

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE BACHAREL EM FARMÁCIA

KELLY RAYANE VITAL DE OLIVEIRA

**Avaliação do efeito renoprotetor induzido por alfa-terpineol
em ratos SHR e infartados**

MACEIÓ-AL

2021

KELLY RAYANE VITAL DE OLIVEIRA

**Avaliação do efeito renoprotetor induzido por alfa- terpineol
em ratos SHR e infartados**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado como requisito para obtenção do grau de bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Alagoas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Êurica Adélia Nogueira Ribeiro

MACEIÓ-AL

2021

FOLHA DE APROVAÇÃO

AUTORA: KELLY RAYANE VITAL DE OLIVEIRA

Avaliação do efeito renoprotetor induzido por alfa- terpineol em ratos SHR e infartados

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao corpo docente do curso de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas.

Aprovado em: ____/ ____/ ____

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Êurica Adélia Nogueira Ribeiro – Orientadora
Universidade Federal de Alagoas

Prof. Dr Irinaldo Diniz Basilio Junior- Examinador
Universidade Federal de Alagoas

Mestranda Maria Luiza Dal Pont Machado – Examinadora
Universidade Federal de Alagoas

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser o meu melhor amigo e ser o Divino companheiro em todos os caminhos que traço. Nada disso seria possível sem que Ele estivesse comigo. Gratidão. Toda honra e glória é tua Senhor.

Aos meus pais, Maria Roseane e Sebastião, por se doarem tanto em realizar meus sonhos, por todo o incentivo, amor e por me mostrar que posso ser melhor a cada dia. Meu muito obrigada e saibam que vocês foram essenciais para que eu pudesse ser o que sou hoje. Amo vocês.

Ao meu irmão Lucas, me ajudou nos momentos que precisei e por me incentivar e estar torcendo sempre por mim. Amo você.

Ao meu namorado Paulo Henrique, que me incentiva, ajuda e torce por mim. Meu muito obrigada por todo amor, cuidado e carinho. Você é muito especial pra mim meu amor. Amo você.

Ao Laboratório de Farmacologia Cardiovascular, por sempre me fazer acreditar em mim mesma e me fazer sentir capaz. Vocês foram essenciais na minha vida acadêmica e pesquisadora. Meu agradecimento a cada um.

Professora Êurica, por ser um exemplo de pesquisadora, professora e ser humano. Meu muito obrigada por me auxiliar e me ensinar com tamanha paciência e dedicação. Minha admiração e orgulho em tê-la como orientadora.

À minha amiga de graduação e de vida Maria Luiza, por ser minha duplinha para tudo, por toda parceria e amizade. Sou muito grata por tê-la como amiga. Muito obrigada por tudo.

Aos doutorandos Jessyka e Alessandro, que são exemplos de pesquisadores, tenho uma grande admiração por vocês.

Ao Dr Emanuel, que tive o prazer de conhecer desde o início da graduação e que me ensinou com tanta dedicação. Muito obrigada por toda disponibilidade, carinho e paciência. Você é um grande amigo, que tenho muito orgulho.

Às minhas amigas e parceiras de graduação Thays, Kesia, Stella e Joyelanne. Muito obrigada por serem tão especiais e estarem sempre presentes. Vocês são especiais.

Aos meus professores que tanto me ensinaram e me fizeram aprender mais sobre essa profissão que eu escolhi e tanto amo.

E também me muito obrigada a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a profissional que irei me tornar.

Kelly Rayane Vital de Oliveira

Muito Obrigada!

*“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo
para todo o propósito debaixo do céu.”*

Eclesiastes 3:1

RESUMO

Introdução: O α - terpineol (TPN) é um monoterpeneo obtido da resina do caule de *Protium heptaphyllum*. Esse composto apresenta atividades farmacológicas, tais como atividades anti-inflamatória, vasorrelaxante e cardioprotetora em ratos infartados e hipertensos. O isoproterenol (ISO) induz distúrbios e alteração no sistema cardiovascular, bem como em órgãos alvos, como os rins. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos renoprotetores do TPN em ratos infartados e hipertensos contra o dano renal induzido pelo ISO. **Metodologia:** Os protocolos experimentais foram aprovados pelo CEUA / UFAL nº 09/2015. Os ratos machos foram alocados em 5 grupos e tratados por 15 dias (n = 5): (G1 = salina 0,9% V.O./d); (G2 = salina infartado 0,9% V.O./d + ISO 85 mg/kg 2x s.c); (G3 = TPN 25 mg/kg V.O./d); (G4 = TPN 50 mg/kg V.O./d) E (G5 = TPN 75 mg / kg V.O./d). No 16º dia, os ratos foram anestesiados (Ketamina 80 mg/kg + Xilazina 4 mg/kg i.p.) e os testes morfométricos foram realizados de acordo com os métodos de Scherle. Os testes morfológicos foram examinados sob luz por estereoscopia, enquanto que os níveis de creatinina e ureia foram estimados pelas dosagens dos soros sanguíneos. Os resultados foram expressos como média \pm EPM e analisados estatisticamente por ANOVA one way seguido do pós teste de Newman-Keuls considerado significativo quando *p <0,05, ** p <0,001 e *** p <0,0001. **Resultados:** Peso do rim direito (G1=1,062 \pm 0,01/g**** vs. G2= 0,456 \pm 0,08/g) e peso do rim esquerdo (G1= 0,456 \pm 0,08/g vs. G2= 0,464 \pm 0,06/g), razão peso do rim direito por peso do corpo (G1= 0,355 \pm 0,010**** g/g* vs. G2= 0,176 \pm 0,030 g/g), (G3= 0,209 \pm 0,01**g/g* vs. G2= 0,176 \pm 0,030g/g), (G4= 0,203 \pm 0,02**g/g* vs. G2= 0,176 \pm 0,030 g/g) e (G5= 0,289 \pm 0,01**vs. G2= 0,176 \pm 0,030g/g), razão peso do rim esquerdo por peso do corpo (G1= 0,351 \pm 0,016**** g/g* vs. G2= 0,179 \pm 0,010g/g), (G3= 0,214 \pm 0,02*****g/g* vs. G2= 0,179 \pm 0,010g/g), (G4= 0,205 \pm 0,02*****g/g* vs. G2= 0,179 \pm 0,010g/g) e (G5= 0,300 \pm 0,01***vs. G2= 0,179 \pm 0,010g/g). Através dos aspectos morfológicos, observou-se que o TPN inibiu a injúria renal induzida por ISO, além disso o tratamento prévio com TPN inibiu de modo significativo o aumento dos níveis de creatinina sérica (G1= 2,500 \pm 1,400**** vs. G2= 14,200 \pm 3,200), (G3= 2,900 \pm 1,20*** vs. G2= 14,200 \pm 3,200), (G4= 01,100 \pm 0,20**** vs. G2= 014,200 \pm 3,200) e (G5= 0,500 \pm 0,10**** vs. G2= 14,200 \pm 3,200) e ureia sérica (G1= 49,800 \pm 7,100****vs. G2= 504,000 \pm 76,700), (G3= 33,300 \pm 10,00****vs. G2= 504,000 \pm 76,700), (G4= 30,600 \pm 9,30**** vs. G2= 504,000 \pm 76,700) e (G5= 25,900 \pm 8,30**** vs. G2= 504,000 \pm 76,700). **Conclusão:** Em conjunto, os resultados sugerem que a TPN induziu um efeito renoprotetor, no entanto, novos estudos serão necessários para elucidar os mecanismos subjacentes a essa resposta.

Palavras-chave: Monoterpeno; Alfa- terpineol; Renoproteção; Isoproterenol; Rato

ABSTRACT

Introduction: α -terpineol (TPN) is a monoterpene obtained from the resin of the stem of *Protium heptaphyllum*. This compound has pharmacological activities, such as anti-inflammatory, vasorelaxant and cardioprotective activities in infarcted and hypertensive rats, cardioprotective activity was also observed. Isoproterenol (ISO) induces disturbances and alterations in the cardiovascular system, as well as in target organs such as the kidneys. The aim of this study was to verify the renoprotective effects of TPN in infarcted and hypertensive rats against ISO-induced renal damage.

Methodology: The experimental protocols were approved by CEUA / UFAL n^o 09/2015. Male rats were divided into 5 groups and treated for 15 days (n = 5): (G1 = saline 0.9% V.O./d); (G2 = infarcted saline 0.9% V.O./d + ISO 85 mg/kg 2x s.c); (G3 = TPN 25 mg/kg V.O./d); (G4 = TPN 50 mg/kg V.O./d) AND (G5 = TPN 75 mg/kg V.O./d). On the 16th day, the rats were anesthetized (Ketamine 80 mg/kg + Xylazine 4 mg/kg i.p.) and morphometric tests were performed according to Scherle's methods. Morphological tests were examined under light by stereoscopy, while creatinine and urea levels were estimated by blood serum dosages. The results were expressed as mean \pm SEM and statistically analyzed by one-way ANOVA followed by the Newman-Keuls post test, considered significant when * p <0.05, ** p <0.001 and *** p <0.0001.

Results: Right kidney weight (G1=1.062 \pm 0.01/g**** vs. G2= 0.456 \pm 0.08/g) and left kidney weight (G1= 0.456 \pm 0.08/g vs. G2 = 0.464 \pm 0.06 /g), right kidney weight to body weight ratio (G1 = 0.355 \pm 0.010**** g/g* vs. G2 = 0.176 \pm 0.030 g/g), (G3 = 0.209 \pm 0.01**g/g* vs. G2= 0.176 \pm 0.030 g/g), (G4= 0.203 \pm 0.02**g/g* vs. G2= 0.176 \pm 0.030 g/g) and (G5= 0.289 \pm 0.01** vs. G2 = 0.176 \pm 0.030 g/g), ratio of left kidney weight to body weight (G1 = 0.351 \pm 0.016**** g/g* vs. G2 = 0.179 \pm 0.010g/g), (G3= 0.214 \pm 0.02****g/g* vs. G2= 0.179 \pm 0.010g/g), (G4= 0.205 \pm 0.02****g/g* vs. G2 = 0.179 \pm 0.010g/g) and (G5 = 0.300 \pm 0.01*** vs. G2 = 0.179 \pm 0.010g/g). Through the morphological aspects, it was observed that the TPN inhibited the renal injury induced by ISO, in addition, the previous treatment with TPN significantly inhibited the increase of the serum creatinine levels (G1= 2,500 \pm 1,400**** vs. G2 = 14.200 \pm 3.200), (G3= 2.900 \pm 1.20*** vs. G2= 14.200 \pm 3.200), (G4= 01.100 \pm 0.20**** vs. G2= 014.200 \pm 3.200) and (G5= 0.500 \pm 0.10**** vs. G2 = 14.200 \pm 3.200) and serum urea (G1 = 49.800 \pm 7.100**** vs. G2 = 504,000 \pm 76.700), (G3 = 33.300 \pm 10.00***) *vs. G2= 504,000 \pm 76.700), (G4= 30.600 \pm 9.30**** vs. G2= 504,000 \pm 76.700) and (G525.900 \pm 8.30**** vs. G2= 504,000 \pm 76.700)). **Conclusion:** Taken together, the results suggest that TPN induced a renoprotective effect, however, further studies are needed to elucidate the mechanisms underlying this response.

