

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Cintia Danieli Ferreira da Costa

EFEITO HIPOTENSOR E ANTI-HIPERTENSIVO DO EXTRATO HEXÂNICO DAS  
FOLHAS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* LINN EM RATOS

Maceió - AL

2012

Cintia Danieli Ferreira da Costa

EFEITO HIPOTENSOR E ANTI-HIPERTENSIVO DO EXTRATO HEXÂNICO DAS  
FOLHAS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* LINN EM RATOS

Dissertação apresentada ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde** da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), para obtenção do título de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Área de concentração: DOENÇAS CRÔNICAS.**

Orientadora:

Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Êurica Adélia Nogueira Ribeiro

Maceió - AL

2012

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

**Divisão de Tratamento Técnico**

**Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos**

C837c Costa, Cintia Danieli Ferreira da.  
Efeito hipotensor e anti-hipertensivo do extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* Linn em ratos / Cintia Danieli Ferreira da Costa. – 2012.  
66 f. : il., tab.

Orientador: Êurica Adélia Nogueira Ribeiro.  
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2012.

Bibliografia: f. 53-67.

1. *Anacardium occidentale* - Extrato. 2. Hipotensão. 3. Efeito anti-hipotensivo. 4. Vasorelaxamento. I. Título.

CDU: 615.22:615.322



Universidade Federal de Alagoas  
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Praça Afrânio Jorge, s/n. Prado  
CEP 57.010-020. Maceió-AL  
(82) 3223-5613; 3336-0757  
e-mail: [ppgcs9@gmail.com](mailto:ppgcs9@gmail.com)

Defesa da Dissertação de Mestrado da aluna Cintia Danielli Ferreira da Costa, intitulada: "Efeito hipotensor e anti-hipertensivo do extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* Linn. em ratos", orientada pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Éurica Adélia Nogueira Ribeiro, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em 11 de maio de 2012.

Os membros da Banca Examinadora consideraram a candidata APROVADA.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Emiliano de Oliveira Barreto – (ICBS/UFAL)

Prof. Dr. João Xavier Araújo Júnior - (UFAL)

Prof. Dr. Márcio Viana Roberto dos Santos – (UFS)

*“Muitos propósitos há no coração do homem, mas o que prevalece é o propósito do Senhor”*

*Provérbios 19:21*

*Dedico este trabalho ao meu amor maior, Jesus. Autor da minha felicidade.  
A minha doce mãe, pelo amor, carinho e determinação que me conduziram  
até aqui.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao **Senhor Jesus**, pelo seu bondoso amor que me deu forças e confiança da vitória;

A minha mãe **Rosineide** por seu carinho e por sempre acreditar em mim;

Aos meus irmãos **Daniel e Emanuel** por me ajudarem incansavelmente

A meu Pai **Renaldo** por seu apoio e orgulho me fazendo prosseguir

Ao meu esposo **Cleiton Alves** por seu companheirismo, apoio, paciência e confiança

A minha companheira **Edla Azevedo**, por ter se tornado uma irmã verdadeira, sempre presente e importante em minha vida;

A professora **Êurica Adélia** por ter ensinado os caminhos da ciência com paciência e compreensão, por sua confiança e por ser um exemplo de determinação

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular que contribuíram direta ou indiretamente para realização do trabalho;

Ao Prof. Dr. **João Xavier** pela oportunidade e apoio aos projetos em que estive inserida;

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

**Muito obrigada**

Cintia Danieli Ferreira da Costa  
Abril, 2012.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Foto: A- Arvore, B- Folhas e Flores, e C- Folhas e Frutos de *Anacardium occidentale* L.-----23
- Figura 2-** Representação esquemática referente ao protocolo experimental para avaliação do efeito do EHAO sobre a PAM e FC em ratos normotensos não anestesiados.-----29
- Figura 3-** Representação esquemática do protocolo experimental para verificação da participação do NO sobre a resposta hipotensora do EHAO em ratos não anestesiados.-----30
- Figura 4-** Representação esquemática do protocolo experimental para verificação da participação dos prostanóides, sobre a resposta hipotensora do EHAO em ratos não anestesiados.-----31
- Figura 5-** Representação esquemática do protocolo experimental para verificação da participação dos receptores muscarínicos no efeito do EHAO sobre PAM e FC em ratos não anestesiados.-----31
- Figura 6-** Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação ganglionar no efeito do EHAO sobre PAM e FC em ratos não anestesiados.-----32
- Figura 7-** Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito anti-hipertensivo induzido por EHAO em ratos SHR não anestesiados.-  
-----33
- Figura 8-** Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito do EHAO sobre contração induzida por FEN em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato.-----34
- Figura 9-** Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito do EHAO sobre contração induzida por KCl 80mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato.-----35



## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-</b> Efeitos do EHAO sobre a PAM e FC em ratos Wistar não-anestesiados.-----	36
<b>Gráfico 2-</b> Efeito do L-NAME sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO em ratos Wistar não-anestesiados.-----	37
<b>Gráfico 3-</b> Efeito da indometacina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO em ratos Wistar não-anestesiados.-----	38
<b>Gráfico 4-</b> Efeito da atropina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO em ratos Wistar não-anestesiados.-----	39
<b>Gráfico 5-</b> Efeito do hexametônio sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO em ratos Wistar não-anestesiados.-----	40
<b>Gráfico 6-</b> Efeito anti-hipertensivo do EHAO em ratos Wistar e SHR não-anestesiados.-----	41
<b>Gráfico 7-</b> Efeito do EHAO em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré-contraídos com FEN.-----	42
<b>Gráfico 8-</b> Efeito do EHAO em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré-contraídos com KCl 80 mM.-----	43
<b>Gráfico 9-</b> Efeito do EHAO em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos Wistar pré- contraídos com FEN ou KCl 80mM.-----	44

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1-** Composição da solução nutritiva Tyrode.-----26

**Tabela 2-** Composição da solução despolarizante de Tyrode com cloreto de potássio a 80 mM.-----27

## RESUMO

A hipertensão constitui uma doença crônica de difícil controle caracterizada por baixas taxas de adesão ao tratamento medicamentoso, devido a esta problemática, as plantas medicinais são utilizadas como terapia alternativa no tratamento desta enfermidade. *Anacardium occidentale* Linn (Anacardiaceae), conhecida popularmente como cajueiro, esta presente na relação nacional de plantas de interesse do SUS (RENISUS), é utilizado na medicina popular como antiinflamatório, contra artrites, diabetes. A literatura relata estudos cardiovasculares com extratos desta planta, apresentando potente efeito anti-hipertensivo induzido pelo extrato da casca da madeira, o extrato das folhas do cajueiro também revelou efeito relaxante em anéis de aorta isolada de rato. Diante do exposto, este trabalho objetivou investigar os efeitos cardiovasculares induzidos pelo extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* (EHAO), através de uma abordagem *in vivo* e *in vitro*. O EHAO (0,5; 1; 5, 10, 20 e 30 mg/kg, i.v.) promoveu uma hipotensão (-12,9±1,1; -10,8±1,1; -15,5±1,6; -19,7±3,0; -20,9±2,8 e -17,7±0,9 %, respectivamente) e bradicardia (-7,5±0,7; -4,5±1,0; -9,3±2,5; -16,8±0,8; -31,0±1,3 e -19,9 ± 0,9 %, respectivamente) de maneira não dose dependente em ratos normotensos não anestesiados. Após o bloqueio da síntese do NO com L-NAME e com indometacina, um inibidor da via da ciclooxigenase, a resposta hipotensora foi atenuada, bem como a bradicardia foi praticamente abolida em todas as doses. Semelhantemente, a resposta hipotensora foi atenuada após o tratamento com atropina, bloqueador não seletivo de receptores muscarínicos, e o efeito bradicárdico foi bloqueado havendo reversão na dose de 30 mg/kg. O efeito bradicárdico foi totalmente abolido após o bloqueio dos receptores ganglionares com hexametônio (30 mg/kg; i.v.). Em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato wistar, pré-contraídos com FEN (100 µM), EHAO (1 – 1000 µg/mL) promoveu vasorelaxamento, de maneira dependente de concentração e dependente da presença do endotélio funcional (Em<sub>áx</sub> = 52,56 ± 3,4 %). Semelhantemente, EHAO induziu vasorelaxamento em anéis pré-contraídos com KCl 80 mM de maneira dependente de concentração e dependente da presença do endotélio funcional (Em<sub>áx</sub> = 33,30 ± 3,20 %). EHAO também induziu efeito anti-hipertensivo após a segunda hora da administração de uma única dose intragástrica de 300 mg/kg em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) não anestesiados, Em conclusão, os resultados em conjunto sugerem que EHAO induz efeito hipotensor, bradicárdico e anti-hipertensivo, causado pela redução da resistência vascular periférica, provavelmente através da liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio, o NO e prostanóides, através da ativação direta ou indireta de receptores muscarínicos endotelial, em parte por redução do débito cardíaco. O efeito bradicárdico parece ser devido a uma ativação indireta de receptores muscarínicos cardíacos, via ativação do nervo vago.

