiográficos nos animais hipertróficos e tratados com o nerol. (A) registro das ondas eletrocardiográficas (B) Mensuração do complexo QRS, nos diferentes grupos experimentais, (C) QT corrigido, (D) intervalo PR (E) frequência cardíaca (* $p < 0,05$ vs CTR; # $p < 0,05$ vs ISO, $n = 6$). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

5.4 Contratilidade cardíaca

A Fig. 13A mostra registros de pressão do ventrículo esquerdo (PVE) nos 5 grupos experimentais avaliados. É possível observar que no grupo ISO ocorreu uma diminuição da PVE (característico da insuficiência cardíaca), assim como, nos corações dos animais tratados apenas com o nerol. Os resultados médios da PVE (Fig. 13B) evidenciaram uma diminuição significativa da PVE no grupo ISO ($10,9 \pm 2,9$ mmHg, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($46,9 \pm 3,6$ mmHg, $p < 0,05$) o qual foi atenuado no grupo ISO + Nerol ($40,7 \pm 2,2$ mmHg, $p < 0,05$) e no grupo ISO + NAC ($43,4 \pm 1,3$ mmHg, $p < 0,05$).

As análises das curvas de PVE mostraram que houve redução na duração da sístole no grupo ISO ($0,09 \pm 0,01$ s, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($0,20 \pm 0,03$ s, $p < 0,05$), o qual foi atenuada nos grupos ISO + Nerol ($0,14 \pm 0,03$ s, $p < 0,05$) e ISO + NAC ($0,18 \pm 0,05$ s, $p < 0,05$, Fig. 13C). Com relação à duração da diástole (Fig. 13 D), os resultados mostraram não haver diferença significativa desse parâmetro nos 5 grupos experimentais. Os resultados mostraram que houve redução da $+dP/dt$ (Fig. 13E) no grupo ISO ($496,7 \pm 139,8$, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($975,8 \pm 163,7$, $p < 0,05$), o qual foi atenuado no grupo ISO + Nerol ($1095 \pm 48,6$, $p < 0,05$) e no grupo ISO + NAC ($1102 \pm 5,18$, $p < 0,05$). Os resultados da $-dP/dt$ também mostraram redução desse parâmetro no grupo ISO ($-190,5 \pm 33,8$, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($-822,8 \pm 138,7$, $p < 0,05$) o qual foi atenuado no grupo ISO + Nerol ($-558,0 \pm 22,5$, $p < 0,05$) e no grupo ISO + NAC ($-581,5 \pm 13,0$, $p < 0,05$) (Fig. 13F).

Os animais tratados apenas com o nerol apresentaram tanto redução da $+dP/dt$ quanto da $-dP/dt$ em relação ao grupo controle, como pode ser visto nas Fig. 13E e F, respectivamente.

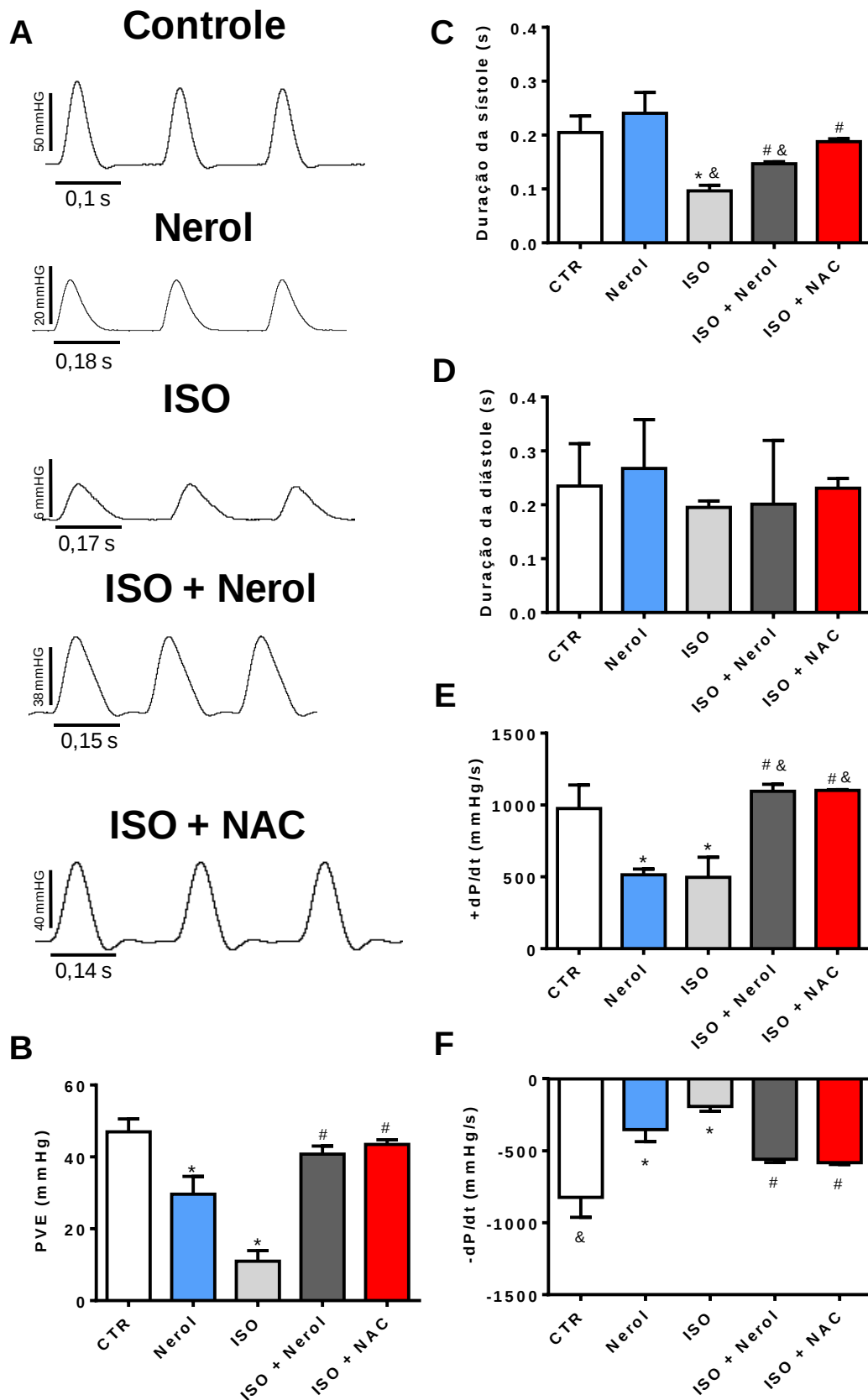


Figura 13. Parâmetros contráteis nos animais hipetróficos e tratados com o nerol. (A) Curvas de força contrátil ventricular esquerda **(B)** Mensuração da pressão ventricular **(C)**

duração da sístole (**D**) duração da diástole (**E**) derivada máxima da contração (**F**) derivada mínima da contração (* $p < 0,05$ vs CTR; # $p < 0,05$ vs Isso; & $p < 0,05$ vs Nerol $n = 6$). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

5.5 Pressão coronariana

A Fig. 14 evidencia os resultados da pressão coronariana nos diferentes grupos experimentais. É possível observar que no grupo hipertrófico houve uma diminuição ($44,6 \pm 1,6$ cmH₂O, $p < 0,05$) em relação ao grupo controle ($90,6 \pm 1,7$ cmH₂O, $p < 0,05$), o qual foi prevenido no grupo ISO + nerol ($77,6 \pm 1,4$ cmH₂O, $p < 0,05$) e no grupo ISO + NAC ($78,8 \pm 1,0$ cmH₂O, $p < 0,05$)

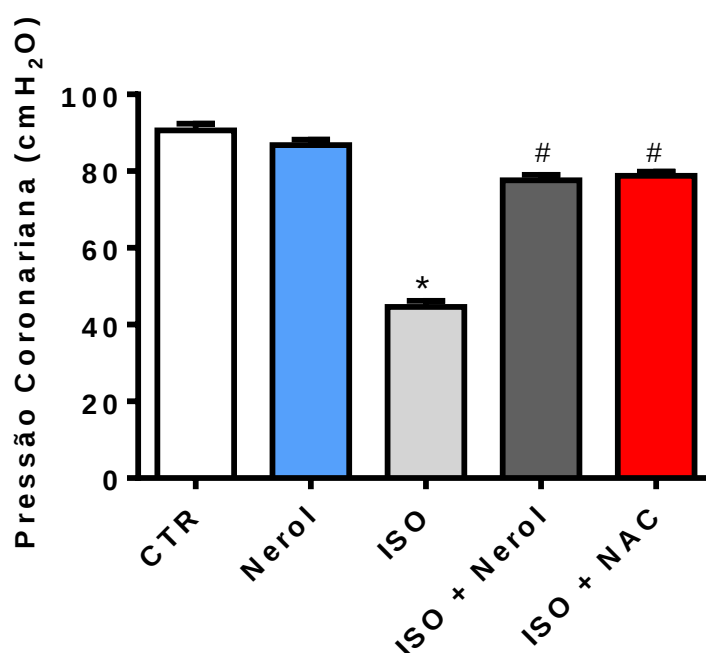


Figura 14. Pressão coronariana nos animais hipertróficos e tratados com nerol (* $p < 0,05$ vs CTR; # $p < 0,05$ vs ISO, $n = 6$). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

5.6 Histopatologia

A Fig. 15 mostra cortes histológicos dos corações do grupo ISO. O isoproterenol promoveu alterações histológicas nos tecidos cardíacos avaliados. Dentre essas alterações, podemos observar uma perda de tecido muscular cardíaco viável com substituição por tecido conjuntivo partindo do endocárdio para o pericárdio (Fig. 15A). Além disso, o tecido apresentou edema (Fig. 15B), fibrose intersticial, indícios de necrose e aumento da atividade angiogênica (Fig. 15C) e apresentou fuso celular bastante alongado com núcleos volumosos (Fig. 15D).