Keywords: Monoterpene; Alpha-terpineol; Renoprotection; Isoproterenol; Rats.

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura 1- Representação em imagem do rim</u>	17
<u>Figura 2- Estrutura molecular do isoproterenol</u>	20

LISTA DE TABELAS

[Tabela 1-Medicamentos anti-hipertensivos comercializados no Brasil.](#)

16

LISTA DE GRÁFICOS

<u>Gráfico 1- Morfometria rim direito</u>	28
<u>Gráfico 2- Morfometria rim esquerdo</u>	30
<u>Gráfico 3- Creatinina sérica</u>	34
<u>Gráfico 4- Ureia sérica</u>	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SHR- Ratos Espontaneamente Hipertensos

TPN – Monoterpeno da resina do caule de *Protium heptaphyllum*

DRC– Doença Renal Crônica

IAM – Infarto Agudo do Miocárdio

INPI – BR - Instituto Nacional de Propriedade Intelectual

ISO – Isoproterenol

IRA – Injúria Renal Aguda

SUMÁRIO

<u>1. INTRODUÇÃO</u>	14
<u>2. REVISÃO DA LITERATURA</u>	15
<u>3 OBJETIVOS</u>	24
<u>3.1 Objetivo Geral</u>	24
<u>3.2 Objetivo Específicos</u>	24
<u>4. MATERIAL E MÉTODO</u>	25
<u>4.1. Substâncias</u>	25
<u>4.1.1 Anestésicos</u>	25
<u>4.1.2 Reagentes Analíticos</u>	25
<u>4.1.3 Kits Bioquímicos</u>	25
<u>4.2 Extração e obtenção do monoterpeneo</u>	25
<u>4.3 Animais</u>	25
<u>4.4 Abordagens farmacológicas</u>	26
<u>4.5 Avaliação bioquímica</u>	26
<u>4.6 Avaliação morfológica e morfométrica</u>	27
<u>4.7 Análise estatística</u>	27
<u>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	28
<u>5.1- Morfometria dos rins de ratos SHR tratados com alfa- terpineol</u>	28
<u>5.2- Creatinina sérica</u>	33
<u>5.3- Ureia sérica</u>	36
<u>6 CONCLUSÃO</u>	39
<u>7- REFERÊNCIAS</u>	40

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis pelos agravos em saúde pública em todo o mundo, contribuindo para o aumento no número de comorbidades e mortes globais (WHO, 2017; WHO, 2018). Dentre as DCV, destaca-se a hipertensão arterial sistêmica (HAS), que é caracterizada pelos níveis elevados e sustentados da pressão arterial, que é uma patologia associada a agravos cardiovasculares, promovendo o desenvolvimento de comorbidades cardiovasculares como o infarto agudo do miocárdio (IAM). O IAM é responsável por 30% da mortalidade no Brasil (SBC, 2021).

Estudos demonstraram que, além do coração, a HAS e o IAM afetam outros órgãos, incluindo cérebro, fígado e rins. Deste modo, o coração e os rins interagem de forma abrangente e interdependente, em condições agudas e crônicas, que podem levar à dupla disfunção (VIRZÌ GM, 2015)

Os danos no coração e nos rins são chamados de síndrome cardiorenal. Nas doenças renais, o aparecimento de HAS e elevação sustentada da pressão arterial (PA) compromete as funções renais, podendo promover e acelerar a progressão da doença renal para insuficiência renal (SCHOCKEN, 2008). Já é reportado na literatura que o tratamento anti-hipertensivo diminui a evolução da insuficiência renal, assim, o tratamento é essencial no sentido de reduzir, atuando de maneira protetora, nos mecanismos da lesão renais causados por HAS e IAM (MACKENZIE, H. S., 1998).

O uso de plantas medicinais continua beneficiando grande parte da população por suas diversas propriedades (BADKE et al, 2012). Vários compostos bioativos são isolados destas plantas medicinais, dentre eles pode-se destacar os compostos terpênicos, que têm atraído cada vez mais o interesse da comunidade científica por suas atividades antiinflamatória, gastroprotetora e vasorrelaxante (WANG et al, 2005). Deste modo, os compostos terpênicos têm sido considerados úteis para o tratamento de diversas patologias e suas aplicações sobre o sistema cardiovascular tem se destacado na última década (ALVES-SILVA et al, 2016). Dentre esses, pode-se destacar o α -terpineol (TPN) que é um monoterpeneo com elevado potencial terapêutico. Recentes estudos sobre suas ações cardiovasculares têm demonstrado atividade vasorrelaxante, hipotensora e cardioprotetora em ratos infartados e hipertensos (PAULINO, E.T, 2019).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo contribuir com a discussão se a cardioproteção que TPN induziu também é capaz de promover renoproteção e interferir os parâmetros renais envolvidos na HAS e no IAM.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares é a hipertensão arterial sistêmica (HAS). Esta patologia é caracterizada pela elevação sustentada dos níveis de pressão arterial que frequentemente está associada a distúrbios metabólicos, alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo, sendo agravada pela presença de outros fatores de risco, como dislipidemia, obesidade abdominal, intolerância à glicose e diabetes mellitus (LEWINGTON, 2003; SBC, 2016). A melhoria no manejo terapêutico vem reduzindo o número de internamentos e custos hospitalares com agravos de doenças cardiovasculares, porém o número de mortalidades ao redor do mundo ainda é alto (WHO, 2018).

A HAS está classificada em hipertensão primária e hipertensão secundária. A hipertensão primária ou essencial é de origem multifatorial (incluindo mecanismos hemodinâmicos, neuronais, hormonais e renais) e ocorre em 90% a 95% dos casos. Já a hipertensão secundária se dá em apenas 5% a 10% dos pacientes e sucede devido à doença subjacente (VAZ, 2012). No entanto, outro tipo de hipertensão tem se mostrado cada vez mais frequente e vem preocupando os profissionais de saúde devido ao seu difícil controle pressórico, a hipertensão arterial resistente (HAR), definida como a PA de consultório não controlada apesar do uso de três ou mais anti-hipertensivos em doses adequadas, incluindo-se preferencialmente um diurético tiazídico, ou em uso de quatro ou mais medicamentos com controle pressórico (SBC, 2016).

Para manter os níveis pressóricos ideais em pacientes com HAS, inicialmente deve-se realizar mudanças no estilo de vida, como por exemplo, mudanças na qualidade alimentar, consumo controlado de sódio, e inserção de uma rotina de atividades físicas (SARQUIS et al, 1998). Com a progressão da doença e de acordo com as necessidades de cada indivíduo a terapia medicamentosa é inserida (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2010). Tais medicamentos, denominados de anti-hipertensivos, possuem a capacidade de atuar em um ou mais dos parâmetros fisiológicos responsáveis pelo controle pressórico (HOFFMAN, 2015).

Entretanto, apesar do arsenal terapêutico para o tratamento da HAS encontrar-se bastante diversificado e várias classes de medicamentos anti-hipertensivos estarem disponíveis no mercado, parte da população em uso desses medicamentos não atinge níveis pressóricos desejáveis (CONSOLIM-COLOMBO et al, 2011), onde de acordo com a OMS, seria em torno de três quartos dos indivíduos hipertensos (MELCHIOR,

2010). Outro fator que está associado a elevados índices de pacientes que não atingem esse controle da PA, está relacionada à baixa adesão terapêutica, que pode estar associada aos efeitos adversos, bem como o uso de uma politerapia associada com a alta frequência de doses diárias necessárias para o tratamento (FERREIRA; GRAÇA; CALVINHO, 2016).

O tratamento com anti-hipertensivos, tem por objetivo não só reduzir os níveis pressóricos, mas também reduzir a ocorrência e desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Alguns medicamentos disponíveis para o uso clínico são mostrados na tabela 1.

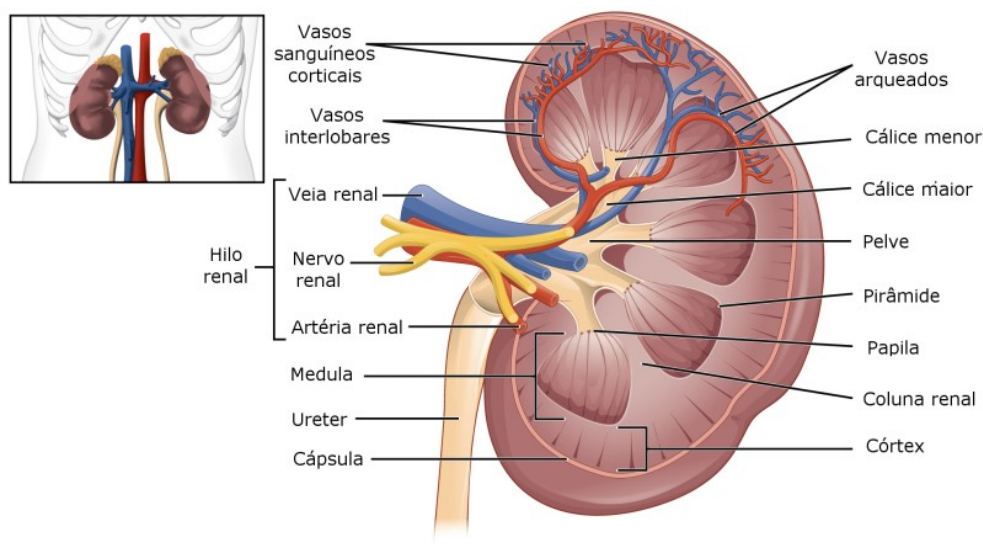
Tabela 1- Medicamentos anti-hipertensivos comercializados no Brasil.