**Palavras-Chaves:** *Anacardium occidentale*, Hipotensão, Efeito anti-hipertensivo, Vasorelaxamento.

## ABSTRACT

Hypertension is a chronic disease difficult to control characterized low rate adherence to medication, wherefore, the use of alternative therapies, herbs occurs at a very high rate among patients with cardiovascular disease including hypertension. *Anacardium occidentale* Linn. (Anacardiaceae) popularly known as cashew, is present on the national list of plants of interest to the SUS. It is used in folk medicine as anti-inflammatory against arthritis, diabetes. The literature reports cardiovascular studies with extracts of this plant with potent antihypertensive effect induced by bark extract. *Anacardium occidentale* L leaves extracts exhibited relaxing effect on isolated rat aortic ring preparations. Hence, present study was designed to study the acute cardiovascular effects of the *Anacardium occidentale* L. leaves hexane extract (AOHE) in rats, by *in vivo* and *in vitro* approach. AOHE (0.5; 1; 5; 10; 20 and 30 mg/kg, i.v.) induced hypotensive ( $-12.9 \pm 1.1$ ,  $-10.8 \pm 1.1$ ,  $-15.5 \pm 1.6$ ,  $-19.7 \pm 3.0$ ,  $-20.9 \pm 2.8$  and  $-17.7 \pm 0.9\%$ , respectively) and bradycardic ( $-7.5 \pm 0.7$ ,  $-4.5 \pm 1.0$ ,  $-9.3 \pm 2.5$ ,  $-16.8 \pm 0.8$ ,  $-31.0 \pm 1.3$  and  $-19.9 \pm 0.9\%$ , respectively). This response was changed after preinjection L-NAME, no selective Nitric Oxide (NO) synthase inhibitor, the hypotensive effect was attenuated, as well as, the bradycardia was blocked or reversed. Similarly, a inhibitor of cyclooxygenase (indomethacin, 3 mg/kg, i.v.) produced attenuation of hypotensive action induced by AOHE and abolished or reversed the bradycardia response. Pretreatment with muscarinic antagonist, atropine, reduced the hypotensor effect. Moreover, the depressor effects of extract on heart rates were abolished or reversed (only, 30 mg/kg, i.v.). On the other hand, the administration of ganglionic blocker, hexamethonium, produced significantly change the pressor response AOHE-induced, except in the second, fifth and sixth dose. However, the bradycardic effect was abolished. In the superior mesenteric artery rings isolated from rats pre-contracted with FEN (100  $\mu$ M), EHAO (1 to 1000  $\mu$ g / mL) induced vasorelaxation, concentration dependent manner and dependent on the presence of functional endothelium ( $E_{max} = 52.56 \pm 3.4 \%$ ). Similarly EHAO induced vasorelaxation in rings pre-contracted with 80 mM KCl concentration dependent manner and dependent on the presence of functional endothelium ( $E_{max} = 33.30 \pm 3.20 \%$ ). The administration of a single intragastric dose of 300 mg/kg of AOHE produced antihypertensive activity after the 2h. Our results suggest wick hypotensive, bradycardiac and antihypertensive responses could be mediated by the endothelial and cardiac muscarinic receptors or EDRFs.

**Keywords:** *Anacardium occidentale*, Hypotension, Antihypertensive effect, Vasorelaxation.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> -----	<b>13</b>
<b>1.1 Considerações sobre a Pressão Arterial e Vasorelaxamento</b> -----	<b>13</b>
<b>1.2 Considerações sobre Hipertensão e Ratos Espontaneamente Hipertensos--</b>	<b>16</b>
<b>1.3 Considerações sobre Plantas Medicinais</b> -----	<b>21</b>
<b>1.4 Considerações sobre a família Anacardiaceae e Aspectos Botânicos, Químicos e Etnofarmacológicos de <i>Anacardium occidentale</i></b> -----	<b>22</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> -----	<b>24</b>
<b>2.1 Geral</b> -----	<b>24</b>
<b>2.2 Específicos</b> -----	<b>24</b>
<b>3 MATERIAL</b> -----	<b>25</b>
<b>3.1 Obtenção do extrato hexânico das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.</b> -----	<b>25</b>
<b>3.2 Animais</b> -----	<b>25</b>
<b>3.3 Drogas e Reagentes</b> -----	<b>26</b>
<b>3.4 Soluções Nutritivas</b> -----	<b>26</b>
<b>4 MÉTODO</b> -----	<b>28</b>
<b>4.1 Ensaios Farmacológicos</b> -----	<b>28</b>
<b>4.2 Ensaios Farmacológicos para estudos <i>in vivo</i></b> -----	<b>28</b>
4.2.1 Medida direta da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) em ratos não anestesiados -----	28
4.2.2 Protocolos experimentais para estudos <i>in vivo</i> -----	29
4.2.3 Verificação da participação do NO sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida pela administração de doses crescentes de EHAO em ratos não anestesiados-----	30
4.2.4 Verificação da participação dos derivados prostanóides sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida pela administração de doses crescentes de EHAO em ratos não anestesiados-----	30
4.2.5 Verificação da participação muscarínica na resposta hipotensora e bradicárdica induzida pelo EHAO-----	31
4.2.6 Influência do bloqueio ganglionar sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida pelo EHAO-----	32
4.2.7 Avaliação do efeito anti-hipertensivo induzida pelo EHAO em SHR-----	32

<b>4.3 Ensaaios farmacológicos para estudo <i>In vitro</i></b> .....	<b>33</b>
4.3.1 Preparações com artéria mesentérica superior isolada de rato.....	33
4.3.2 Curva concentração-resposta do EHAO em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato .....	34
4.3.3 Efeito do EHAO sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato.....	35
<b>4.4 Análises Estatísticas</b> .....	<b>36</b>
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>37</b>
<b>5.1 Estudos Farmacológicos com EHAO <i>in vivo</i></b> .....	<b>37</b>
5.1.1 Efeito do EHAO sobre PAM e FC em ratos normotensos não anestesiados---	37
5.1.2 Efeito do L-NAME sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados .....	38
5.1.3 Efeito da indometacina sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados .....	39
5.1.4 Efeito da atropina sobre a resposta hipotensão e bradicárdia induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados .....	40
5.1.5 Efeito do Hexametônio sobre a resposta hipotensora e bradicárdia induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados .....	41
5.1.6 Efeito anti-hipertensivo induzido por EHAO em ratos SHR não anestesiado--	42
<b>5.2 Estudo com anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato</b> .....	<b>43</b>
5.2.1 Efeito do EHAO sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato com e sem o endotélio funcional pré-contraídos com FEN.....	44
5.2.2 Efeito do EHAO sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato com e sem o endotélio funcional pré-contraídos com KCl 80 mM.....	44
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.2 Considerações sobre a Pressão Arterial e Vasorelaxamento