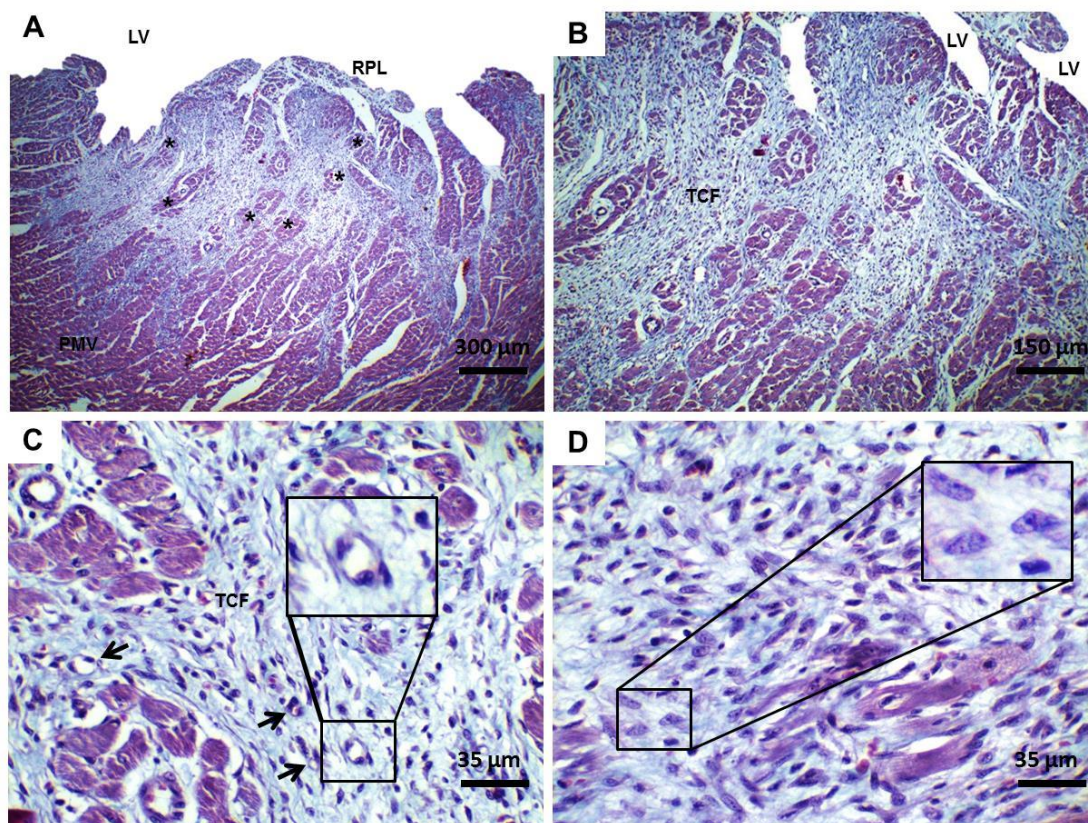


Figura 15. Cortes histológicos mostrando o dano tecidual do coração ocasionado pelo isoproterenol. (A) Perda de tecido conjuntivo, luz ventricular (LV) e região periluminal (RPL) (B) presença de edema intersticial e tecido conjuntivo fibroso (TCF), (C) tecido conjuntivo fibroso (TCF) com presença de angiogênese (seta), (D) fuso celular alongado com núcleos volumosos.

A Fig. 16 mostra os cortes histológicos nos 5 grupos experimentais: controle (A), nerol (B), ISO (C), ISO + nerol (D) e ISO + NAC (E). Como pode ser visto no painel D, os corações dos animais tratados com ISO + nerol mostraram apresentaram diminuição do infiltrado inflamatório, edema intersticial e tecido conjuntivo fibroso associado à diminuição da atividade angiogênica.

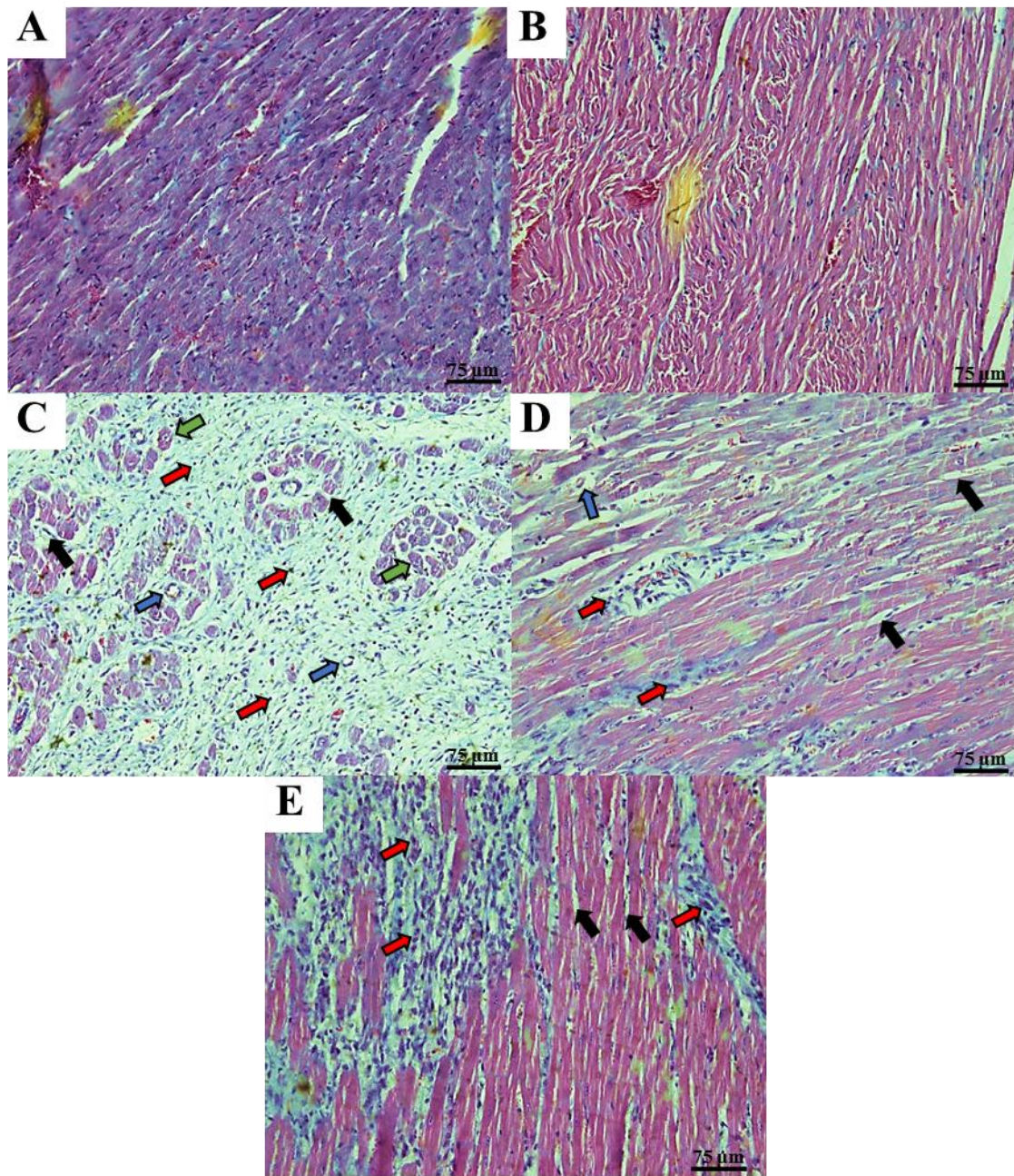


Figura 16. Cortes histológicos dos corações nos diferentes grupos experimentais. Células mononucleares (seta vermelha), aumento da atividade angiogênica (seta azul), fuso celular compatível com fibroblastos (seta verde) e edema intersticial (seta preta) nos diferentes grupos experimentais. (A) controle (B) nerol (C) isoproterenol (D) isoproterenol + nerol (E) isoproterenol + NAC.

Ademais, os resultados histológicos também evidenciaram que o isoproterenol foi capaz de causar aumento na área de fibrose como podemos observar na Fig. 17. Foi observado aumento da área de fibrose no grupo ISO ($61,13 \pm 3,16 \%$, $p < 0,05$) em relação ao grupo CTR ($4,57 \pm 0,11\%$). Interessantemente, os animais tratados ISO + nerol ($25,60 \pm 0,90\%$, $p < 0,05$) e ISO + NAC ($26,44 \pm 0,57\%$, $p < 0,05$) apresentaram uma diminuição significativa da área de fibrose.