Diuréticos
<p>1- D. de Alça: furosemida, bumetamida, piretamida.</p> <p>2- D. Tiazídicos: hidroclorotiazida, clortalidona, indapamida</p> <p>3- D. Poupadores de potássio: espirolactona, triantereno, amilorida.</p>
Bloqueadores dos canais de cálcio
<p>1- Fenilalquilaminas: verapamil</p> <p>2- Benzotiazepinas: diltiazem</p> <p>3- Diidropiridinas: anlodipino, lacidipino, lercanidipino, manidipino, nifedipino, nisoldipino, nitrendipino, felodipino, isradipino</p>
Inibidores adrenérgicos:
<p>1- Betabloqueadores: bisoprolo, carvedilol*, metoprolol, nadolol, nebivolol**, pindolol, atenolol, propranolol</p> <p>2- Alfabloqueadores: terazosina, prazosina, doxazosina</p> <p>3- Ação central: alfametildopa, clonidina, guanabenz, monoxidina, rilmenidina</p>
Vasodilatadores de ação direta
hidralazina, minoxidil
Inibidores da enzima conversora de angiotensina
delapril, perindopril, captopril, enalapril, lisinopril, ramipril, cilazapril, benazepril, trandolapril, quinapril
Bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II
losartana, valsartana, irbesartana, candesartana, telmisartana, olmesartana
Inibidor direto da renina
Alisquireno

*Alfa-1 e betabloqueador adrenérgico, ** Betabloqueador e liberador de óxido nítrico. Adaptado de: Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2010.

Dentre as comorbidades mais comuns decorrentes da HAS estão apontadas a morte súbita, edema agudo de pulmão, infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular encefálico (AVE) e insuficiência renal (WILLIAMS, 2010). Como mencionado, as interações entre o coração e rins são complexas e agem de maneira bidirecional, sendo o rim, o órgão que tem associação direta com o sistema cardiovascular. É o principal órgão que compõe o sistema excretor e osmorregulador, responsável por filtrar dejetos presentes no sangue e excretá-los juntamente com água. Nos humanos, os rins ficam localizados na região posterior do abdômen, atrás do peritônio, sendo, por isso, chamados de órgãos retroperitoniais. Existe um rim em cada lado da coluna, sendo que o direito está localizado logo abaixo do fígado e o esquerdo abaixo do baço. Acima de cada um encontra-se a glândula adrenal ou supra-renal, como mostrado na figura 1.

Figura 1- Representação em imagem do rim



Fonte: Anatomia do rim. Ilustração: Open Stax College, 2009

Independentemente do tipo de HAS, já é reportado que ela é o principal fator para a progressão e agravamento da insuficiência renal (KAPLAN, NM, 2002). Esta patologia agrava as repercussões cardiovasculares, o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca e de insuficiência cardíaca, e o risco de doença arterial coronária. O principal mecanismo da HAS na insuficiência renal é relacionado com a perda progressiva da capacidade renal de excretar sódio, resultando em sobrecarga salina e de volume.

Entretanto, outros mecanismos podem estar envolvidos, como maior produção de vasoconstritores, como a angiotensina II, diminuição de vasodilatadores, como as prostaglandinas, e alterações na função endotelial com síntese prejudicada do óxido nítrico (RITZ, 2003).

Outros mecanismos que contribuem para o desenvolvimento e/ou aceleração de disfunção renal são mecanismos neurais e hormonais, uma vez que o sistema nervoso autônomo é responsável pelo controle neural da circulação, sendo formado por duas vias reguladas paralelamente e diferencialmente: simpático e parassimpático. Este controle opera por meio de neurônios que inervam o coração, vasos sanguíneos, medula adrenal e rins, sendo realizado por um grande grupo de neurônios eferentes simpáticos que possuem um papel dominante na regulação da pressão arterial (PA) de curto e longo prazo (DUSCHEK; WERNER; REYES DEL PASO, 2013). Na HAS ocorre uma superestimulação do sistema nervoso simpático, ativando estes neurônios e promovendo aumento de neurotransmissores, como adrenalina e noradrenalina, que são liberados na corrente sanguínea e conseqüentemente aumento na PA. Estas mudanças fisiopatológicas são chaves para o entendimento da contribuição do desenvolvimento e progressão das síndromes cardiorenais. Com a elevação sustentada da PA, que é característica da patologia, ocorre danos a órgão alvos, como os rins, resultando numa elevação da atividade simpática renal, que pode resultar em vasoconstrição renal, alterações hemodinâmicas, desregulação do eixo neuro-hormonal, através da ativação do nervo simpático, contribuindo para a redução da função renal (AKAZAWA et al., 2013; MATSUMOTO et al., 2013).

Para uma melhor investigação de como esses mecanismos fisiopatológicos funcionam, a utilização de modelos experimentais é uma forte ferramenta usada no âmbito da pesquisa (JAARIN, 2015), uma vez que esses modelos modulam a compreensão, além de facilitar a descoberta de novos alvos terapêuticos para diversas doenças (DORNAS; SILVA, 2011). Assim, alguns modelos experimentais que envolvem as doenças relacionadas ao sistema cardiovascular vêm sendo utilizados, facilitando então o entendimento dos diversos mecanismos envolvidos na HAS, bem como ajudando no estudo de estratégias mais eficazes para o controle dos níveis pressóricos (FAZAN JR et al., 2001). Desse modo, cabe destacar o modelo de hipertensão espontânea em ratos.

Os ratos espontaneamente hipertensos (SHR) constituem um modelo de animais que desenvolvem hipertensão de origem genética. Esses animais foram desenvolvidos por meio de seletivos endocruzamentos, entre irmãos e irmãs, fazendo uso de ratos normotensos da linhagem Wistar Kyoto, como resultado os seus descendentes são portadores da doença hipertensiva, em sua totalidade (OKAMOTO; AOKI, 1963; OKAMOTO, 1966). Desde então esse é um dos modelos experimentais mais utilizados e descritos na literatura devido a sua semelhança com a hipertensão essencial humana (FAZAN et al, 2006). Pode-se citar como semelhança da fisiopatogênica entre o modelo experimental e a hipertensão humana, que ambas apresentam predisposição genética, sem etiologia específica para a HAS, bem como o aumento da resistência vascular periférica total (RVPT), sem expansão de volume e respostas similares aos tratamentos medicamentosos (FAZAN; SILVA; SALGADO, 2001).

Esses animais desenvolvem a HAS a partir da quinta semana de vida, e apresentam um nível pressórico considerado como hipertensão espontânea entre a sétima e décima quinta semanas, podendo atingir um platô entre a vigésima e vigésima oitava semana de vida, quando comparados ao seu controle Wistar, valendo a ressalva que não há influência sexual para o desenvolvimento hipertensivo (YAMORI, 2013). Além disso, os SHRs desenvolvem com a progressão clínica uma hipertrofia cardíaca (THOMAS, 1997). Dessa forma, o SHR é o modelo experimental de hipertensão arterial que mais se assemelha ao desenvolvimento da hipertensão humana (CESARETTI, 2006).

Outra patologia decorrente da HAS é o IAM, que é conceituado como uma doença relacionada à diminuição do aporte de oxigênio ofertado e demandado às células cardíacas prejudicando as funções metabólicas do coração (THYGESEN, 2012). A isquemia miocárdica é comumente associada a elevação da atividade do sistema nervoso simpático, elevando os níveis de hormônios simpaticomiméticos, como adrenalina e noradrenalina (CAHIL & KHARBANDA, 2017).

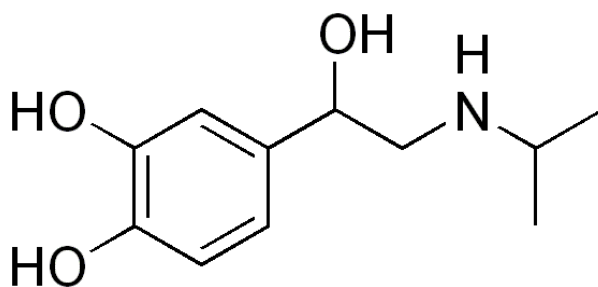
O isoproterenol (ISO) é uma catecolamina sintética cardiotoxica na dose de 85mg/kg que atua como agonista de receptores β -adrenérgicos não-seletivos. A literatura descreve seu uso para mimetizar o IAM uma vez que é capaz de apresentar as diversas alterações metabólicas de modo semelhante ao IAM que ocorre em seres humanos (BROKS et al, 2009; LOBO-FILHO et al, 2011). A alta distribuição de

receptores β -adrenérgicos nos tecidos cardíacos contribui para o desenvolvimento da cardiomiopatia induzida pelo ISO (GOODMAN & GILMAN, 2018).

A administração de ISO em altas doses (85–300 mg/kg, administração repetida) produz necrose miocárdica difusa, hipertrofia ventricular, alterações hemodinâmicas e alterações metabólicas, que podem contribuir para alterações em órgãos alvos, como por exemplo os rins (SIDDIQUI et al, 2016).

ISO assemelha-se as catecolaminas, que são neurotransmissores endógenos. A presença de um núcleo aromático catecol unido a uma porção alifática, que confere a estas moléculas uma maior afinidade entre os receptores adrenérgicos (BANGASH et al, 2012; LIAUDET et al, 2014). Em sua estrutura molecular (Figura 2), o grupamento alifático isopropila ligado ao gupo amina confere ao isoproterenol maior afinidade β -adrenérgica e pouca afinidade por receptores α -adrenérgicos, enquanto que a presença de hidroxilas ligadas ao anel aromático nas posições 3 e 4 potencializam a ação β -adrenérgica e que a hidroxila ligada ao carbono na posição β aumenta a hidrofilia molecular e reduz a ação central (HOFFMAN et al, 2001).

Figura 2- Estrutura molecular do isoproterenol



Fonte: SIDDIQUI et al, 2016

Esses neurotransmissores modulam numerosas funções vitais, incluindo a frequência e a força da contração cardíaca, a resistência (constrição e dilatação) dos vasos, entre outros. O organismo apresenta uma extensa distribuição de receptores seletivos para estas catecolaminas, que são denominados adrenoreceptores. Esses hormônios/neurotransmissores são substâncias simpaticomiméticas, que podem atuar via dois tipos de receptores adrenérgicos acoplados à uma proteína do tipo G. Os

receptores adrenérgicos podem ser do tipo α (α -1 e α -2) e do tipo β (β -1, β -2 ou β -3). Um subtipo a se destacar são os receptores β 1, localizados primariamente no coração e rins. Nos seus órgãos efetores, a ação por meio de catecolaminas em seus receptores é essencial. No coração os receptores β 1 aumentam o cronotropismo e inotropismo e aumentam a velocidade de condução no nó atril ventricular. Nos rins, que também possui uma alta distribuição de destes receptores, promove a elevação da secreção de renina nas células justaglomerulares renais (EL TAHIR et al, 2003).