A pressão arterial (PA) pulsátil pode ser representada, matematicamente, através de um valor de PA não pulsátil, a PA média (PAM), a qual pode ser determinada pelo produto de duas variáveis que interagem complexamente: o débito cardíaco (DC) e a resistência vascular periférica total (RVPT). O DC é determinado pelo produto entre o volume de ejeção sistólico (VES) e a frequência cardíaca (FC). Deste modo, a FC participa da homeostase da PAM como um de seus determinantes primários, onde a PAM pode ser expressa pela equação:  $PAM = DC \times RVPT$ , e o DC expresso na seguinte equação:  $DC = VES \times FC$ . A PA pode ser influenciada pela ação de drogas sobre uma ou ambas as variáveis, onde o débito cardíaco pode ser diminuído ao inibir a contratilidade miocárdica ou ao diminuir a pressão de enchimento ventricular, sendo essa última conseguida através de ações sobre o tônus venoso ou sobre o volume sanguíneo, via efeitos renais. A resistência periférica pode ser reduzida por ações sobre o músculo liso, produzindo relaxamento direto dos vasos de resistência, ou ao interferir na atividade de sistemas que produzem constrição dos mesmos vasos, como é o caso do sistema nervoso simpático (HOFFMAN, 2006).

Portanto, os níveis de PA são regulados por meio de alterações na resistência total e no DC através da ação integrada dos sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino. Os mecanismos regulatórios promovem o controle da PA a curto prazo (neurais), expressando-se em segundos a minutos; a médio prazo (hormonais), em minutos e a longo prazo (aldosterona e sistema rim-volume), que pode ser expresso em horas ou dias (CAMPAGNOLE-SANTOS; HAIBARA, 2001).

O controle neural é feito por meio de eferências do sistema nervoso autônomo, atuando sobre o coração e os vasos. Os barorreceptores arteriais, os quimiorreceptores e os receptores cardiopulmonares bem como a resposta sistêmica do sistema nervoso central (SNC) correspondem aos mecanismos neurais. Os barorreceptores, localizados no arco aórtico e no seio carotídeo, quando estimulados por aumento súbito na PA, reduzem o tônus do sistema nervoso simpático (SNS) para os vasos e coração, promovendo redução da PA e FC pelas vias eferentes vagais, por ativação da via parassimpática (GUYTON, 2002; GUYENET, 2006; KAREMAKER; WESSELING, 2008) Os quimiorreceptores são responsáveis pela

regulação local do tônus da musculatura lisa dos vasos, sendo ativados pela redução de  $O_2$  ou excesso de  $CO_2$  e  $H^+$  (CARVALHO; COSTA, 1979; BERNE, 2009).

Os mecanismos hormonais implicam tanto na elevação da PA através do sistema catecolaminérgico (através da adrenalina e da noradrenalina), o sistema renina-angiotensina e o hormônio antidiurético, como na redução da PA através da liberação do peptídeo natriurético atrial e o sistema calicreína-cininas, assim como as substâncias produzidas localmente pelo endotélio (óxido nítrico, endotelinas e prostaglandinas) (EVORA et al., 1995).

A base do controle a longo prazo da PA é o sistema renal e de líquidos corpóreos. A regulação de volume dos líquidos corpóreos (volemia) é efetuada pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, essencial ao equilíbrio hidroeletrólítico do corpo, que em conjunto são responsáveis pela elevação da PA. O rim atua na regulação da PA através da secreção da renina, a qual converte o angiotensinogênio (produzido pelo fígado) em angiotensina I (Ang I), que pela ação da enzima conversora de angiotensina (ECA) é convertida em angiotensina II (Ang II). Este peptídeo atua no sistema cardiovascular promovendo vasoconstrição, aumento da contratilidade cardíaca, hipertrofia cardíaca, nos rins reabsorção tubular de sódio, além de estimular a secreção de aldosterona (RUAN et al, 2010). O equilíbrio dos sistemas vasodilatadores e vasoconstrictores se apresenta decisivo na regulação do tônus vascular, onde a PA elevada é causada por alterações da atividade dos mecanismos vasoativos. Na maioria dos modelos de hipertensão experimental, o aumento da PA é resultado do desequilíbrio entre a hiperatividade simpática e deficiência vasodilatadora, que pode ser visto em modelos de SHR e ratos Dahl e sal-sensíveis (PINTÉROVÁ et al, 2009). O sistema nervoso simpático é um dos maiores sistemas constritores envolvidos na regulação da PA. Este sistema induz contração da musculatura lisa vascular (MLV) por ativar o influxo de  $Ca^{2+}$ , através dos canais para cálcio sensíveis a voltagem ( $Ca_v$ ), aumentando os níveis de cálcio intracelular (PINTÉROVÁ; KUNEŠ; ZICHA, 2011).