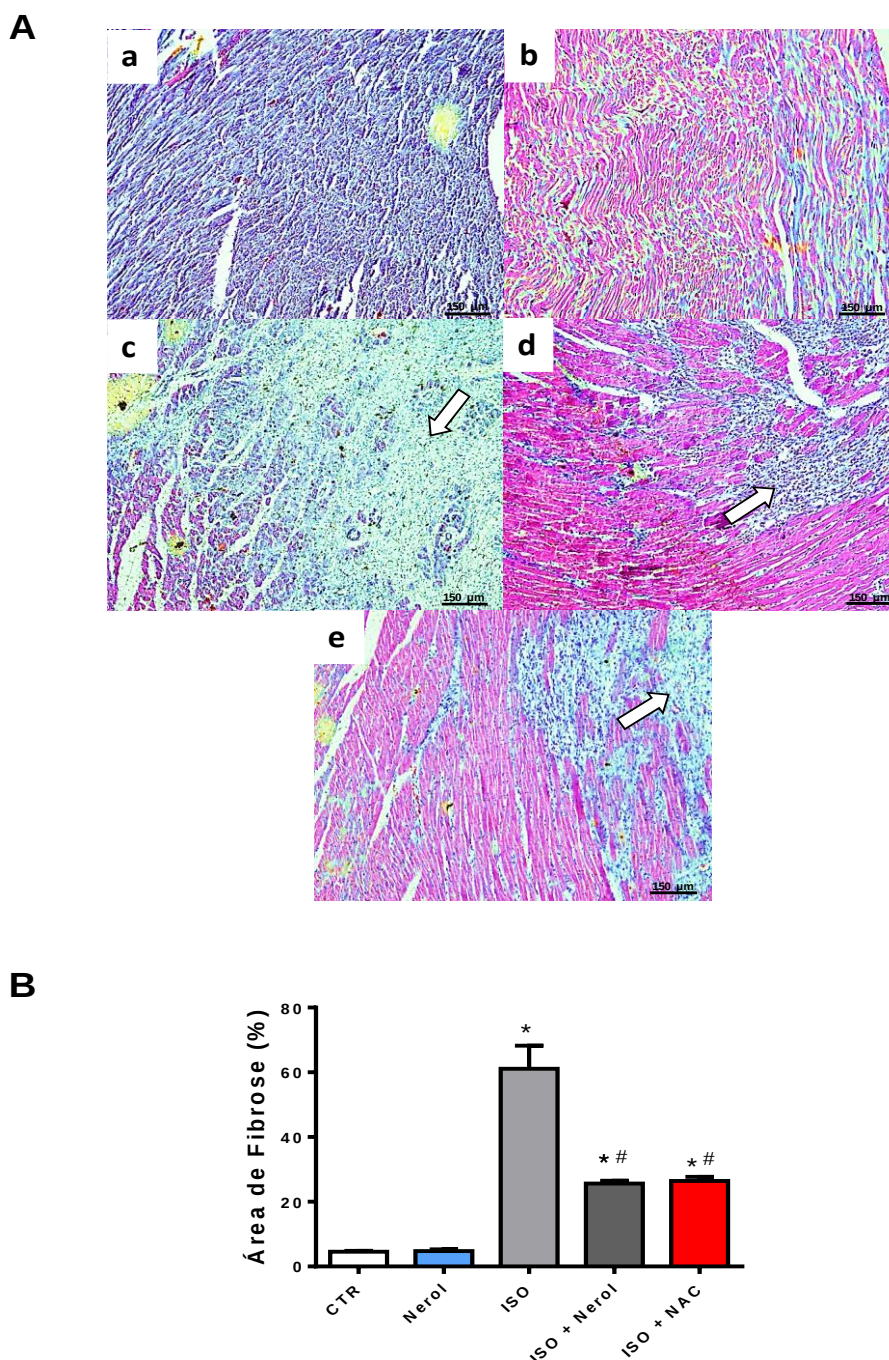
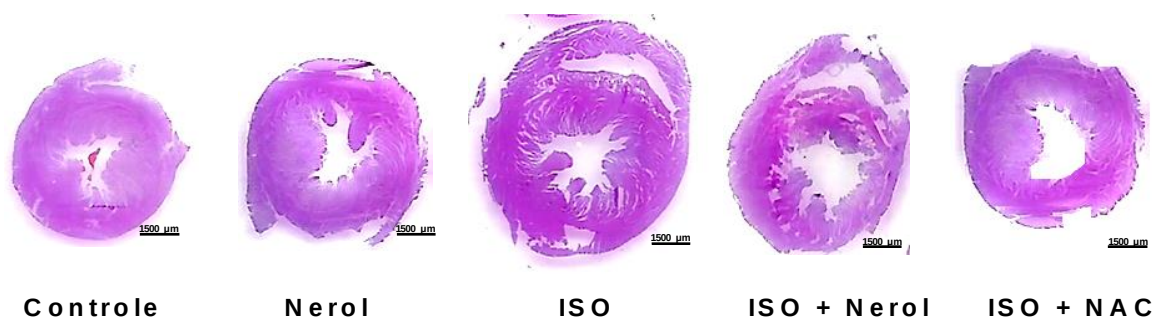


Figura 17. Cortes histológicos dos corações dos grupos experimentais avaliados. (A) A área de fibrose está representada pela seta branca. (a) controle (b) nerol (c) isoproterenol (d)

isoproterenol + nerol **(e)** isoproterenol + NAC. **(B)** valor relativo da área de fibrose nos diferentes grupos experimentais (* $p < 0,05$ vs CTR; # $p < 0,05$ vs ISO, $n = 6$). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

A Fig. 18 mostra os cortes seccionais transversos dos cortes histológicos. É possível observar aumento da massa ventricular esquerda no grupo ISO ($345,0 \pm 2,6 \mu\text{m}^2$, $p < 0,05$) em relação ao grupo CTR ($84,6 \pm 2,2 \mu\text{m}^2$, $p < 0,05$). Interessantemente, os animais tratados ISO + nerol ($220,0 \pm 2,8 \mu\text{m}^2$, $p < 0,05$) e ISO + NAC ($215,8 \pm 2,6 \mu\text{m}^2$, $p < 0,05$) apresentaram uma diminuição significativa da área de secção transversa do ventrículo esquerdo.

A



B

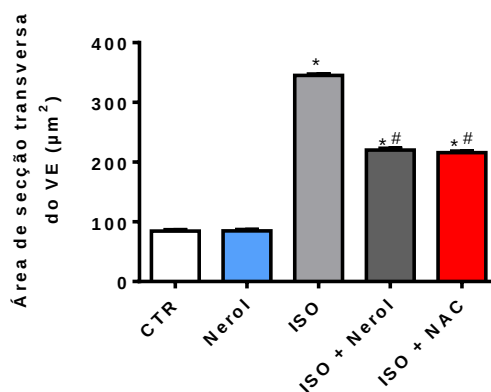


Figura 18: Cortes seccionais transversos dos corações dos grupos experimentais avaliados. (A) Cortes seccionais transversos. **(B)** valor relativo dos cortes seccionais transversos nos diferentes grupos experimentais (* $p < 0,05$ vs CTR; # $p < 0,05$ vs ISO, $n = 6$). ANOVA de uma via, seguido de pós-teste de Tukey.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, demonstramos pela primeira vez que o tratamento dos animais com o monoterpeno nerol apresentou efeito protetor contra o estímulo hipertrófico cardíaco induzido pelo isoproterenol. De fato, os resultados revelaram que o nerol atenuou o aumento da massa cardíaca, conforme foi demonstrado pela redução da razão peso do coração/peso do animal e pela diminuição da área da secção transversal do ventrículo esquerdo. De fato, estudos demonstraram que a administração de isoproterenol promove o aumento da razão peso do coração/peso corporal (SINGH et al., 2011).

Além disso, sabe-se que o ISO possui ação inibitória frente ao hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH) (DE MELLO AIRES, 2008). Desse modo, com menos hormônio do crescimento (GH) circulante, ocorre diminuição da massa muscular esquelética, onde os animais perdem peso corporal durante o tratamento com isoproterenol. Como ocorre perda de massa corporal induzida pelo isoproterenol, é importante normalizar o peso do coração pelo comprimento da tíbia, parâmetro esse que não sofre alteração durante o tratamento. Nesse parâmetro, os nossos resultados mostraram que o tratamento com nerol ou NAC foi capaz de atenuar o aumento da massa cardíaca. Outro achado interessante foi que o nerol preveniu a perda de massa corpórea induzida pelo isoproterenol.

Como controle positivo, no nosso estudo, usou-se a N-acetilcisteína (NAC) que é uma molécula com propriedade antioxidante a qual deve-se à sua utilização como substrato para a síntese da glutathione peroxidase (cedendo à cisteína), um potente antioxidante, e ao átomo de hidrogênio presente no grupo tiol ou sulfidril (-SH), que atua como um elétron na neutralização de radicais livres (ONDANI; CARVALHO; GALVÃO, 2011). A literatura mostra que a administração de NAC foi capaz de restaurar os níveis de glutathione e reduzir o estresse oxidativo em corações de ratos infartados. Além disso, o NAC foi capaz de atenuar a hipertrofia cardíaca do cardiomiócito, fibrose intersticial, disfunção do ventrículo esquerdo e propensão arritmogênica em diferentes modelos experimentais de lesão cardíaca (REYES et al., 2017). Os nossos resultados revelaram também a ação cardioprotetora do NAC, uma vez que ele foi capaz de atenuar as alterações, o aumento da massa cardíaca e a perda de massa corporal nos ratos com hipertrofia cardíaca. Reyes et al. (2017) demonstraram que o NAC foi capaz de prevenir as alterações morfológicas induzidas por ISO em ratos.