Desta maneira a interação de coração e rins para o controle pressórico é de grande interesse, uma vez que é a via principal envolvida na modulação da pressão arterial a longo prazo. Doses repetidas de ISO provoca a hiperativação do sistema nervoso simpático, promovendo uma serie de efeitos que culminam em elevação da pressão arterial através de seus efeitos sobre os receptores beta adrenérgicos localizados no coração e rins, mostrando que o envolvimento de catecolaminas é de alta relevância por promover ações sobre esses órgãos (GOODMAN & GILMAN, 2018).

As ações conjuntas promovidas pela HAS e o IAM promovem desenvolvimento e progressão da insuficiência renal, uma vez que o rim é um órgão alvo dessas patologias. Quando a função renal é prejudicada e a taxa de filtração glomerular diminui, ocorre alterações nos biomarcadores renais, nos quais se destacam a creatinina sérica e ureia sérica. Os testes de creatinina têm como função mostrar a função renal prejudicada e medem a quantidade de fosfato de creatinina no sangue, além de ser um parâmetro amplamente aceito e comum para avaliar funções renais. A ureia é transportada pelo sangue até o rim, onde é rapidamente filtrada do plasma pelo glomérulo. Grande parte da ureia no filtrado glomerular é excretada na urina, embora até 40% seja reabsorvida por difusão passiva durante a passagem do filtrado através dos túbulos renais. (BISHOP et al., 2010). Desta maneira, quando a taxa de filtração glomerular (TFG) se encontra reduzida, há retenção de ureia, que será detectada em níveis elevados na corrente sanguínea (ADRIOLO, 2011).

Mesmo diante de diversas classes de fármacos disponíveis no mercado, uma parcela significativa da população ainda não consegue manter os níveis pressóricos considerados ideais, promovendo a progressão da doença e atingindo órgãos alvos, como os rins. Apesar do avanço científico e tecnológico, o uso de plantas medicinais ainda beneficia a população até os dias atuais, com a finalidade de complementar os

tratamentos de diversas enfermidades (BADKE et al, 2012; FERREIRA & PINTO, 2010), e em algumas comunidades, este é o único recurso disponível a ser usado como tratamento (MACIEL et al., 2002; MACEDO et al., 2007). Embora exista valiosos avanços dos fármacos sintéticos no mercado, percebe-se que a medicina popular volta a crescer em todo o mundo (BADKE et al, 2012; HEISLER et al, 2012). Existe numerosas vantagens para o investimento na produção de fármacos derivados de plantas medicinais, como a fácil obtenção, baixo custo e a grande tradição em seu uso contribuem para a contínua utilização dessas plantas (VEIGA Jr & PINTO, 2005). Tal valorização, despertou o interesse em comprovar cientificamente sobre a segurança e eficácia terapêutica dos produtos utilizados pelas comunidades (SIMÕES et al., 2000).

Segundo a OMS, aproximadamente 80% da população mundial, utiliza as plantas medicinais para a obtenção de um cuidado primário de saúde (KFFURI, 2008; VEIGA Jr & PINTO, 2005). Porém, é necessário que haja um conhecimento científico acerca da finalidade, benefícios e riscos, que podem surgir com o uso terapêutico de plantas medicinais, uma vez que apesar de ser um produto de origem natural, não estão isentas de efeitos tóxicos e colaterais, bem como se possui alguma interação medicamentosa (BADKE et al, 2012).

Os estudos que envolve o uso de plantas medicinais são complexos os eventos adversos ocorridos, podem ser explicados pela variedade de componentes existentes, uma vez que os extratos obtidos de plantas possuem diversos compostos que podem agir em diferentes alvos celulares (FERREIRA & PINTO, 2010).

Compostos como fenóis, cumarinas, óleos essenciais, glicosídeos, alcalóides, flavonóides, terpenos podem ser encontrados em diversas espécies de plantas e utilizadas para o tratamento de doenças renais. Dentre esses compostos, a Betaína, que possui flavonóides na sua composição, é utilizada com a finalidade de promover um efeito renoprotetor (Ghartavol MM, 2019).

Outro composto a se destacar são os compostos terpênicos, que são substâncias naturais, caracterizados por serem metabólitos secundários de origem vegetal. Dentre os compostos terpênicos, destaca-se os monoterpenos, que possuem a capacidade de modular ações sobre diversos sistemas do organismo, demonstrando promissores efeitos para o tratamento farmacológico de doenças (SANTOS et al, 2011). Os monoterpenos são constituintes comumente encontrados em óleos essenciais de várias estruturas

vegetais, como flores, folhas, frutos e resinas (YANG et al, 2013; ZUZARTE & SALGUEIRO, 2015). Outros monoterpenos possuem efeitos sobre o sistema renal, como o Pineno é um hidrocarboneto terpenóide. α - e β -pineno são dois isômeros encontrados em óleos essenciais de pinheiro, que pertencem a família de monoterpenos. Esses dois fitoquímicos promovem atividades biológicas como fungicidas, agentes antivirais e antimicrobianos, além de serem componentes de drogas renais e hepáticas (WINNACKER M, 2018). O óleo essencial de Carum (*Carum carvi*) é um monoterpeno com ação diurética, utilizado no tratamento de hipertensão, reduzindo a PA e cálculos renais, modificando os depósitos renais (Lahlou et al., 2007).

O α -terpineol (TPN) é um dos compostos majoritários da resina obtida de *Protium hepthaphylum*, que é uma planta nativa do Brasil pertencente à família Burseracea e popularmente conhecida como “almécega” ou “breu branco” que se distribui na região amazônica e no Nordeste brasileiro. Sua resina é utilizada por tribos indígenas brasileiras em rituais curandeiros para tratamento popular de diversas doenças, como a HAS, através da inalação da queima da resina obtida desta espécie vegetal (BREITBACH et al, 2013; MOBIN et al, 2017). TPN é um monoterpeno com elevado potencial terapêutico e recentes estudos mostram atividades farmacológicas descritas na literatura como: ação antitumoral (HASSAN et al 2010), anticonvulsivante e sedativa (DE SOUSA et al, 2011), antinociceptiva e antiinflamatória (QUINTANS-JÚNIOR et al, 2011; DE OLIVEIRA et al, 2012), além de ações cardiovasculares, vasorelaxante e hipotensora (GUEDES, 2004; BASTOS, 2010; MENEZES, 2010) e cardioprotetora (PAULINO, 2019). No entanto, ainda não foi demonstrado sua ação renoprotetora.

Assim, este trabalho objetivou-se em avaliar a atividade renoprotetora de TPN isolado da resina de *Protium hepthaphylum* em ratos infartados e hipertensos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- ✓ Avaliar o efeito renoprotetor do monoterpeno α - terpineol isolado das resinas do caule de *Protium hepthaphylum* em ratos SHR e infartados.

3.2 Objetivo Específicos

- ✓ Avaliar os efeitos do α - terpineol sobre os parâmetros morfométricos de ratos SHR e infartados;
- ✓ Avaliar os efeitos do α - terpineol sobre os níveis de creatinina sérica de ratos SHR e infartados;
- ✓ Avaliar os efeitos do α - terpineol sobre os níveis de ureia sérica de ratos SHR e infartados.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. Substâncias

Tiopental sódico (Cristália, BR), Cetamina (Syntec, BR), Xilazina (Syntec, BR), Isoproterenol, cremophor, Creatinina total liquiform, uréia liquiform, (Labtest, BR)

4.2 Extração e obtenção do monoterpeno

O monoterpeno foi extraído de resinas obtidas no caule de *Protium heptaphyllum*. O método de extração e purificação encontra-se em patente depositada no Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI -BR) sob número de protocolo INPI 00012. Para a confirmação estrutural do TPN foi realizada uma corrida cromatográfica gasosa que era acoplada à espectrometria de massas e sua elucidação estrutural era analisada através da montagem molecular com base nos íons fragmentados no espectro de massa/carga além da confirmação da compatibilidade de compostos descritos na biblioteca espectral NIRST, superior à 85% de similaridade. Uma análise confirmatória era realizada através de ressonância magnética nuclear de prótons (RMN H⁺), identificando a formação de hidrogênios singletos, dupletos e tripletos presentes na molécula.

4.3 Animais

Foram utilizados em todos os protocolos farmacológicos descritos neste trabalho, 25 ratos adultos jovens (*Rattus norvegicus*, variedade albinus), machos, da linhagem espontaneamente hipertensos (SHR), sadios, pesando entre 150 e 250 gramas que foram procedentes do Biotério Central da UFAL, Maceió, AL.

Os animais foram previamente acondicionados em gaiolas plásticas coletivas, contendo cinco animais por gaiola, mantidos em fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro, ruídos mínimos, temperatura ambiente de aproximadamente 25°C e umidade mantida por ar condicionado, conforme preconizado pelo Conselho Canadense de Experimentação Animal (Olfert, 1993). Os ratos eram alimentados com ração balanceada padrão para roedores (Nuvilab, BR) e água filtrada “*ad libitum*”. A troca da maravalha foi realizada três vezes por semana. Antes do início do experimento, os animais foram submetidos por um período de adaptação no biotério setorial do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular do Instituto de Ciências Farmacêuticas (LFC-ICF) por sete dias. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo comitê de ética em pesquisa animal da UFAL, sob número de protocolo 09/2015.

4.4 Abordagens farmacológicas

Para avaliar o efeito renoprotetor de TPN, utilizou-se o método de infarto agudo do miocárdio induzido por isoproterenol, de acordo com a técnica descrita por Rajadurai & Prince, 2006. Os animais da linhagem SHR eram aleatoriamente alocados em 5 grupos experimentais, contendo 5 ratos por grupo:

G1 – Grupo salina (grupo que recebia solução salina 0,9% V.O por 15 dias)

G2 – Grupo infartado por isoproterenol (grupo que recebia solução salina 0,9% V.O. por 15 dias + isoproterenol 85mg/kg s.c. 14° e 15° dias)

G3- TPN 25 mg/kg +ISO (grupo que recebia TPN na dose de 25mg/kg V.O. por 15 dias + isoproterenol 85 mg/kg s.c. 14° e 15° dia)

G4- TPN 50 mg/kg +ISO (grupo que recebia TPN na dose de 50mg/kg V.O. por 15 dias + isoproterenol 85 mg/kg s.c. 14° e 15° dia)

G5- TPN 75 mg/kg +ISO (grupo que recebia TPN na dose de 75mg/kg V.O. por 15 dias + isoproterenol 85 mg/kg s.c. 14° e 15° dia)

4.5 Avaliação bioquímica

Após a eutanásia por ensanguinação sob anestesia (Cetamina 80 mg/kg + Xilazina 4 mg/kg i.p). Os animais foram submetidos a uma toracotomia e uma punção cardíaca foi realizada. O sangue colhido foi centrifugado 5.000 rpm por 15 minutos e o soro foi obtido como amostra para dosagens bioquímicas (creatinina sérica e ureia sérica).