Um dos principais determinantes do tônus vascular, a concentração de cálcio intracelular  $[Ca^{2+}]_i$ , é controlada através do potencial de membrana, ao mesmo passo que os níveis de cálcio intracelular também afetam o potencial de membrana, deste modo, o cálcio exerce um controle sobre este, regulado por canais iônicos, trocadores e ATPases dependentes de cálcio (PINTÉROVÁ; KUNEŠ; ZICHA, 2011). Os canais iônicos presentes na membrana plasmática da musculatura lisa vascular (MLV), assim como as células endoteliais



desempenham papel fundamental na manutenção do tônus vascular. Do mesmo modo que os vasoconstritores dependem da elevação da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  para induzir contração da MLV. As células endoteliais promovem relaxamento das células da musculatura lisa vascular (CMLVs) adjacentes por meio do aumento da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ . Portanto, o nível da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  nas células endoteliais e CMLVs é essencial para a precisa regulação de órgãos e tecidos (LEDOUX et al., 2006).

O influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  do meio extracelular se dá através dos canais para cálcio dependente de voltagem do tipo lento (Cav-L), ativado em resposta a uma despolarização de membrana, e dos canais para  $\text{Ca}^{2+}$  operados por receptores, convém resaltar que a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  pelos estoques do retículo sarcoplasmático também são fundamentais para o aumento da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ . O influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  na célula é favorecido pela diferença de gradientes químico dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  (SANDERS, 2001) e a manutenção deste gradiente é realizado pela atuação das  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase da membrana plasmática (PMCA) e do retículo sarcoplasmático (SERCA) e do trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  nas células CMLVs (FLOYD; WRAY, 2007). Além do cálcio, os íons fosfato representam ferramenta universal na transdução de sinal, pois ambos possuem capacidade de alterar os campos eletrostáticos e a conformação protéica (CALPHAM, 2007).

O processo contrátil da CMLVs inicia com o aumento da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  que, assim como o DAG, pode promover a ativação da proteína cinase C (PKC), a qual fosforila proteínas alvo específicas e  $\text{Ca}_V\text{-L}$  (WEBB, 2003). A estimulação da via da fosfolipase C (PLC), após a ativação de receptores de membrana por ligantes específicos, promove subsequentemente hidrólise dos fosfolípidos de membrana 4,5-bisfosfato de inositol ( $\text{PIP}_2$ ) e produção do diacilglicerol (DAG) e 1,4,5-trisfosfato de inositol ( $\text{IP}_3$ ) (CHALMERS et al., 2007). O  $\text{IP}_3$  ativa receptores sensíveis ao  $\text{IP}_3$  ( $\text{IP}_3\text{R}$ ) presentes no retículo sarcoplasmático permitindo a liberação  $\text{Ca}^{2+}$ , que por sua vez ativa os receptores de rianodina, processo esse denominado de liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  induzida por  $\text{Ca}^{2+}$  (CIRC). O  $\text{Ca}^{2+}$  no meio intracelular das CMLVs forma um complexo com a calmodulina,  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina  $[(\text{Ca}^{2+})_4\text{-CAM}]$  (PAULIS et al. 2007). Este complexo promove à ativação da enzima cadeia leve de miosina cinase (MLCK), que promove a fosforilação da cadeia leve da miosina (MLC) permitindo que a miosina interaja com a actina e o trifosfato de adenosina (ATP), resultando na ligação da ponte cruzada da miosina com a actina e conseqüente contração muscular. O relaxamento muscular ocorre quando há redução da  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  interrompendo o complexo  $\text{Ca}^{2+}$  - calmodulina, inativando a MLCK e ativação da fosfatase da cadeia leve de miosina (MLCP) que remove os fosfatos de

alta energia (WEBB, 2003). Portanto, a  $\text{Ca}^{2+}$ -calmodulina e MLCP controlam a atividade da MLCK por meio de fosforilação e desfosforilação da MLC regulando assim o diâmetro dos vasos (HILL et al., 2006).

As células endoteliais promovem regulação do tônus vascular por meio da liberação de fatores relaxantes (FRDE) e contracturantes derivado do endotélio (FCDE), dentre estes fatores incluem espécies reativas de oxigênio, metabólitos do ácido araquidônico (como exemplos: prostaciclina  $\text{PGI}_2$ , ácidos epoxieicosatetraenóicos EETs e derivados da lipoxigenase), fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF) e o óxido nítrico (NO) como fatores relaxantes, e endotelina, tromboxano  $\text{A}_2$  ( $\text{TXA}_2$ ) e prostaglandinas  $\text{F}_2$  como fatores contracturantes (JIN et al., 2010).

O NO ativa diretamente a enzima ciclase de guanilil solúvel nas CMLVs produzindo o nucleotídeo cíclico monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) que induz ativação da proteína cinase dependente de GMPc (PKG), a natureza do EDHF ainda é desconhecida (JIN, 2010). Alguns receptores acoplados a proteína G, quando estimulados ativam a proteína G que estimula a atividade da adenilil ciclase (AC) a produzir o segundo mensageiro monofosfato cíclico de adenosina (AMPc), o qual via ativação da proteína cinase A (PKA) altera a dinâmica do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular e a função contrátil (LUCAS et al., 2000; OSTROM et al., 2002). As proteínas cinase A e G agem através da fosforilação de canais como os canais para  $\text{Ca}^{2+}$ , reduzindo o influxo de  $\text{Ca}^{2+}$ , canais para  $\text{K}^+$ , promovendo hiperpolarização e redução do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  pelos Cav-L; ativação da SERCA e PMCA com aumento conseqüente do seqüestro e extrusão de  $\text{Ca}^{2+}$ , respectivamente; diminuição da mobilização de  $\text{Ca}^{2+}$  através da inibição da formação de IP3 e inibição do IP3R do RS; inibição da MLCK e ativação da MLCP com conseqüente redução da fosforilação da MLC (WALDMAN; MURAD, 1987; LUCAS et al., 2000; SOMLYO; SOMLYO, 2000; MATSUMOTO et al., 2005). As fosfodiesterases (PDEs) inativam os nucleotídeos cíclicos regulando sua atividade (MATSUMOTO; KOBAYASHI; KAMATA, 2003; MAURICE et al., 2003).