As células cardíacas contêm muitas enzimas tais como desidrogenase láctica (LDH), creatinofosquinase total (CPK-TOTAL) e creatinofosfoquinase fração MB (CPK-MB). A administração crônica do isoproterenol nos animais aumenta a demanda de oxigênio do

coração devido ao aumento da contratilidade cardíaca, resultando em isquemia e privação de glicose (HALEAGRAHARA; JULIAN; CHAKRAVARTHI, 2011). Com aumento da contratilidade cardíaca ocorre lesão dos cardiomiócitos, o que resulta no aumento da permeabilidade das membranas celulares, permitindo o extravasamento de enzimas cardíacas para a corrente sanguínea. A elevação sérica dessas 3 enzimas, no nosso modelo de hipertrofia cardíaca, mostra que houve injúria miocárdica e que o nerol foi capaz de reduzir significativamente os marcadores bioquímicos de lesão tecidual mostrando o seu efeito cardioprotetor. O NAC também foi capaz de reduzir os marcadores enzimáticos avaliados.

A LDH é uma enzima de transferência de hidrogênio que catalisa a oxidação do L-lactato a piruvato na presença de NAD⁺ (dinucleotídeo de nicotinamida e adenina) como receptor de hidrogênio. Esse processo é fundamental, pois resulta em energia para células. E diante de uma injúria do tecido muscular ocorre aumento do LDH na corrente sanguínea (GHORMADE et al., 2014). A CPK-TOTAL desempenha um importante papel na regulação do metabolismo dos tecidos contráteis, como nos músculos esquelético e cardíaco e está presente no espaço entre as membranas da mitocôndria. No citosol, a CPK catalisa a desfosforilação da creatinafosfato para produzir ATP a partir do ADP (ROSALKI et al., 2004).

O ATP é essencial para o funcionamento de actinmiosina ATPase, cálcio ATPase e a sódio-potássio ATPase. Da mesma forma que a LDH, quando ocorre lesão do músculo observa-se aumento da CPK sérica (WALLIMANN; WYSS; BRDICZKA, 1992; PASTORE NETO et al., 2018). Já a CPK-MB é uma subunidade da CPK-TOTAL e a mesma está apenas localizada no citoplasma dos cardiomiócitos, sendo assim a elevação da concentração plasmática da mesma indica que houve lesão do tecido cardíaco.

Outros compostos também têm mostrado efeito cardioprotetor frente à hipertrofia cardíaca reduzindo as enzimas LDH, CPK-TOTAL, CPK-MB. Podemos mencionar o ômega 3 (0,3 g/kg/dia, via oral) e o análogo do resveratrol, a isorhapontigenina (10^{-6} mol/L, na água de beber), diminuíram significativamente as concentrações dessas enzimas. O efeito cardioprotetor foi atribuído, provavelmente, pela suas ações antioxidante e anti-inflamatória (ABBAS, 2016). A coenzima Q10, um potente antioxidante, também foi capaz de reduzir os marcadores enzimáticos exercendo cardioproteção frente à hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol (GHULE et al., 2009). Nesse contexto, vários estudos justificam a ação antioxidante tanto de extratos como de compostos isolados como um mecanismo cardioprotetor de lesão tecidual sobre esses marcadores enzimáticos cardíacos (HALEAGRAHARA; JULIAN; CHAKRAVARTHI, 2011; PANDA; KAR; BISWAS, 2017).

O eletrocardiograma apresenta alta especificidade em identificar pacientes com hipertrofia ventricular esquerda, entretanto menos sensível que o ecocardiograma (COSTA et al., 2009). Entretanto, sua maior disponibilidade associada ao baixo custo o converte em uma das principais ferramentas que temos para o diagnóstico da hipertrofia ventricular esquerda. Observa-se aumento da amplitude do complexo QRS (devido ao desvio de orientação do coração para a esquerda), aumento na duração do QRS (devido à maior ativação ventricular transversa decorrente da maior massa do ventrículo esquerdo) e aumento da deflexão intrinsecóide (intervalo entre o início da inscrição e o ponto máximo do complexo QRS. Além disso, na hipertrofia cardíaca tem-se aumento da área de fibrose no coração dificultado a condução elétrica pelo coração contribuindo para o aumento do QRS (BACHAROVA et al., 2014; JOLLY et al., 2015. Os nossos resultados mostraram que o nerol e o NAC foram capazes de prevenir o aumento da duração do QRS e, com isso, podemos afirmar que os mesmos impediram o aumento da espessura do ventrículo esquerdo, característico da hipertrofia cardíaca.

No ECG também podem ser observados alterações da repolarização ventricular decorrentes da hipertrofia cardíaca tais como, aumento do intervalo QT (QT_i), infradesnível do segmento ST, inversão da onda T (COSTA et al., 2009, BACHAROVA et al. 2014). Na prática clínica, o aumento do QT_i (retardo na repolarização ventricular) é um marcador de risco de arritmias ventriculares e mortalidade por todas as causas. Os pacientes com hipertrofia cardíaca, que apresentam aumento do QRS e apresentam prolongamento concomitante do QT_i possuem maior índice de mortalidade (HAUGAA et al., 2013, HAUGAA et al., 2014). Entretanto, Haugaa et al. (2014) mostraram que apenas 6% dos pacientes com hipertrofia cardíaca (aumento da voltagem do QRS) apresentavam prolongamento do QT_i. No nosso estudo, foi observado prolongamento do QT_i no grupo hipertrofia. No grupo tratado somente com nerol, foi observado diminuição do QT_c. Isso pode ser explicado uma vez que foi demonstrado que o nerol é um bloqueador do canal para cálcio do tipo-L em coração de cobaia, o que acarreta em diminuição da fase do platô do potencial de ação cardíaco, acelerando a repolarização ventricular (BACHA et al., 2018).

Com relação ao intervalo PR que mede o tempo de condução desde o nodo sinusal até as fibras, estudos com a hipertrofia cardíaca patológica evidenciaram discreta ou nenhuma alteração no intervalo PR_i (HANCOCK et al., 2009). Nos nossos resultados, os animais hipertróficos não apresentaram alteração nesse intervalo. Entretanto, diferente dos nossos resultados, SYSA-SHAH; SØRENSEN; ABRAHAM, 2015 constataram diminuição do PR_i em camundongos transgênicos com hipertrofia cardíaca.

Nos átrios, a despolarização ocorre do endocárdio para o epicárdio e a repolarização tem início onde se iniciou o processo de despolarização. Nos ventrículos o processo de despolarização ocorre também do endocárdio para o epicárdio, mas a repolarização ocorre do epicárdio para o endocárdio (AZEVEDO, 1999). Isso ocorre devido as células epicárdicas apresentarem um potencial de ação mais curto do que as células endocárdicas (NERBONNE, 2016) decorrente de uma maior expressão das correntes de potássio ‘transient outward’ ($I_{to,f}$ e $I_{to,s}$) nas células epicárdicas que diminui a duração do potencial de ação (NERBONNE, 2016; WICKENDEN et al., 1999). Em condições fisiológicas, o complexo QRS apresenta o mesmo sentido da onda T (AZEVEDO, 1999).

Na hipertrofia cardíaca, ocorre aumento da massa muscular associada a redução do fluxo coronariano, diminuindo a irrigação sanguínea do coração podendo, levar a isquemia e necrose miocárdica. No ECG, pode ser visualizada a inversão da onda T decorrente da isquemia (AZEVEDO, 1999). A inversão da onda T foi observada no grupo dos animais tratados com isoproterenol, o que se significa que os corações apresentavam isquemia do miocárdio (KRENEK et al., 2009; MANSUR et al., 2006). Interessantemente, inversão da onda T não observada com os tratamentos com o nerol e NAC. A literatura mostra que o NAC (50 mg/kg) também conseguiu atenuar o prolongamento do QRS, QTc e inversão de onda T ocasionado pelo tratamento do ISO (REYES et al., 2017). Já outro composto antioxidante, já comprovado na literatura, é o extrato do *Ginkgo biloba* (100 mg/kg) que também apresentou atividade anti-hipertrófica em ratos prevenindo as alterações promovidas pelo ISO, tais como a inversão de onda T (MESQUITA et al., 2017).

É sabido que o coração apresenta alterações no intervalo de tempo entre batimentos cardíacos, ou seja, a frequência cardíaca não apresenta periodicidade ao longo do curso temporal (PEREIRA, 2018). Apesar da propriedade peculiar do coração em produzir o seu potencial elétrico para a estimulação das suas próprias células, é através do sistema nervoso autônomo (SNA) que ocorre pela regulação da atividade cardíaca, especificamente por meio dos sistemas nervoso autônomo simpático (SNS), responsável pelo aumento da frequência cardíaca e sistema nervoso autônomo parassimpático (SNP), responsável pela diminuição da frequência cardíaca, através do aumento do tônus vagal, os quais articulam a geração elétrica espontânea das células do marca-passo (AIRES, 2015; MAIDA, 2016; SANTOS, 2016).