4.6 Avaliação morfométrica

Após a retirada dos rins, estes foram limpos de tecidos aderentes. Os rins foram pesados de acordo com o método de Scherle. O peso do rim foi equilibrado com o peso corporal, bem como, com o peso do fêmur dos ratos. Foram avaliados, alterações sobre os parâmetros morfométricos: peso corpóreo, peso do rim, peso do rim/peso corpóreo, peso do rim/peso do fêmur.

4.7 Análise estatística

Os valores estão expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m.). O teste “t” de Student não pareado foi usado para a comparação entre duas variáveis. Enquanto, a análise de variância one-way ANOVA foi usada para comparações de mais de duas variáveis, seguida do teste de comparação múltipla Newman-Keuls. Adotou-se o valor de $p \leq 0,05$ nos resultados das variáveis. Isso representa uma chance em vinte do evento ter ocorrido ao acaso como resultado de um erro amostral. A análise estatística foi realizada utilizando o software estatístico GraphPad Prism versão 6.0.

5 RESULTADOS

5.1- Avaliação da morfometria do rim direito de ratos SHR e infartados tratados com alfa- terpineol

É observado em A, (Gráfico 1) que houve uma diminuição do peso dos rins no grupo controle ISO 85mg/kg em comparação com o grupo controle salina ($G_2 = 0,456 \pm 0,08$ vs $G_1 = 1,062 \pm 0,01$ ****). O tratamento prévio nos grupos tratados com TPN nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg respectivamente e submetidos ao infarto com ISO não foi capaz de promover diferenças significativas nesses pesos em comparação com o grupo ISO ($G_2 = 0,456 \pm 0,08$ vs $G_3 = 0,582 \pm 0,04$; $G_2 = 0,456 \pm 0,08$ vs $G_4 = 0,599 \pm 0,05$; $G_2 = 0,456 \pm 0,08$ vs $G_5 = 0,588 \pm 0,02$). Em B, houve uma diminuição significativa do peso no grupo controle ISO quando comparado com o grupo salina, ($G_2 = 0,176 \pm 0,030$ vs $G_1 = 0,355 \pm 0,010$ ****) o que não é observado nos grupos conforme os animais eram submetidos ao tratamento prévio com TPN nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg respectivamente, onde houve diferença significativa entre esses grupos e o grupo ISO, demonstrando que havia uma preservação da massa celular do órgão analisado em relação ao seu controle negativo ($G_2 = 0,176 \pm 0,030$ vs $G_3 = 0,209 \pm 0,01$ **); $G_2 = 0,176 \pm 0,030$ vs $G_4 = 0,203 \pm 0,02$ **); $G_2 = 0,176 \pm 0,030$ vs $G_5 = 0,289 \pm 0,01$ **). Em C, pode-se observar que o grupo controle ISO teve uma diminuição significativa ao ser comparado com o grupo controle salina ($G_2 = 43,77 \pm 8,57$ vs $G_1 = 87,44 \pm 2,15$ ****), e nos grupos tratados com TPN nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg respectivamente não é observado diferença significativa ($G_2 = 43,77 \pm 8,57$ vs $G_3 = 42,45 \pm 1,18$; $G_2 = 43,77 \pm 8,57$ vs $G_4 = 46,89 \pm 4,49$; $G_2 = 43,77 \pm 8,57$ vs $G_5 = 46,07 \pm 2,99$).

Gráfico 1- Avaliação morfométrica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por ISO em ratos SHR.

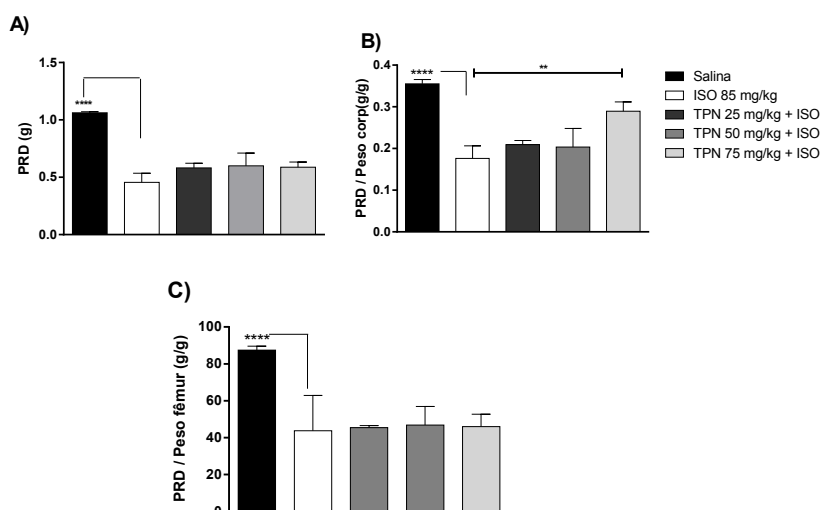


Gráfico 1 – Avaliação morfométrica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por isoproterenol (85 mg/kg 2x s.c) em ratos SHR. (A) Peso do rim direito (B) Razão do peso do rim sobre o peso corpóreo e em (C) Razão do peso do rim sobre o peso do fêmur. Análise estatística ANOVA one-way seguido de pós-teste Newman-Keuls. Considerando significativo quando *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,0001 (ISO vs. Salina), (ISO vs. TPN 25,50 e 75 mg/kg). n=5.

5.2- Avaliação da morfometria do rim esquerdo de ratos SHR e infartados tratados com alfa- terpineol

Ao avaliar o gráfico 2, que nos mostra a morfometria de rim esquerdo, é revelado em A que o peso do grupo controle ISO 85 mg/kg diminuiu significativamente em relação ao grupo controle salina ($G2 = 0,464 \pm 0,06$ vs $G1 = 1,053 \pm 0,03$ ****). Mesmo com o tratamento crônico não houve diferença significativa entre os grupos tratados e o controle ISO ($G2 = 0,464 \pm 0,06$ vs $G3 = 0,595 \pm 0,07$; $G2 = 0,464 \pm 0,06$ vs

G4= $0,603 \pm 0,06$; G2= $0,464 \pm 0,06$ vs G5= $0,604 \pm 0,02$). Em B, que nos revela o peso dos rins sobre o peso corpóreo, é observado que o grupo controle ISO é significativamente diminuído em comparação com o controle salina (G2= $0,179 \pm 0,010$ vs G1= $0,351 \pm 0,016^{****}$). No entanto, nos grupos que foram tratados de maneira crônica com TPN houve um aumento significativo desses pesos em comparação com o controle ISO 85 mg/kg (G2= $0,179 \pm 0,010$ vs G3= $0,214 \pm 0,02^{***}$; G2= $0,179 \pm 0,010$ vs G4= $0,205 \pm 0,02^{***}$; G2= $0,179 \pm 0,010$ vs G5= $0,300 \pm 0,01^{***}$). Já em C, que nos mostra o peso dos rins sobre o peso do fêmur, é observado uma diminuição significativa do peso no grupo controle ISO em comparação com o grupo controle salina (G2= $44,52 \pm 6,17$ vs G1= $86,84 \pm 4,48^{****}$), e mesmo com o tratamento crônico com TPN, os grupos tratados previamente não possuem nenhum aumento significativo em comparação com o grupo controle ISO 85 mg/kg (G2= $44,52 \pm 6,17$ vs G3= $46,28 \pm 2,60$; G2= $44,52 \pm 6,17$ vs G4= $47,10 \pm 4,06$; G2= $44,52 \pm 6,17$ vs G5= $47,07 \pm 1,92$).

Gráfico 2- Avaliação morfométrica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por ISO em ratos SHR

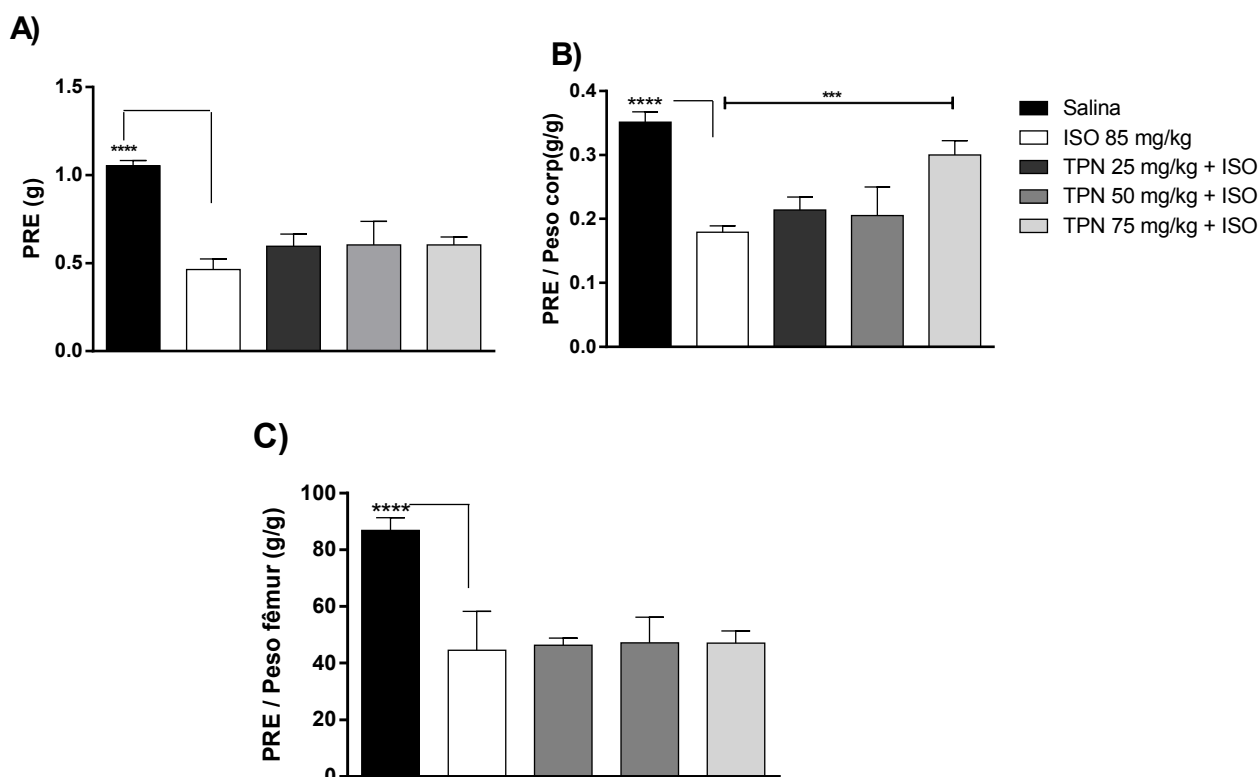


Gráfico 2 – Avaliação morfométrica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por isoproterenol (85 mg/kg 2x s.c) em ratos SHR. (A) Peso do rim esquerdo (B) Razão do peso do rim sobre o peso corpóreo e em (C) Razão do peso do rim sobre o peso do fêmur. Análise estatística ANOVA one-way seguido de pós-teste Newman-Keuls. Considerando significativo quando * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,0001$ (ISO vs. Salina), (ISO vs. TPN 25,50 e 75 mg/kg). $n=5$.