### **1.1 Considerações sobre Hipertensão e Ratos Espontaneamente Hipertensos**

A hipertensão é um grave problema de saúde pública, estimativas de prevalência indicam que ela afeta cerca de um milhão de indivíduos, alcançando 7,1 milhões de mortes por ano ao redor do mundo (CHOBANIAN et al., 2003; CHEN, 2007). É uma doença crônica

de difícil controle, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de três quartos dos pacientes hipertensos fazendo tratamento anti-hipertensivo não atingem valores ótimos de pressão arterial (PA) (MELCHIOR, 2010). Uma das principais causas para esta falta de controle é a baixa taxa de adesão aos tratamentos anti-hipertensivos, onde segundo as VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão (2010) a taxa de abandono, grau mais elevado de falta de adesão, é crescente conforme o tempo decorrido após o início da terapêutica resultando em implicações na morbimortalidade. Devido a essa problemática, um número significativo de indivíduos portadores de doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão, faz uso de terapias alternativas como plantas medicinais, fitoterápicos e suplementos (ARA TACHJIAN, 2010).

A elevação duradoura da pressão arterial  $\geq 140/90$  mmHg é definida de modo convencional como hipertensão primária ou essencial sendo considerada uma doença multifatorial, a qual, de acordo com numerosos estudos, resulta da interação de vários genes com fatores ambientais (HOFFMAN, 2006), que além da predisposição genética, também estão associados a uma série de fatores de risco como: obesidade, consumo elevado de álcool e inatividade física (CASTRO; ROLIM; MAURICIO, 2005). A hipertensão pode ser considerada uma verdadeira síndrome quando vem acompanhada de alteração no metabolismo lipídico e glicídico, obesidade e resistência à insulina (CARNEIRO et al., 2003). O estado hipertensivo pode estar associado a complicações, tais como: doença cerebrovascular, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, insuficiência renal crônica e doença vascular que apresentam custos médicos e socioeconômicos elevados (KAPLAN; OPIE, 2006).

A participação de fatores genéticos determinando a elevação da PA tornou possível a seleção de ratos geneticamente hipertensos, entre estes modelos de ratos, podemos citar os ratos espontaneamente hipertensos (SHR) desenvolvidos por Okamoto e Aoki (OKAMOTO; AOKI, 1963) e seus respectivos controles Wistar Kyoto (WKY). Este modelo de hipertensão apresenta importância devido à similaridade da sua fisiopatogenia com a hipertensão essencial do homem, ambas têm origem poligênica, não expressam certos mecanismos pressores e são influenciadas por fatores ambientais; sendo o controle cardiocirculatório multifatorial. A hipertensão do SHR adulto está associada a um aumento da resistência periférica total e um débito cardíaco normal ou diminuído (FAZAN; SILVA; SALGADO, 2001).

Estudos com SHR revelam que o aumento da resistência periférica total esta associada à redução da distensibilidade e complacência vascular nos animais jovens como resultado de uma hipertrofia da camada média, em vez de alterações intrínsecas das propriedades elásticas dos vasos (VAN GORP et al., 2000). Na literatura há diversos relatos de hiperatividade simpática no modelo SHR, porém, acredita-se que outros mecanismos além do simpático tenham participação na manutenção da hipertensão arterial de SHR jovens e velhos (FAZAN; SILVA; SALGADO, 2001).

A hipertensão essencial do homem também está associada com anomalias estruturais no sistema cardiovascular (FOLKOW, 1987), as quais incluem aumento na relação parede *versus* luz das artérias, aumento na resistência periférica, diminuição da complacência venosa (TAKESHITA; MARK, 1979), aumento da quantidade da massa cardíaca e muscular vascular lisa (FOLKOW, 1982), além de anomalias intrínsecas na função renal (COLEMAM *et al.*, 1975).

O aumento da resistência periférica é o fator mais importante na hipertensão essencial, o qual ocorre devido a uma redução do calibre das arteríolas como resultado de alterações na contração da musculatura lisa vascular que regula a luz do vaso ou na espessura da mesma. A variação do tônus vascular pode ser determinada pela atividade simpática, além disso, há evidências de que diferentes hormônios pressores como angiotensina II, noradrenalina, vasopressina e insulina contribuem para o estímulo do crescimento da parede vascular, enquanto as substâncias vasodilatadoras têm efeito oposto, inibindo a proliferação celular, sendo assim, o desequilíbrio dos fatores vasoconstritores e vasodilatadores pode resultar em hipertensão (KRIEGER; IRIGOYEN; KRIEGER, 1999).