Observamos em nossos resultados que não houve alterações na frequência cardíaca nos diferentes grupos experimentais. Esse achado pode ser explicado pelo aumento do volume diastólico final na falha cardíaca com fração de ejeção preservada (HFpEF). Em períodos de maior demanda de volume sanguíneo o coração com HFpEF, não possui capacidade suficiente

de aumentar o débito cardíaco, devido a uma forte relação pressão-volume diastólica e um aumento na relação pressão vertical-sistólica final quase vertical, levando a um volume sistólico fixo e volumes insuficientemente aumentados. Consequentemente, os corações com HFpEF têm uma dependência maior por administração de vasodilatadores, resultando numa maior queda no volume sistólico e redução da pressão arterial, apesar das altas pressões de enchimento (MAATEN et al., 2016).

A hipertrofia cardíaca promove perda de função contrátil do ventrículo esquerdo, proporcionando uma diminuição da pressão do ventrículo esquerdo (PVE) a qual é reconhecida como insuficiência cardíaca. Estudos mostraram que células cardíacas isoladas de ratos com hipertrofia cardíaca apresentaram tanto diminuição no transiente intracelular de cálcio quanto diminuição da expressão e da atividade da ATPase de cálcio do retículo sarcoplasmático (SERCA) (BERS; EISNER; VALDIVIA, 2003; GAVIOLI et al., 2014). Esse último, diminui o estoque de cálcio no retículo sarcoplasmático, contribuindo para a redução da contratilidade cardíaca. Nossos resultados também evidenciaram que os animais tratados com nerol ou NAC apresentaram uma melhora acentuada da PVE, similar ao grupo controle.

Outro fator que contribui para a insuficiência cardíaca observada na hipertrofia cardíaca é o processo de dessensibilização dos receptores β -adrenérgicos. Sabe-se que a dessensibilização dos receptores β -AR, mediado pela β -arrestina e a quinase do receptor acoplado a proteína G (GRK2) (SATO; NASU, 2015) com diminuição da expressão do receptor β 1-adrenérgico (NOOR; PATEL; ROCKMAN, 2011). O tratamento de animais hipertróficos com o extrato do *Ginkgo biloba* foi capaz de aumentar a expressão do receptor β 1-adrenérgico e diminuir a expressão do receptor muscarínico M_2 impedindo a disfunção contrátil do ventrículo esquerdo (MESQUITA et al., 2017). A PVE também foi reduzida nos animais tratados apenas com o nerol, fato que pode ser explicado pelo bloqueio do canal para cálcio do tipo-L (MENEZES-FILHO et al., 2019).

Outro parâmetro avaliado nas curvas de PVE foi a dP/dt , que representa a variação da pressão exercida pelo ventrículo em função do tempo, consistindo em um índice utilizado para avaliar a velocidade das fases de contração ($+dP/dt$) e do relaxamento cardíaco ($-dP/dt$) (IMANISHI et al., 1994). Nossos resultados mostraram que a redução da PVE no grupo hipertrofia foi acompanhada de diminuição na duração da sístole e $+dP/dt$. Nessa situação, para ocorrer diminuição da $+dP/dt$, a redução da PVE foi maior que a redução da duração da sístole. Essas alterações foram prevenidas com os tratamentos dos animais com o nerol e NAC. Além disso, a $-dP/dt$ que mede a velocidade do relaxamento foi reduzida no grupo ISO apesar de não ter sido observado a redução na duração da diástole. O relaxamento mais lento

na hipertrofia pode ser decorrente da diminuição da expressão da SERCA, principal proteína responsável pela recaptação de cálcio no relaxamento (BERS; EISNER; VALDIVIA, 2003). Similar a fase de contração, a fase de relaxamento tornou-se mais lenta. Tanto o nerol quanto o NAC foram capazes de prevenir essas alterações. Como o nerol reduziu a PVE, era de se esperar também redução tanto da $+dP/dt$ quanto da $-dP/dt$.

É sabido que a pressão coronariana é importante para a manutenção da função ventricular. Nossos resultados evidenciaram que ocorreu uma diminuição da pressão de coronariana nos animais do grupo hipertrófico. Essa queda implica em lesões na região do subendocárdio, tais como necrose, inflamação, fibroplasia e fibrose durante a fase crônica da administração do isoproterenol, onde é possível observar relações substanciais dessas lesões com ocorrência da disfunção (KOIKE 2010). Interessantemente, os animais submetidos ao tratamento com nerol ou NAC, foram capazes de atenuar a queda da pressão coronariana.

A reação inflamatória envolve, infiltra, dissocia e destrói os feixes de fibras musculares, formando blocos residuais compostos de células necróticas (células de limites irregulares, eosinofilia citoplasmática aumentada e ausência de detalhes subcelulares, como núcleos e estriações transversais) ou em franco processo degenerativo (edemaciadas ou atróficas, com núcleos picnóticos). Notavelmente, o tratamento com nerol foi capaz de atenuar essas alterações histopatológicas, tais como promovendo diminuição do infiltrado inflamatório, do edema e das áreas focais de fibrose. A prevenção de alterações histopatológicas do tecido cardíaco induzida por ISO é importante uma vez que melhora a sua contratilidade (GIAM et al., 2016). Semelhante ao nerol, o geniposide (50 mg/kg/dia, via i.p.), um potente antioxidante, administrado durante duas semanas, conseguiu inibir a fibrose intersticial mediada por ISO em camundongos (LI e et al., 2018).

A literatura mostra que o nerol é um bloqueador do canal para cálcio do tipo-L em coração de cobaia. Estudos mostram que antagonistas de canais para cálcio, por diminuírem a sobrecarga de cálcio intracelular, reduzem a injúria cardíaca induzida pelo isoproterenol, exercendo um efeito cardioprotetor frente à hipertrofia cardíaca. A nifedipina, um clássico bloqueador de canal para cálcio, apresentou efeito anti-hipertrófico por inibição da CAMKII e NFAT (AGO et al., 2010, PINELLI et al., 2004). Na hipertrofia cardíaca induzida pelo ISO, ocorre a ativação da PKA que fosforila proteínas alvo, tais como canal para cálcio do tipo-L e RyR, que vão promover aumento do cálcio intracelular. O aumento da concentração de Ca^{+2} intracelular ativa a CaMKII (uma cinase da HDAC), que no núcleo vai fosforilar a histona desacetilase (HDAC) classe II, promovendo a sua saída do núcleo. Desse modo, a HDAC classe II deixa de inibir o NFAT que é um fator de transcrição gênica que promove o aumento

de genes envolvidos na hipertrofia cardíaca. Outro exemplo é o verapamil (antagonista para cálcio) que apresentou também efeito anti-hipertrófico protegendo contra o aparecimento de lesões histológicas do miocárdio, alterações eletrocardiográficas, alterações dos níveis plasmáticos de troponina I e alterações hemodinâmicas (FERREIRA FILHO et al., 2010).

Nossa hipótese é que o nerol, por bloquear canal para cálcio, reduz o cálcio intracelular e, conseqüentemente, impede a ativação da CaMKII que deixa de fosforilar o HDAC classe II, impedindo a sua saída para o citoplasma. A HDAC classe II no núcleo vai inibir o NFAT. Entretanto, é preciso investir esforços para elucidar a via de sinalização molecular envolvida no efeito cardioprotetor do nerol frente a hipertrofia cardíaca induzida pelo isoproterenol.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, demonstramos que o tratamento dos animais hipertróficos com o nerol foi capaz de prevenir:

- O aumento da massa ventricular induzida por isoproterenol;
- A perda de massa corporal induzida por isoproterenol;
- O aumento dos marcadores bioquímicos de lesão tecidual;
- As alterações eletrocardiográficas, tais como aumento do QRS e inversão da onda T e QTc, característicos da hipertrofia cardíaca;
- A diminuição da pressão do ventrículo esquerdo;
- A diminuição da pressão coronariana;
- A fibrose intersticial com perda de tecido de conjuntivo, necrose, o aumento do infiltrado inflamatório e edema celular;