5.3- Avaliação dos níveis de Creatinina sérica

Ao analisar o gráfico 3, que nos mostra os níveis de creatinina sérica em mg/dL, pode-se observar um aumento significativo de creatinina sérica no grupo controle ISO 85 mg/kg. Ao comparar o grupo controle ISO com o grupo controle salina, pode-se observar uma diferença significativa entre os grupos ($G2= 14,200 \pm 3,200$ vs $G1= 2,500 \pm 1,400$ ****). Comparando o grupo controle ISO e os demais grupos que foram tratados com TPN nas doses de 25 mg/kg, 50 mg/kg e 75 mg/kg, respectivamente, houve diferença significativa entre eles ($G2= 14,200 \pm 3,200$ vs $G3= 2,900 \pm 1,20$ ***; $G2= 14,200 \pm 3,200$ vs $G4= 1,100 \pm 0,20$ ****; $G2= 14,200 \pm 3,200$ vs $G5= 0,500 \pm 0,10$ ****).

Gráfico 3- Avaliação bioquímica dos níveis de creatinina sérica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por ISO em ratos SHR

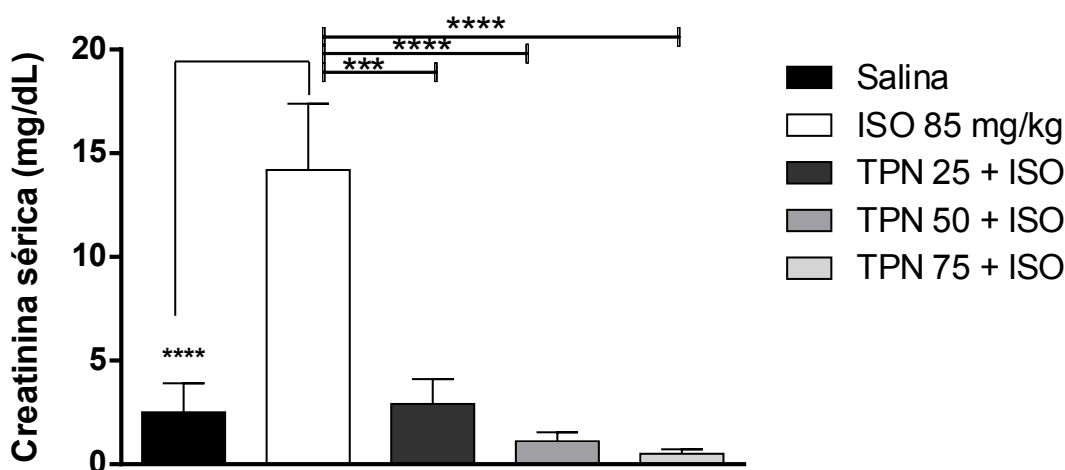


Gráfico 3 – Avaliação bioquímica dos níveis de creatinina sérica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por isoproterenol (85 mg/kg 2x s.c) em ratos SHR. Análise estatística ANOVA one-

way seguido de pós-teste Newman-Keuls. Considerando significativo quando $*p < 0,05$, $**p < 0,01$ e $***p < 0,0001$ (ISO vs. Salina), (ISO vs. TPN 25,50 e 75 mg/kg). n=5.

5.4- Avaliação dos níveis de Ureia sérica

Ao analisar o gráfico 4 que nos revela os níveis de ureia sérica em mg/dL, é mostrado um aumento significativo no grupo controle ISO 85 mg/kg em comparação com o grupo controle salina ($G2 = 504,000 \pm 76,700$ vs $G1 = 49,800 \pm 7,100$ ****). Ao comparar o grupo ISO com os grupos que receberam tratamento prévio com TPN, é observado aumento significativo do grupo ISO em comparação com os demais grupos ($G2 = 504,000 \pm 76,700$ vs $G3 = 33,300 \pm 10,00$ ****; $G2 = 504,000 \pm 76,700$ vs $G4 = 30,600 \pm 9,30$ ****; $G2 = 504,000 \pm 76,700$ vs $G5 = 25,900 \pm 8,30$ ****).

Gráfico 4- Avaliação bioquímica dos níveis de ureia sérica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por ISO em ratos SHR.

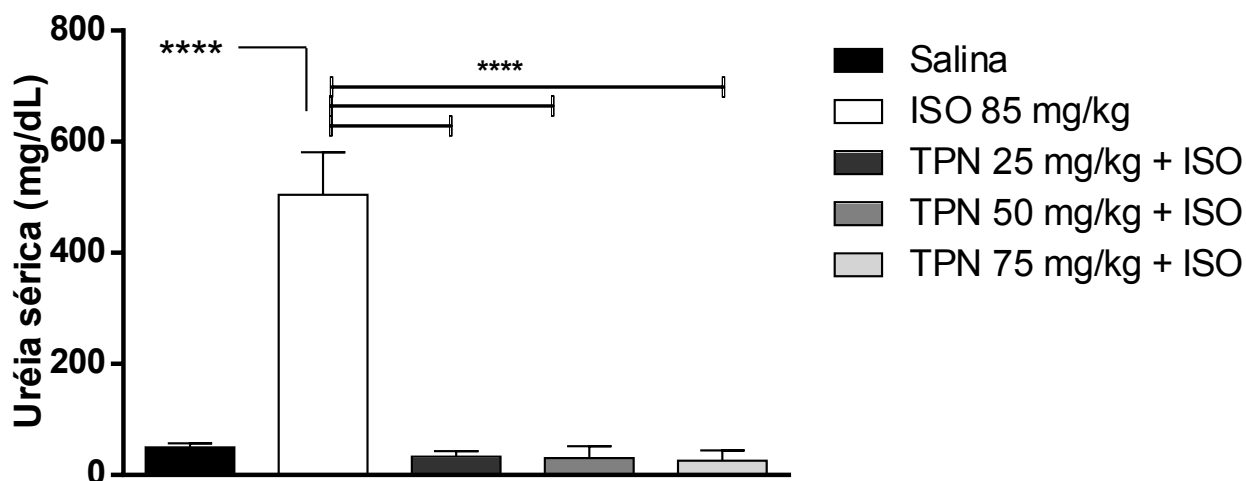


Gráfico 4 – Avaliação bioquímica dos níveis de ureia sérica pós- infarto agudo do miocárdio induzido por isoproterenol (85 mg/kg 2x s.c) em ratos SHR. Análise estatística ANOVA one-way seguido de pós-teste Newman-Keuls. Considerando significativo quando $*p < 0,05$, $**p < 0,01$ e $***p < 0,0001$ (ISO vs. Salina), (ISO vs. TPN 25,50 e 75 mg/kg). n=5.

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos de TPN, um monoterpeno, sobre o sistema renal de ratos SHR, bem como tentar elucidar os possíveis mecanismos que envolvem esses efeitos. Para isto, foram realizados experimentos com a finalidade de avaliar os efeitos de TPN sobre a morfometria de rins, como também sobre os parâmetros bioquímicos renais (creatinina e ureia) de ratos SHR.

A morfometria é um recurso que fornece dados numéricos que podem ser obtidos a partir de: quantidades, dimensões e cores de estruturas celulares e/ou teciduais, que precisam da aplicação de testes estatísticos para permitir uma conclusão mais segura. Segundo a literatura, esse recurso está sendo utilizado como uma metodologia válida para avaliação patológica em várias condições, podendo essas serem: avaliação clínica, assim como seu uso primordial na pesquisa científica, permitindo uma investigação precisa sob o aspecto qualiquantitativo, fornecidos pela morfometria, através de cálculos e medidas das dimensões anatomopatológicas, se aplicando a estes exemplos peso do fígado a ser analisado (BOGLIOLO, 2009).

É reportado na literatura que a HAS promove alterações em órgãos alvos, como fígado, cérebro e rins, que modifica as funções fisiológicas, dimensões e aspectos. Desde modo, foi realizado a morfometria dos rins a fim de identificar a relação que o órgão possui com todo o corpo, como também avaliar suas dimensões e obter respostas acerca das lesões causadas por HAS e IAM, bem como a influência de TPN na proteção dos rins.

Foram utilizados parâmetros morfométricos para avaliar tamanho e volume do órgão. Através do gráfico 1, que nos mostra a morfometria de rim direito, é observado o peso do órgão, peso do órgão sobre o peso corpóreo e peso do órgão sobre um osso longo, como o fêmur.

É reportado na literatura que os rins funcionam por um sistema de feedback positivo e negativo entre eles, de modo que, ao haver lesão em um dos rins há uma compensação fisiológica no rim adjacente. Sendo assim, foi avaliado os mesmos parâmetros no rim esquerdo (SCHEFOLD, J. C., 2016).

Em conjunto, esses dados nos sugerem que injúria cardíaca provocada pelo ISO por IAM também promoveu uma injúria nos rins dos animais, que não foi capaz de ser compensado através dos sistemas fisiológicos. Assim, no grupo ISO houve uma atrofia celular promovida por IAM, devido a estimulação de distúrbios sobre o sistema cardiorenal, de modo que houve uma preservação desse sistema quando os animais eram pré-tratados com o TPN, sugerindo que o tratamento foi capaz de preservar os parâmetros morfométricos a injúria renal causada por ISO.

Para o controle da pressão arterial (PA) existe mecanismos fisiológicos responsáveis pela modulação dos níveis pressóricos. Esses mecanismos ocorrem por ação conjunta e integrada, que são divididos em três grupos. Mecanismos de controle a curto prazo, em que a ação é expressa em segundos ou minutos, mecanismo de controle a médio prazo, ou também denominado controle hormonal, onde sua ação ocorre em minutos e o mecanismo de controle a longo prazo, na qual a sua ação ocorre em horas ou dias, chamado então de controle renal. (CAMPAGNOLE-SANTOS; HAIBARA, 2001).