### **1.3 Considerações sobre Plantas Medicinais**

O uso de plantas medicinais persiste até os dias atuais, apresentando um lugar de destaque no arsenal terapêutico contra diversas enfermidades. Em muitas comunidades e grupos étnicos as plantas constituem o único recurso disponível para o tratamento de doenças (MACIEL et al., 2002; MACEDO et al., 2007). Estima-se que 85% da população em países desenvolvidos utilizam da medicina popular, embora esta prática seja muitas vezes baseada no empirismo (SIMÕES et al., 2000).

Tal valorização das plantas medicinais impulsionou a busca de informações comprovadas cientificamente sobre sua segurança e eficácia terapêutica (SIMÕES et al., 2000), constituindo uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, os quais podem contribuir como modelo para a síntese de um grande número de fármacos (PINTO et al., 2002). Estima-se, que só na década passada cerca de 500.000 produtos naturais foram provenientes de plantas (DEMAIN, 2000). Esses produtos ainda apresentam uma gama de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (PINTO et al., 2002).

As plantas medicinais tem sido alvo de diversas pesquisas devido à elevada biodiversidade e à riqueza de suas moléculas (HARVEY, 2000; HARVEY, 2007). Somente no início do século XIX, com o desenvolvimento da química farmacêutica, tais plantas passaram a representar a primeira fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos (COELHO; DALBELO; LOLIS, 2005). Na década de 80, foram identificados 121 compostos de origem vegetal provenientes de 95 espécies de plantas, os quais têm sido usualmente empregados como agentes terapêuticos nos países ocidentais (RATES, 2001).

O estudo das espécies vegetais passou a ser sistemático a fim de fornecer o substrato científico para o uso das plantas medicinais na terapêutica, utilizando para isto uma base racional com o objetivo de extrair, isolar e identificar as substâncias cujas propriedades farmacológicas são, em última análise, responsáveis pelas propriedades curativas atribuídas à planta como um todo. Além disso, serviu para enriquecer consideravelmente o arsenal terapêutico disponível, que ainda hoje é composto de muitos produtos de origem natural, grande número deles desenvolvidos através de síntese orgânica tendo como protótipo uma substância de ocorrência natural (ELIZABETSKY, 2001).

O conhecimento popular desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo, botânica, farmacologia e fitoquímica (MACIEL et al., 2002). Uma das estratégias utilizadas para a investigação de plantas medicinais é a abordagem etnofarmacológica, a qual consiste em realizar uma combinação de informações adquiridas junto a comunidades que detêm conhecimentos acerca da utilização de plantas medicinais com estudos químicos e farmacológicos realizados em laboratório, o que permite a elucidação química de substâncias ativas e dos respectivos mecanismos envolvidos na atividade farmacológica (ELIZABETSKY; SOUZA, 2004).

Dentre as doenças que afetam a população, aquelas que acometem o sistema cardiovascular, tais como: doenças coronarianas, cerebrovasculares, isquêmicas do coração, angina e hipertensão apresentam grande importância em estudos etnofarmacológicos, os quais têm como finalidade a ampliação do arsenal terapêutico e a redução do grau de morbimortalidade destas enfermidades (MARTINS et al., 1993).

Alguns dos medicamentos populares que atuam no sistema cardiovascular, envolvem o uso de extrato de plantas que podem conter uma extensa diversidade de moléculas produzindo efeitos biológicos através de múltiplos mecanismos, devido a este fato, inúmeras pesquisas utilizando extrato de plantas são realizadas a fim de se investigar os mecanismos envolvidos nestes efeitos. Neste contexto, podemos citar exemplos como o extrato aquoso do fruto de *Berberis vulgaris* que revelou potencial uso no tratamento de hipertensão, taquicardia e algumas desordens neurais, como epilepsia e convulsões por ativar canais para potássio ( $K_c$ ) (FATEHI et al., 2005). O extrato etanólico da raiz de *Saururus chinensis* que apresentou efeito inotrópico negativo, vasorelaxante e anti-hipertensivo em ratos mediada pela liberação de NO e ativação de canais para potássio sensíveis ao  $Ca^{2+}$  ( $K_{ca}$ ) (RYU, 2008). Como este último, diversos extratos de plantas induzem efeito anti-hipertensivo, através da redução da resistência vascular mediada pela liberação de fatores derivados do endotélio, como o extrato aquoso das folhas ou das raízes de *Eucommia ulmoides Oliv.* (KWAN, 2004).

É importante mencionar também os efeitos benéficos dos extratos de *Digitalis purpurea* e *D. lanata* que levaram à descoberta de poderosos glicosídeos cardíacos ou cardiotônicos, incluindo a digoxina, a digitoxina e o deslanosídeo, que apresentam potente e seletiva ação sobre o músculo cardíaco (CLARK, 1996). Convém mencionar, a quinidina, isolada da casca da *Cinchona* spp., que constitui um agente contra arritmia. Outro alcalóide que merece ser destacado é a reserpina, isolada de *Rauwolfia* spp., sendo um dos mais poderosos anti-hipertensivo conhecidos. Há também inúmeros flavonóides que possuem relevantes ações biológicas as quais previnem os acidentes vasculares, e muitos destes compostos são utilizados pelas indústrias farmacêuticas na preparação de agentes vasodilatadores, como a diosmina, a rutina e outros citro-flavonóides (DILLARD; GERMAN, 2000).