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como o nerol age de forma semelhante ao verapamil e a nifedipina, agindo como bloqueador de canal de cálcio, pretendemos avaliar se o efeito cardioprotetor do nerol é mediado pela inibição da CAMKII (cálcio-calmodulina quinase II), calcineurina e NFAT, um mecanismo de sinalização comumente ativado na hipertrofia patológica. Além disso, também iremos avaliar se o nerol é capaz diminuir o estresse oxidativo envolvido no processo hipertrófico.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Amr M.. Cardioprotective effect of resveratrol analogue isorhapontigenin versus omega-3 fatty acids in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. **Journal Of Physiology And Biochemistry**, [s.l.], v. 72, n. 3, p.469-484, 19 mai. 2016.
- AGO, Tetsuro et al. Nifedipine Inhibits Cardiac Hypertrophy and Left Ventricular Dysfunction in Response to Pressure Overload. **Journal Of Cardiovascular Translational Research**, [s.l.], v. 3, n. 4, p.304-313, 1 mai. 2010.
- AIRES, Rafaela. **Curso temporal das alterações na variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial após infarto do miocárdio em ratos**. 2015. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2015.
- ALARCÓN, María Micaela López et al. Phase 1 repolarization rate defines Ca²⁺ dynamics and contractility on intact mouse hearts. **The Journal Of General Physiology**, [s.l.], p.1-15, 18 abr. 2019.
- AKHTER, Shahab A.. The Heart and Pericardium. **Thoracic Surgery Clinics**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.205-217, 2011.
- ANGELIS, C. D. **Avaliação da proteção gástrica e duodenal do monoterpeno nerol em roedores**. 2012. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- AZEVEDO, Decio Faraco. **Iniciação à eletrocardiografia**. Porto Alegre: Artmed, 1999.
- BACHA, Nour C. et al. Treprostinil treatment decreases circulating platelet microvesicles and their procoagulant activity in pediatric pulmonary hypertension. **Pediatric Pulmonology**, [s.l.], v. 54, n. 1, p.66-72, 28 nov. 2018.
- BACHAROVA, Ljuba et al. The Role of ECG in the Diagnosis of Left Ventricular Hypertrophy. **Current Cardiology Reviews**, [s.l.], v. 10, n. 3, p.257-261, 2014.
- BAKIR, Azam Ahmad; DOKOS, Socrates. A gap junction-based cardiac electromechanics model. **2015 37th Annual International Conference Of The Ieee Engineering In Medicine And Biology Society (embc)**, [s.l.], p.25-28, ago. 2015.
- BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. Essential oils. In: BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. **Secondary plants products**. New York: Springer – Verlag, 1980.
- BERNARDO, Bianca C. et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacology & Therapeutics**, [s.l.], v. 128, n. 1, p.191-227, out. 2010.
- BERS, Donald M.. Cardiac excitation–contraction coupling. **Nature**, [s.l.], v. 415, n. 6868, p.198-205, jan. 2002.
- BERS, Donald M.; EISNER, David A.; VALDIVIA, Héctor H.. Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺ and Heart Failure. **Circulation Research**, [s.l.], v. 93, n. 6, p.487-490, 19 set. 2003.

BUCKBERG, Gerald D. et al. Ventricular structure–function relations in health and disease: Part I. The normal heart. **European Journal of Cardio-thoracic Surgery**, [s.l.], v. 47, n. 4, p.587-601, 1 ago. 2014.

BUCKBERG, Gerald et al. What Is the Heart? Anatomy, Function, Pathophysiology, and Misconceptions. **Journal of Cardiovascular Development and Disease**, [s.l.], v. 5, n. 2, p.33-62, 4 jun. 2018.

BRASIL, Governo do. **Doenças cardiovasculares causam quase 30% das mortes no país**. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2011/09/doencas-cardiovasculares-causam-quase-30-das-mortes-no-pais>>. Acesso em: 25 out. 2017.

CHA, Hye-na et al. Metformin Inhibits Isoproterenol-induced Cardiac Hypertrophy in Mice. **The Korean Journal Of Physiology And Pharmacology**, [s.l.], v. 14, n. 6, p.377-384, 2010.

CHEN, Xi et al. Rapamycin Attenuated Cardiac Hypertrophy Induced by Isoproterenol and Maintained Energy Homeostasis via Inhibiting NF-κB Activation. **Mediators Of Inflammation**, [s.l.], v. 2014, p.1-15, 2014.

CHRISTMANN, M. (2010). Otto Wallach: Founder of Terpene Chemistry and Nobel Laureate 1910. Disponível em< <http://quipronat.wordpress.com/2010/11/28/terpenos-premio-nobel-de-1910>>. Acesso em 22 de Outubro de 2017.

COÊLHO, M.L. **Bioprospecção dos monoterpenos dimetil-octanol, estragol e nerol com ênfase nas propriedades antioxidantes, esquistossomicidas e antimicrobianas**. Orientadora: Prof. Dr^a. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante. 2016. 249 p. (Tese de Doutorado). Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO. Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

CORREIA, Suzimone de J. et al. Flavonóides, norisoprenóides e outros terpenos das folhas de *Tapirira guianensis*. **Química Nova**, [s.l.], v. 31, n. 8, p.2056-2059, 2008.

COSTA, Francisco de Assis et al. O eletrocardiograma no diagnóstico da hipertrofia ventricular de pacientes com doença renal crônica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], v. 93, n. 4, p.380-386, out. 2009.

COTECCHIA, Susanna et al. The alpha1-adrenergic receptors in cardiac hypertrophy: Signaling mechanisms and functional implications. **Cellular Signalling**, [s.l.], v. 27, n. 10, p.1984-1993, out. 2015.

DARPO, Borje. Clinical ECG Assessment. **Principles Of Safety Pharmacology**, [s.l.], p.435-468, 2015.

DEHGHANI-SAMANI, Amir; MADRESEH-GHAHFAROKHI, Samin; DEHGHANI-SAMANI Azam. Mutations of Voltage-Gated Ionic Channels and Risk of Severe Cardiac Arrhythmias. **Acta Cardiol Sin** 99-110, 2019.

DELGADO, Victoria et al. Structure and Function of the Left Atrium and Left Atrial Appendage. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 70, n. 25, p.3157-3172, dez. 2017.

DE MELLO AIRES, M., 2008. **Fisiologia**. Guanabara-Koogan.

DUBEY, V.S.; BHALLA, R.; LUTHRA, R.; An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. **J. Biosci.**, vol. 28, No. 5, 637–646, 2003.

ELADWY, Radwa A. et al. Mechanistic insights to the cardioprotective effect of blueberry nutraceutical extract in isoprenaline-induced cardiac hypertrophy. **Phytomedicine**, [s.l.], v. 51, p.84-93, dez. 2018.

FAHLBUSCH, Karl-georg et al. Flavors and Fragrances. **Ullmann's Encyclopedia Of Industrial Chemistry**, [s.l.], p.1-11, 15 jan. 2003.

FERREIRA FILHO, Celso et al. Anti-hypertensive drugs have different effects on ventricular hypertrophy regression. **Clinics**, [s.l.], v. 65, n. 7, p.723-728, 2010.

FREY, Norbert et al. Hypertrophy of the Heart. **Circulation**, [s.l.], v. 109, n. 13, p.1580-1589, 6 abr. 2004.

GAMBARDELLA, Jessica et al. New Insights in Cardiac Calcium Handling and Excitation-Contraction Coupling. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [s.l.], p.373-385, 2017.

GAO, Li et al. KLF15 protects against isoproterenol-induced cardiac hypertrophy via regulation of cell death and inhibition of Akt/mTOR signaling. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [s.l.], v. 487, n. 1, p.22-27, mai. 2017.

GARCIA, E.A.C., 1998. **Biofísica**. Sarvier.

GAVIOLI, Mariana et al. Cholinergic Signaling Exerts Protective Effects in Models of Sympathetic Hyperactivity-Induced Cardiac Dysfunction. **Plos One**, [s.l.], v. 9, n. 7, p.1-9, 3 jul. 2014.

GERSHENZON, Jonathan; DUDAREVA, Natalia. The function of terpene natural products in the natural world. **Nature Chemical Biology**, Jane, v. 3, n. 7, p.408-414, jun. 2007.

GHORMADE, Pankaj Suresh et al. Distribution & diagnostic efficacy of cardiac markers CK-MB & LDH in pericardial fluid for postmortem diagnosis of ischemic heart disease. **Journal Of Forensic And Legal Medicine**, [s.l.], v. 28, p.42-46, nov. 2014.

GHULE, Arvindkumar E. et al. Effect of pretreatment with coenzyme Q10 on isoproterenol-induced cardiotoxicity and cardiac hypertrophy in rats. **Current Therapeutic Research**, [s.l.], v. 70, n. 6, p.460-471, dez. 2009.

GIAM, Beverly et al. N-acetylcysteine attenuates the development of cardiac fibrosis and remodeling in a mouse model of heart failure. **Physiological Reports**, [s.l.], v. 4, n. 7, p.1-13, abr. 2016.

GONDIM, Antonio Nei Santana et al. (-)-Terpinen-4-ol changes intracellular Ca^{2+} handling and induces pacing disturbance in rat hearts. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 807, p.56-63, jul. 2017.

GONZÁLEZ-RAMÍREZ, Adriana Estrella et al. Nerol alleviates pathologic markers in the oxazolone-induced colitis model. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 776, p.81-89, 2016.

JIROVETZ, Leopold et al. Purity, Antimicrobial Activities and Olfactoric Evaluations of Geraniol/Nerol and Various of Their Derivatives. **Journal Of Essential Oil Research**, [s.l.], v. 19, n. 3, p.288-291, maio 2007.

JOLLY, Sanjit S. et al. Randomized Trial of Primary PCI with or without Routine Manual Thrombectomy. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 372, n. 15, p.1389-1398, 9 abr. 2015.

HALEAGRAHARA, Nagaraja; JULIAN, Varkkey; CHAKRAVARTHI, Srikumar. N-acetylcysteine Offers Cardioprotection by Decreasing Cardiac Lipid Hydroperoxides and 8-Isoprostane Level in Isoproterenol-Induced Cardiotoxicity in Rats. **Cardiovascular Toxicology**, [s.l.], v. 11, n. 4, p.373-381, 28 jul. 2011.