No controle de PA a longo prazo, o órgão a se destacar é o rim, que é o mais importante nesse controle, uma vez que esse sistema é dependente do equilíbrio hidroeletrólítico e da função renal (BERNE e LEVY, 2009). A volemia é controlada pelo sistema renina angiotensina- aldosterona, quando o rim promove a liberação de renina, que converte o angiotensinogênio (produzido pelo fígado) em angiotensina I, sofrendo a ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) em angiotensina II, essa tem como função promover uma vasoconstrição, além de aumentar a contratilidade cardíaca e levar a uma hipertrofia, bem como, promover a reabsorção tubular de sódio, e por fim, ainda estimula a secreção de aldosterona (AKAZAWA et al., 2013; MATSUMOTO et al., 2013). Sendo assim, a ação conjunta entre coração e rins é essencial para a manutenção da PA.

Em rator SHR é observado fatores que causam agravos cardiovasculares. Dentre eles, o controle neural de regulação da PA encontra-se debilitado e as respostas

fisiológicas a curto, médio e longo prazo não funcionam da maneira devida. Além da HAS já instalada nesses animais, o IAM que ISO desenvolveu, influência diretamente na regulação dos mecanismos fisiológico, afetando sistema cardiovascular e rins (GUYENET, 2006).

A resposta de contra-regulação no rato SHR é um mecanismo fisiológico no qual um rim terá sua atividade aumentada para suprir a necessidade do outro órgão prejudicado. Com a patologia já instalada em conjunto com o IAM promovido por ISO essa resposta é significativamente diminuída. A junção de HAS e IAM causam danos ao eixo cardiorrenal, que atuam de forma sinérgica, promovendo a homeostase da regulação da PA, e danos provocados em um dos órgãos, é capaz de afetar o outro. No rins, quando há comprometimento de suas funções, é instalado um processo de injúria renal. Por consequencia, o clearance renal e aparato justaglomerular afetados, promovem diminuição da regulação do fluxo sanguíneo, da atividade de filtração glomerular, e afeta a integridade dos néfrons, responsável pela produção da urina (Van Riet, et al, 2016).

Nos resultados mostrados no gráfico 1 e 2, a morfometria nos revela que foi encontrada injúria renal associado as duas patologias mencionadas, uma vez que é possível observar diferenças significativas nas dimensões dos rins. No entanto, uma vez que esses animais foram submetidos ao tratamento prévio com TPN houve uma cardioproteção, que, indiretamente refletiu nos rins.

Assim, é observado que o tratamento com TPN sugere uma proteção do sistema cardiorrenal, que pode ser interligado ou não com as ações cardioprotetoras já explicitadas pelo nosso grupo de pesquisa, ou podem ocorrer de modo independente. Sendo assim, novos estudos são necessários a fim de confirmar os efeitos subjacentes a essa resposta, buscando compreender se existe ação sinérgica ou não dessa ação cardioprotetora renal.

Os rins são órgãos responsáveis por desempenhar um papel importante na manutenção da homeostase. Dentre suas principais funções dentro da homeostasia pode-se citar a excreção de produtos indesejáveis do metabolismo, substâncias químicas estranhas, drogas e metabólitos hormonais. Também é responsável pela regulação do equilíbrio de água e eletrólitos, regulação da pressão arterial a longo prazo, liberação de substâncias vasoativas, como a renina. São eles que recebem 20-25% do débito

cardíaco, filtrando o sangue e eliminando metabólicos e, ao mesmo tempo, filtram substâncias que são necessárias ao organismo, além de responder a distúrbios hídricos, eletrolíticos e ácido-básicos, alterando especificamente a taxa de reabsorção ou secreção destas substâncias, regulando a volume de líquido corporal (GRAUER, 2010).

A creatinina é um produto do metabolismo da fosfocreatina e creatina musculares e logo depois de ser liberada pelo músculo, a creatinina é excretada pelos rins (KIRSZTAJN, 2007; RIELLA, 2010; BISHOP, 2010; MCPHERSON; PINCUS, 2012). Sendo assim, a creatinina sérica é o marcador mais usado para avaliação da função renal, que pode aumentar ou diminuir a taxa de filtração glomerular (TFG).

A TFG é definida como a capacidade renal de depurar uma substância a partir do sangue e é expressa como o volume de plasma que pode ser completamente depurado na unidade de tempo. A TFG diminui progressivamente ao longo do tempo na maioria das doenças renais, se associando com complicações tais como hipertensão arterial, anemia, desnutrição, doença óssea. Além disso, pequenos aumentos no valor da creatinina correspondem a grandes perdas de TFG (BISHOP et al., 2010).

Os testes de creatinina revelam a função renal prejudicada e medem a quantidade de fosfato de creatinina no sangue, sendo um parâmetro muito utilizado para avaliar funções renais. Por ser um importante biomarcador, tem sido utilizada para avaliação de doença renal crônica (DRC) e injúria renal aguda (IRA), sendo aumentada na insuficiência renal (falência aguda e crônica dos rins). A sua eliminação ocorre exclusivamente por via renal, uma vez que o organismo não é capaz de reaproveita-la. Sendo assim, os níveis de creatinina obtidos refletem a TFG e quando esses são encontrados aumentados é um indicativo de deficiência na função renal (CHEUNG, M., 2018).

A creatinina é filtrada por glomérulos, assim, os níveis de creatinina obtidos é uma medida indireta de filtragem glomerular. A diminuição da taxa de filtração glomerular resulta no aumento das concentrações plasmáticas de creatinina, e esse aumento indica progressão da doença renal. Algumas patologias associadas podem influenciar na função dos rins, no qual pode-se citar as de origem cardiovascular, uma vez que são vias que se interligam. Tais patologias, como HAS e IAM, causam danos as estruturas do órgão e elevam o nível de creatinina, sendo indicativo de dano nos rins. Fatores como a ativação exacerbada do sistema renina-angiotensina, hiperatividade

simpática, disfunção endotelial e acúmulo de substâncias vasoconstritoras, entre outros, podem acelerar o quadro de insuficiência renal. Quando esses dois fatores são combinados, existe uma influência adicional no desenvolvimento da doença (HOUSE, A. A. et al, 2010).

A creatinina é um biomarcador de lesão renal que está relacionado com a TFG e já é bem reportado na literatura que possui relevância para fatores de desenvolvimento do agravamento da HAS e sua elevação está relacionada com lesões a nível renal e por isso há necessidade de investigar esse fator quando se propõe a estudar a renoproteção (CHEN YC, 2017).

Também já é reportado na literatura que o ISO, uma catecolamina sintética, é capaz de produzir o aumento desse marcador bioquímico em decorrência de uma lesão renal secundária a IAM. Desta forma, foi investigado se TPN foi capaz de prevenir a injúria renal com o marcador creatinina. Como foi mostrado no gráfico 3, o TPN foi capaz de prevenir a lesão causada, sugerindo que uma vez que o TPN já demonstrou em estudos prévios um efeito cardioprotetor, também foi capaz de prevenir lesões renais secundárias ao IAM.

Assim, TPN foi capaz de modular esse efeito, sugerindo possível efeito renoprotetor, derivado de um efeito cardioprotetor. Em similaridade, os estudos de Ghartavol et al (2019), demonstraram que o composto Betaína foi capaz de promover renoproteção nos ratos tratados previamente e submetidos ao mesmo modelo de indução de IAM, mostrando que os níveis de creatinina sérica foram significativamente atenuados quando comparado ao grupo controle negativo.

Os estudos realizados por AJAH et al (2021) também corrobora para os resultados encontrados no presente trabalho, revelando que o efeito protetor do extrato metanol de folhas de *Jatropha tanjorensis* foi capaz de modular o dano renal pós IAM, uma vez que nos grupos tratados previamente não houve aumento significativo dos níveis de creatinina sérica.

Já é bem reportado na literatura que as doenças cardiovasculares aumentam o declínio da função renal. Há uma associação entre doença renal crônica e função miocárdica. A função cardíaca prejudicada interfere nos parâmetros renais (interação cardiorrenal). O IAM é uma das doenças fatais mais comuns que podem levar a

distúrbios renais por meio do estresse oxidativo e inflamação, sendo assim, os rins se tornam incapazes de executar as funções excretórias necessárias para manter a homeostase. Além do IAM, a HAS é um fator para a progressão de falha da função renal, à medida que a patologia não é tratada de forma devida (RIELLA, 2013).

A HAS contribui para insuficiência renal e mecanismos fisiológicos acabam tendo suas funções danificadas. Tais mecanismos podem ser apontados como colaboradores da insuficiência renal em indivíduos com HAS, dentre elas, uma maior produção de vasoconstritores, como a angiotensina II, diminuição de vasodilatadores, como as prostaglandinas, e alterações na função endotelial com síntese prejudicada do óxido nítrico (BRANDÃO et al., 2012).

O aumento da PA leva a hipertensão dos capilares glomerulares, causando hiperfiltração, que promove lesão nos glomérulos com aumento da permeabilidade glomerular, e como resultado há o surgimento de proteinúria. O aumento de proteínas causa glomerul esclerose, capaz de reduzir a quantidade de néfrons funcionantes e, como consequência, há diminuição da massa renal. Todos esses fatores somados podem causar comprometimento e evoluir para doença renal, em que a filtração se torna mais lenta e menos efetiva, a produção de urina diminui, e observa-se uma menor taxa de filtração glomerular, como consequência da redução do número total de néfrons, decorrente das alterações na hemodinâmica glomerular (BASTOS et al., 2011).

Desta forma, os biomarcadores podem contribuir para a avaliação e investigação das doenças renais em decorrência de outras patologias, como HAS e IAM, através do eixo cardiorrenal. A ureia é um marcador de grande importância na avaliação renal. É sintetizada no fígado a partir de CO₂ e da amônia que se origina da desaminação de aminoácidos nas reações do ciclo da ureia, sendo o principal produto de excreção do metabolismo das proteínas. Após sua síntese no fígado, é transportada pelo sangue até o rim, onde é rapidamente filtrada do plasma pelo glomérulo e uma boa parte da ureia no filtrado glomerular é excretada na urina, e outra parcela é reabsorvida por difusão passiva durante a passagem do filtrado através dos túbulos renais (BISHOP et al., 2010). Desta maneira, a quantidade da ureia reabsorvida acaba refletindo a capacidade de filtração dos rins (BASTOS, 2011). A principal utilidade da ureia estar na determinação em conjunto com a creatinina. A razão ureia sérica/creatinina sérica pode demonstrar inúmeros tipos de patologias (SODRÉ et al., 2007) e quando há elevação na

concentração plasmática de ureia na corrente sanguínea, existe um indicativo de lesão renal (BISHOP et al., 2010).

Os resultados corroboram para demonstrar que os animais que são tratados de previamente com TPN e submetidos ao IAM são capazes de desenvolver mecanismos renoprotetores e deste modo, há preservação da função renal desses animais, e agindo de maneira protetora contra a injúria renal.