HALL, J.E., 2010. **Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology**. Elsevier Health Sciences.

HANCOCK, E. William et al. AHA/ACCF/HRS Recommendations for the Standardization and Interpretation of the Electrocardiogram. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 53, n. 11, p.992-1002, mar. 2009.

HAUGAA, Kristina H. et al. Institution-Wide QT Alert System Identifies Patients With a High Risk of Mortality. **Mayo Clinic Proceedings**, [s.l.], v. 88, n. 4, p.315-325, abr. 2013.

HAUGAA, Kristina H. et al. Impact of left ventricular hypertrophy on QT prolongation and associated mortality. **Heart Rhythm**, [s.l.], v. 11, n. 11, p.1957-1965, nov. 2014.

HARRIS, Patricia R.e.. The Normal Electrocardiogram. **Critical Care Nursing Clinics Of North America**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.281-296, set. 2016.

HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 20 ed. São Paulo: Manole, p.427-469, 2008.

HEGYI, Bence et al. β -adrenergic regulation of late Na^+ current during cardiac action potential is mediated by both PKA and CaMKII. **Journal Of Molecular And Cellular Cardiology**, [s.l.], v. 123, p.168-179, out. 2018.

HEGYI, Bence et al. Enhanced Depolarization Drive in Failing Rabbit Ventricular Myocytes. **Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.1-16, mar. 2019.

HOHENDANNER, Felix et al. Inositol-1,4,5-trisphosphate induced Ca^{2+} release and excitation-contraction coupling in atrial myocytes from normal and failing hearts. **The Journal Of Physiology**, [s.l.], v. 593, n. 6, p.1459-1477, 22 dez. 2014.

IMANISHI, Toshio et al. Validation of continuous wave Doppler-determined right ventricular peak positive and negative dp/dt: Effect of right atrial pressure on measurement. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [s.l.], v. 23, n. 7, p.1638-1643, jun. 1994.

JAFRI, M. Saleet. Models of Excitation–Contraction Coupling in Cardiac Ventricular Myocytes. **Methods In Molecular Biology**, [s.l.], p.309-335, 2012.

LI, Yanfei et al. Chlorogenic acid prevents isoproterenol-induced hypertrophy in neonatal rat myocytes. **Toxicology Letters**, [s.l.], v. 226, n. 3, p.257-263, mai. 2014.

LI, Ning et al. Geniposide Alleviates Isoproterenol-Induced Cardiac Fibrosis Partially via SIRT1 Activation in vivo and in vitro. **Frontiers In Pharmacology**, [s.l.], v. 9, p.1-16, 3 ago. 2018.

LUX, Robert L.. Basis and ECG measurement of global ventricular repolarization. **Journal Of Electrocardiology**, [s.l.], v. 50, n. 6, p.792-797, nov. 2017.

LYON, Robert C. et al. Mechanotransduction in Cardiac Hypertrophy and Failure. **Circulation Research**, [s.l.], v. 116, n. 8, p.1462-1476, 10 abr. 2015.

KAMADA, Rui et al. Arrhythmogenic β -adrenergic signaling in cardiac hypertrophy: The role of small-conductance calcium-activated potassium channels via activation of CaMKII. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 844, p.110-117, fev. 2019.

KLABUNDE, Richard E.. Cardiac electrophysiology: normal and ischemic ionic currents and the ECG. **Advances In Physiology Education**, [s.l.], v. 41, n. 1, p.29-37, mar. 2017.

KMECOVA, Jana; KLIMAS, Jan. Heart rate correction of the QT duration in rats. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 641, n. 2-3, p.187-192, set. 2010.

KNOLLMANN, Björn C.. Cardiac regulatory mechanisms: new concepts and challenges. **The Journal Of Physiology**, [s.l.], v. 595, n. 12, p.3683-3684, 15 jun. 2017.

KOIKE, de Carvalho Frimm. The role of coronary driving pressure on cardiac remodelling. **Science In Health**, São Paulo, v. 1, n. 1, p.88-90, jan. 2010.

KRENEK, Peter et al. Isoproterenol-induced heart failure in the rat is associated with nitric oxide-dependent functional alterations of cardiac function. **European Journal Of Heart Failure**, [s.l.], v. 11, n. 2, p.140-146, 28 jan. 2009.

KRIVORUCHKO, Anastasia; NIELSEN, Jens. Production of natural products through metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v. 35, p.7-15, dez. 2015.

KURBEL, Sven. A vector-free ECG interpretation with P, QRS & T waves as unbalanced transitions between stable configurations of the heart electric field during P-R, S-T & T-P

segments. **Theoretical Biology And Medical Modelling**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.1-21, 10 fev. 2014.

MAACK, C.; O'ROURKE, B.. Excitation-contraction coupling and mitochondrial energetics. **Basic Research In Cardiology**, [s.l.], v. 102, n. 5, p.369-392, 27 jul. 2007.

MAATEN, Jozine M. Ter et al. Connecting heart failure with preserved ejection fraction and renal dysfunction: the role of endothelial dysfunction and inflammation. **European Journal Of Heart Failure**, [s.l.], v. 18, n. 6, p.588-598, 10 fev. 2016.

MAAYAH, Zaid H. et al. The role of cytochrome P450 1B1 and its associated mid-chain hydroxyeicosatetraenoic acid metabolites in the development of cardiac hypertrophy induced by isoproterenol. **Molecular And Cellular Biochemistry**, [s.l.], v. 429, n. 1-2, p.151-165, 1 mar. 2017.

MACHIDA S, KARIYA F, KOBAYASHI K, NARUSAWA M. Lack of effect of running training at two intensities on cardiac myosin isoenzyme composition in rats. **Jpn J Physiol** 50: 577-83, 2000.

MALANGA, C.j.. Structure and Function of the Heart. **Xpharm: The Comprehensive Pharmacology Reference**, [s.l.], p.1-5, 2007.

MAIDA, Karina Delgado. **Estudo da associação do treinamento físico aeróbio com diferentes terapias farmacológicas sobre as adaptações autonômicas cardíacas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR)**. 2016. 164 f. (Tese de Doutorado) - Curso de Reabilitação e Desempenho Funcional, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2016.

MARQUES, Thiago Henrique Costa et al. Evaluation of the neuropharmacological properties of nerol in mice. **World Journal Of Neuroscience**, v. 03, n. 01, p.32-38, 2013.

MANSUR, Antonio de Padua et al. Tendência do risco de morte por doenças circulatórias, cerebrovasculares e isquêmicas do coração em treze Estados do Brasil, de 1980 a 1998. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.], v. 87, n. 5, p.641-648, nov. 2006.

MEERAN, Mohamed Fizur Nagoor; PRINCE, Ponnian Stanely Mainzen; BASHA, Rafeek Hidhayath. Preventive effects of N-acetyl cysteine on lipids, lipoproteins and myocardial infarct size in isoproterenol induced myocardial infarcted rats: An in vivo and in vitro study. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 677, n. 1-3, p.116-122, fev. 2012.

MENEZES-FILHO, José Evaldo Rodrigues de et al. Geraniol Blocks Calcium and Potassium Channels in the Mammalian Myocardium: Useful Effects to Treat Arrhythmias. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, [s.l.], v. 115, n. 6, p.534-544, 4 jul. 2014.

MENEZES-FILHO, José Evaldo Rodrigues de et al. Nerol Attenuates Ouabain-Induced Arrhythmias. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 2019, p.1-9, 7 mar. 2019.

MESQUITA, Thássio R. R. et al. Cardioprotective Action of Ginkgo biloba Extract against Sustained β -Adrenergic Stimulation Occurs via Activation of M2/NO Pathway. **Frontiers In Pharmacology**, [s.l.], v. 8, p.1-13, 11 mai. 2017.

MURAD, Ferid. Heart of science. **Nature**, [s.l.], v. 478, n. 7368, p.1-2, out. 2011.

NAKAMURA, Michinari; SADOSHIMA, Junichi. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. **Nature Reviews Cardiology**, [s.l.], v. 15, n. 7, p.387-407, 19 abr. 2018.

NERBONNE, Jeanne M.; KASS, Robert S.. Molecular Physiology of Cardiac Repolarization. **Physiological Reviews**, [s.l.], v. 85, n. 4, p.1205-1253, out. 2005.

NERBONNE, Jeanne M.; KASS, Robert S.. Molecular Physiology of Cardiac Repolarization. **Physiological Reviews**, [s.l.], v. 85, n. 4, p.1205-1253, out. 2005.

NI, Li et al. β -AR Blockers Suppresses ER Stress in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. **Plos One**, [s.l.], v. 6, n. 11, p.1-11, 2 nov. 2011.

NERBONNE, Jeanne M.. Molecular Basis of Functional Myocardial Potassium Channel Diversity. **Cardiac Electrophysiology Clinics**, [s.l.], v. 8, n. 2, p.257-273, jun. 2016.

NOOR, Nabila; PATEL, Chetan B.; ROCKMAN, Howard A.. β -Arrestin: A signaling molecule and potential therapeutic target for heart failure. **Journal Of Molecular And Cellular Cardiology**, [s.l.], v. 51, n. 4, p.534-541, out. 2011.