Os resultados supracitados estão de acordo com os estudos de Lobo Filho et al (2011) que demonstra que a administração de ISO eleva as concentrações de ureia, quando comparados os grupos controle salina e controle infarto (ISO), corroborando resultados expressos na literatura.

7 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados no presente trabalho, pode-se concluir que TPN foi capaz de atenuar os níveis de marcadores de lesão renais em ratos espontaneamente hipertensos e infartados e também promoveu uma melhora na morfometria desses ratos, sugerindo assim possível atividade renoprotetora.

8 REFERÊNCIAS

ALVES-SILVA, J. M. et al. Protective Effects of Terpenes on the Cardiovascular System: Current Advances and Future Perspectives. *Curr Med Chem*. V.23, p.4559-4600.2016

BADKE, M. R. et al. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto Contexto Enferm**, Florianópolis, Abr-Jun; 21(2): 363-70, 2012.

BANGASH, M.N et al. Use of inotropes and vasopressor agents in critically ill patients. *Br J Pharmacol*. v.165, p.2015–2033.2012.

BASTOS, M.G. . Biomarcadores na nefrologia: Biomarcadores de Função Renal na DRC. São Paulo: Hugo Abensur,2011.

BAROLDI, G Myocardial necrosis: the need for definition, *J. Mol. Cell. Cardiol*. v.6, p.401–402.1974.

BERNE ; LEVY. **Fundamentos de fisiologia**. Editores Matthew N. Levy, Bruce A. Station, Bruce M. Koeppen. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

BISHOP, M.L; FODY, E.P; SCHOEFF, L.E. **Química Clínica**: princípios, procedimentos, correlações. 5ª edição. Baurueri, S.P: Manole, 2010.

BORTOLOTTO, L.A. Hipertensão arterial e insuficiência renal crônica. Rev Bras Hipertensão vol.15(3):152-155, 2008.

BREITBACH, U.B. et al. Amazonian Brazilian medicinal plants described by C.F.P. von Martius in the 19th century. Journal of ethnopharmacology. V.147, p.180–189.2013.

BRUNTON, L.L; HILAL-DADAN, R et al. As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman. 13ª ed. Mc Graw Hill.2018.

CAHIL T.J & KHARBANDA, R.K. Heart failure after myocardial infarction in the era of primary percutaneous coronary intervention: Mechanisms, incidence and identification of patients at risk. World J Cardiol. V.9, p.407-415.2017.

CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J; HAIBARA, A. S. Reflexos caridovasculares e hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, n. 1, p. 30-40, 2001.

CHEUNG M, Ponnusamy A, Anderton JG. Management of acute renal failure in the elderly patient. Drugs Aging 2008; 25:455- 76.

EDGELL, H. et al. Peripheral chemoreceptor control of cardiovascular function at rest and during exercise in heart failure patients. **Journal of Applied Physiology**, v. 118, n. 7, p. 839-48, 2015.

EL TAHIR K.E.H et al. Some cardiovascular effects of the dethymoquinonated *Nigella sativa* volatile oil and its major components α -pinene and p-cymene in rats. *Saudi Pharm J* v.113, p.104-110.2003.

GRAUER, G.F. Manifestações clínicas dos distúrbios urinários. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. *Medicina interna de pequenos animais*. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 609-696.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of pressure. **Nature**, v. 7, p. 335-346, 2006.

HASSAN S.B. et al, Alpha-terpineol: a potential anticancer agent which acts through suppressing NF- κ B signaling, *Anticancer Res.* v.30, p. 1911-1920.2010.

HARVEY, A. L. Natural products as a screening resource. **Curr Opin Chem Biol**, v.11, p. 480-484, 2007

HEISLER, E. V. et al. Saber popular sobre a utilização da planta *Anredera cordifolia* (Folha Gorda). **Texto Contexto Enferm**, Florianópolis, Out-Dez; 21(4): 937-44, 2012.

HILLEGE, H.L. et al. função renal como um preditor de resultado em um amplo espectro de pacientes com insuficiência cardíaca. *Circulação* 113, 671-678 (2006).

HOFFMAN, B.B. Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists. *Goodman & Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics*. McGraw-

Hill, New York, p. 215-268, 2001.

HOGG, K., Swedberg, K. & McMurray, insuficiência J. Coração com a função sistólica ventricular esquerda preservada; epidemiologia, características clínicas e prognóstico. *Geléia. Colégio Cardiol.* 43, 317-327 (2004).

HOUSE, A. A. et al. Definição e classificação de cardio-renal síndromes: declarações de grupo de trabalho da 7ª Conferência de Consenso ADQI. *Nephrol. Dial. Transplante.* 25, 1416-1420 (2010).

JOHNSON KJ, WrefordNG, HoyWE, et al: Estimando glômero total número ular em rins humanos com uma combinação dissector / fracionador físico. *Estereol Anal de Imagem* 19: 105–108, 2000

KFFURI, C. W. **Etnobotânica de plantas medicinais no município de Senador Firmino (Minas Gerais)**. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais, 2008. (Dissertação).

KOHEN, R.; NYSKA, A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, v. 30, n. 6, p. 620-650, 2002

LEMMER, J & VLAHAKES, G. Postoperative management. IN: Lemmer, J & Vlahakes, G. *Handbook of patient care in cardiac surgery*. 7ª Ed. Portland. Lippincott Williams & Wilkins.2010.

LEWINGTON S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, for the Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2002; 360: 1903-1913.

LIAUDET L et al. Pathophysiological mechanisms of catecholamine and cocaine-mediated cardiotoxicity. *Heart Failure Review*.v.19, p.815–824.2014.

LOBO-FILHO, H.G. et al. Experimental model of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. V. 26. p. 469-476.2011

LÜSCHER, T.F. Epidemiology of cardiovascular disease: the new ESC Atlas and beyond. *European Heart Journal* v.39, p.489–492.2018.

MACEDO, A. F.; OSHIWA, M.; GUARIDO, C. F. Ocorrência do uso de plantas medicinais por moradores de um bairro do município de marília-SP. **Rev Ciênc Farm Básica Ap**, 28, n. 1, p. 123-128, 2007.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA-JR., V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, pp. 429-438. 2002.

MACKENZIE HS, Brenner BM. Current strategies for retarding progression of renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;31:161-70.

MARCHESI C, Paradis P, Schiffrin EL. Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. *Trends Pharmacol Sci*. 2008;29(7):367-74

MCGRATH, L. T. et al. Oxidative stress in erythrocyte membrane fluidity in patients undergoing regular dialysis. *Clinica Chimica Acta* , v. 235, p. 179-188, 1995

MORENA, M. et al. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis and Transplantation*, v. 17, p. 422-427, 2002

MOROOKA, H. et al. A administração crónica por via oral de Tipo de vasopressina 2 receptor antagonista tolvaptan exerce tanto os efeitos de protecção do miocárdio e renais em ratos com insuficiência cardíaca hipertensa. *Circul. Falha coração*. 5, 484-492 (2012).

QUINTANS-JÚNIOR L.J. et al. α -Terpineol reduces nociceptive behavior in mice, *Pharm. Biol.*, v.49, p. 583-586.2011.

RAHIMI, K. et al. Mortality from heart failure, acute myocardial infarction and other ischaemic heart disease in England and Oxford: a trend study of multiple-cause-coded death certification. *J Epidemiol Community Health*. 69:1000–1005. 2015.

RIELLA, M.C; MARTINS, C. *Nutrição e o Rim*. 2ª edição. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

RONCO, C., Haapio, M., House, A. A., Anavekar, N. & Bellomo, R. síndrome cardio-renal. *Geléia. Colégio Cardiol*. 52, 1527-1539 (2008).

SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia).III Diretriz sobre tratamento do infarto agudo do miocárdio. *Arq. Bras. de Cardiol*. - Volume 83, Suplemento IV, São Paulo. 2004.

SCHEFOLD, Joerg C. *Insuficiência cardíaca e disfunção renal: epidemiologia, mecanismos e gestão*. 1 Departamento de Medicina Intensiva, Inselspital, Hospital

Universitário de Berna, Freiburgstrasse 18, 3010 Bern, Suíça. VOLUME 12. Outubro 2016.

SCHOCKEN, D. D. et al. Prevenção de insuficiência cardíaca: uma declaração científica dos Conselhos American Heart Association sobre Epidemiologia e Prevenção, Cardiologia Clínica, Enfermagem Cardiovascular, e Pesquisa de Alta Pressão Arterial; Qualidade dos Cuidados e Resultados de Pesquisa Interdisciplinar Grupo de Trabalho; e Genômica Funcional e Translational Biologia Interdisciplinar Grupo de Trabalho. *Circulação* 117, 2544-2565 (2008).

SESSO RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Santos DR. Relatório do Censo Brasileiro de Diálise de 2010. *J Bras Nefrol* 2011;33:442-7

SIDDIQUI, M.A et al. Isoprenaline: A tool for inducing myocardial infarction in experimental animal. *International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied Sciences*.v.6, p.1318-1326.2016.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; PETROVICK, P. R. In: **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 2000.

SODRÉ, F.L; BARRETO, J.C; LIMA, J.C. J. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. *Jornal Bras. Patol. Med. Lab.* vol.43 no.5 Rio de Janeiro Sept./Oct. 2007

THYGESEN K., et al..Third universal definition of myocardial infarction. *Journal of the American college of cardiology*. 60 (3), 1-5. 2012.

VAN Riet, E.E. et al. Epidemiologia da insuficiência cardíaca: a prevalência de insuficiência cardíaca e disfunção ventricular em adultos mais velhos ao longo do tempo. Uma revisão sistemática. *EUR. J. coração Fail.* 18, 242-252 (2016).

VAZ I, et al., Improving Spontaneous Reporting of Adverse Drug Reactions: A Trial among Pharmacists, in 8th Annual Meeting of ISoP, I.S.o. Pharmacovigilance, Editor. 2008: Buenos Aires. p. 899-900.

VEIGA Jr, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Quim. Nova**, Vol. 28, No. 3, 519-528, 2005.

WANG, G et al. Terpenoids As Therapeutic Drugs and Pharmaceutical Agents. In: *Natural products: drug discovery and therapeutic medicine*. Human press. Totowa, NJ. p.197-227.2005.

WILLIAMS B. The year in hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(1):66-73.

WINNACKER M. Pínenes: Blocos de Construção Abundantes e Renováveis para uma Variedade de Polímeros Sustentáveis. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2018; 57 : 14362–14371. doi: 10.1002 / anie.201804009

World Health Organization WHO's Human Genetics areas of work. 2018.

YANG, T. Biosynthesis of monoterpene alcohols, derivatives and conjugates in plants. Roles in resistance to western flower thrips. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2013.