OKUDA, Shinichi et al. CaMKII-mediated phosphorylation of RyR2 plays a crucial role in aberrant Ca^{2+} release as an arrhythmogenic substrate in cardiac troponin T-related familial hypertrophic cardiomyopathy. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [s.l.], v. 496, n. 4, p.1250-1256, fev. 2018.

OLIVEIRA, R. B., GODOY, S. A. P., COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto – SP: Editora Holos, 2003. 64p.

ONDANI, Amanda Cristiane; CARVALHO, Marileda Bonafim; GALVÃO, André Luiz Baptista. N-acetilcisteína - ação antioxidante e utilização na clínica de pequenos animais. **Archives Of Veterinary Science**, [s.l.], v. 16, n. 2, p.18-25, 31 ago. 2011.

ONO, Toshiro et al. Novel Compound, (2Z,6E)-1-Hydroxy-3,7-dimethyl-2,6-octadien-8-oic Acid Produced from Biotransformation of Nerol by Spodoptera litura Larvae. **Journal Of Oleo Science**, [s.l.], v. 62, n. 5, p.313-318, 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, Doenças cardiovasculares, 2017. Disponível em<http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839>. Acesso em 23 de Outubro de 2017.

PAHLM, Ulrika; PAHLM, Olle; WAGNER, Galen S.. The 24-lead ECG display for enhanced recognition of STEMI-equivalent patterns in the 12-lead ECG. **Journal Of Electrocardiology**, [s.l.], v. 47, n. 4, p.425-429, jul. 2014.

PANDA, Sunanda; KAR, Anand; BISWAS, Sagarika. Preventive effect of Agnucastolide C against Isoproterenol-induced myocardial injury. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.1-14, 23 nov. 2017.

PASTORE NETO, Mario et al. Factors associated with changes in creatine phosphokinase (CPK) in trauma patients submitted to the “Red Wave”, with evolution to rhabdomyolysis. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, [s.l.], v. 45, n. 2, p.1-9, 16 abr. 2018.

PEREIRA, Carlos Henrique. **Variabilidade da frequência cardíaca e sistema nervoso autônomo em ratos: um estudo com coração isolado e manipulação farmacológica in vivo**. 2018. 92 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Fisiologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

PINELLI, Arnaldo et al. Myocardial infarction non-invasively induced in rabbits by administering isoproterenol and vasopressin: protective effects exerted by verapamil+. **Fundamental And Clinical Pharmacology**, [s.l.], v. 18, n. 6, p.657-667, dez. 2004.

POURZITAKI, Chryssa et al. Furosemide modifies heart hypertrophy and glycosaminoglycan myocardium content in a rat model of neurogenic hypertension. **European Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 784, p.155-163, ago. 2016.

RAPP JP. Genetic analysis of inherited hypertension in the rat. **Physiological Reviews**, 80: 135-72, 2000.

REYES, David r.a. et al. N-Acetylcysteine Influence on Oxidative Stress and Cardiac Remodeling in Rats During Transition from Compensated Left Ventricular Hypertrophy to Heart Failure. **Cellular Physiology And Biochemistry**, [s.l.], v. 44, n. 6, p.2310-2321, 2017.

ROSALKI, S. B.. Cardiac Biomarkers for Detection of Myocardial Infarction: Perspectives from Past to Present. **Clinical Chemistry**, [s.l.], v. 50, n. 11, p.2205-2213, 1 nov. 2004.

SALEEM, Nikhat; PRASAD, Anamika; GOSWAMI, Shyamal K.. Apocynin prevents isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in rat. **Molecular And Cellular Biochemistry**, [s.l.], v. 445, n. 1-2, p.79-88, 18 dez. 2017.

SANTOS, Márcio R. V. et al. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 21, n. 4, p.764-771, 2011.

SANTOS, Rodrigo Weber dos et al. Simulations of Heart Function. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2015, p.1-3, 2015.

SANTOS, Ardilles Juan Carlos Alves dos. **Análise da frequência cardíaca de ratos induzidos ao diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2**. 2016. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2016.

SARTORATTO, Adilson et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 35, n. 4, p.275-280, dez. 2004.

SCHIRMER, Ilona et al. Soluble adenylyl cyclase: A novel player in cardiac hypertrophy induced by isoprenaline or pressure overload. **Plos One**, [s.l.], v. 13, n. 2, p.1-17, 21 fev. 2018.

SCHMITT, N., Grunnet, M., Olesen, S.P., 2014. Cardiac potassium channel subtypes: new roles in repolarization and arrhythmia. **Physiol Rev** v. 94, 609-653.

SHIMIZU, Ippei; MINAMINO, Tohru. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. **Journal Of Molecular And Cellular Cardiology**, [s.l.], v. 97, p.245-262, ago. 2016.

SILVA-FILHO, José Couras et al. Investigation of Mechanisms Involved in (-)-Borneol-Induced Vasorelaxant Response on Rat Thoracic Aorta. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, [s.l.], v. 110, n. 2, p.171-177, 28 set. 2011.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Florianópolis: Editora da UFSC, 800 p., 2004.

STENGER, Bernhard et al. N-Acetyl-l-cysteine inhibits sulfur mustard-induced and TRPA1-dependent calcium influx. **Archives Of Toxicology**, [s.l.], v. 91, n. 5, p.2179-2189, 13 out. 2016.

SYSA-SHAH, Polina; SØRENSEN, Lars L; ABRAHAM, M Roselle. Electrocardiographic Characterization of Cardiac Hypertrophy in Mice that Overexpress the ErbB2 Receptor Tyrosine Kinase. **Comparative Medicine**, Baltimore, v. 65, n. 4, p.295-307, ago. 2015.

TAMARGO, J. Pharmacology of cardiac potassium channels. **Cardiovascular Research**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.9-33, 1 abr. 2004.

TANG, Xilan et al. North American ginseng (*Panax quinquefolius*) suppresses β -adrenergic-dependent signalling, hypertrophy, and cardiac dysfunction. **Canadian Journal Of Physiology And Pharmacology**, [s.l.], v. 94, n. 12, p.1325-1335, dez. 2016.

THOMPSON, Robert Q.. Encyclopedia of Analytical Science, Second Edition (Worsfold, Paul; Tonshend, Alan; Poole, Colin). **Journal Of Chemical Education**, [s.l.], v. 82, n. 9, p.1313-1314, set. 2005.

TIAN, Jun et al. Investigations on the Antifungal Effect of Nerol against *Aspergillus flavus* Causing Food Spoilage. **The Scientific World Journal**, [s.l.], v. 2013, p.1-8, 2013.

SATO, Ryota; NASU, Michitaka. A review of sepsis-induced cardiomyopathy. **Journal Of Intensive Care**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.1-7, 11 nov. 2015.

SINGH, B. K. et al. s. **Cardiovascular Toxicology**, v. 11, n. 3, p. 263–271, set. 2011.

SU, Hao et al. Alterations in NO/ROS ratio and expression of Trx1 and Prdx2 in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy. **Acta Biochimica Et Biophysica Sinica**, [s.l.], v. 49, n. 11, p.1022-1028, 3 out. 2017.

VASCONCELOS, C. M. L. et al. Negative inotropic and chronotropic effects on the guinea pig atrium of extracts obtained from *Averrhoa carambola* L. leaves. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 1113–1122, jul. 2005

VASSALLO, D.V., VASQUEZ, E. C., CABRAL, A.M. Contractile performance of papillary muscles of renovascular hypertensive and isoproterenol-pretreated rats. **Pharmacol Res Comm** 20: 61-72, 1988.

VIEGAS JÚNIOR, Cláudio. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, [s.l.], v. 26, n. 3, p.390-400, mai. 2003.

WALLIMANN, Theo; WYSS, Markus; BRDICZKA, Dieter. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. **Biochem. J.**, Utrecht,, v. 281, n. 1, p.21-40, nov. 1992.

WICKENDEN, A. D. et al. Regional contributions of Kv1.4,Kv4.2, andKv4.3 to transient outward K⁺ current in rat ventricle. **American Journal Of Physiology-heart And Circulatory Physiology**, [s.l.], v. 276, n. 5, p.1599-1607, mai. 1999.

ZHAO, Lingling et al. Stachydrine ameliorates isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by suppressing inflammation and oxidative stress through inhibiting NF-κB and JAK/STAT signaling pathways in rats. **International Immunopharmacology**, [s.l.], v. 48, p.102-109, jul. 2017.

ANEXO A - Formulário CEPA

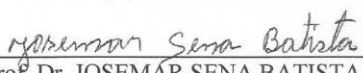


**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação do efeito cardioprotetor do nerol em modelo de hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol**”, registrada com o nº **29/2018**, sob a responsabilidade da **Prof. Dr. Carla Maria Lins de Vasconcelos** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de **20/11/2018**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 12/2018, Término: 07/2019
Espécie/linhagem/raça	Rato Heterogênico
Nº de animais	120
Peso/Idade	200-250g / 7 dias
Sexo	M
Origem	Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da UFS.


 Prof. Dr. JOSEMÁR SENA BATISTA
 Coordenador do CEPA/UFS

Cidade Universitária “Prof. Aloísio de Campos”
 Jardim Rosa Elze – São Cristóvão – SE
 49100-000
 Fones: 3212 6661/6606