Portanto, um conhecimento mais aprofundado das plantas medicinais, desenvolvido através de estudos integrados nas áreas de botânica sistemática, química e farmacologia de produtos naturais, ao lado de outras ciências correlatas mais especializadas, se fazem

necessário, pois além de contribuir para o desenvolvimento de futuros agentes terapêuticos, o estudo do mecanismo de ação de plantas medicinais também é fundamental para facilitar a prática clínica aumentando notavelmente a habilidade para prever efeitos adversos e interações entre os medicamentos, (MCNEILL; JURGENS, 2006).

#### **1.4 Considerações sobre a família Anacardiaceae e Aspectos Botânicos, Químicos e Etnofarmacológicos de *Anacardium occidentale***

A família Anacardiaceae, inclui árvores e arbustos e ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais, que compreende cerca de 60 a 70 gêneros e 400 a 600 espécies, das 21 espécies de cajueiro identificadas, apenas três não são encontradas no Brasil. Uma é encontrada na Malásia e as outras duas na Amazônia venezuelana e colombiana (BARROS, 2002).

Os membros desta família são conhecidos por causar alergia de contato devido à presença de compostos fenólicos na resina. Esta característica originou alguns nomes comuns de plantas, entre outros, veneno de carvalho (*carvalho venenosas*), hera venenosa (*hera venenosa*), ovos inchados e as mulheres más. Outros membros da família são de importância econômica devido a seus frutos comestíveis, é o caso da manga (*Mangifera indica*), pistache (*Pistacia vera*) e castanha de caju ou nozes de caju (*Anacardium occidentale*) (JUDD et al., 2002).

As plantas desta família são empregadas popularmente para o tratamento das mais diversas doenças, algumas destas apresentam seus efeitos comprovados em ensaios biológicos: *Sclerocarya birrea* apresentou efeito antimicrobiano em estudos *in vitro* (NJUME; AFOLAYAN; NDIP, 2011); uma substância isolada de *Schinus terebinthifolius* Raddi,  $\alpha$ -Pinene, promoveu proteção anti-metástase em modelo de melanoma (MATSUO et al., 2011); o extrato de metanólico de *Rhus coriaria* L produziu atividade antioxidante (CANDAN, 2003). Também foi relatado na literatura o efeito hipoglicemiante e anti-inflamatório induzido por *Semecarpus anacardium* (JAYA; SHANTHI; SACHDANADAM, 2010; RAMPRASATH; SHANTHI; SACHDANANDAM, 2004).

A planta *Anacardium occidentale* Linn., pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como cajueiro, nativa da América tropical, é originária do Brasil, sendo amplamente cultivada em áreas tropicais e subtropicais, na África, América do Sul e

Índia, sendo especialmente encontrada nas regiões Norte e Nordeste brasileiro (CRISÓSTOMO et al., 2002). É uma árvore frutífera, pode ser classificada em dois tipos bem definidos em relação ao porte, denominados de cajueiros tipos comum e anão precoce.

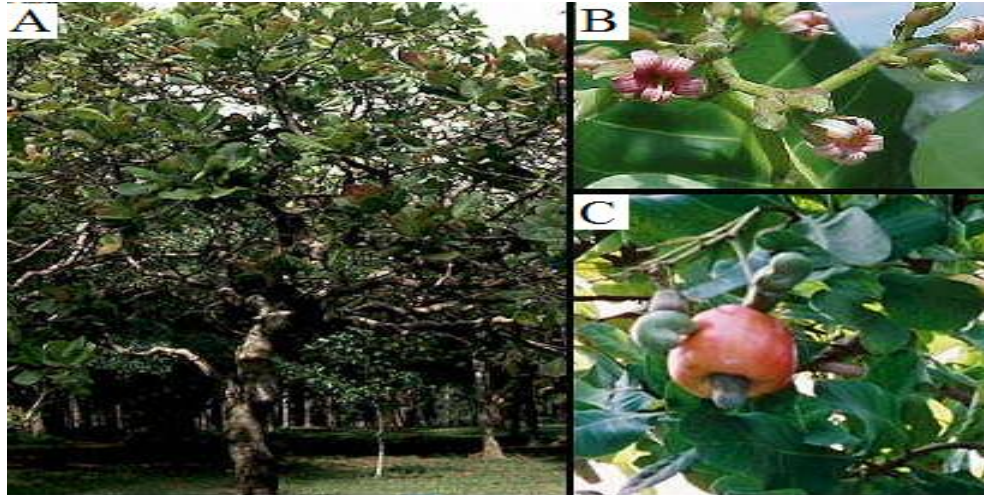
O cajueiro comum é o mais difundido, apresenta porte elevado com altura variando de 8 m a 15 m e envergadura da copa que chega a atingir 20 m. Apresenta grande variação na distribuição de ramos e formatos de copa, que vai desde ereta e compacta até esparramada (Figura 1). A capacidade produtiva individual do cajueiro comum é muito variável, com plantas que produzem menos de 1 kg até mais de 100 kg de castanha por safra (BARROS, 2002).

Melo (2002) estudando a espécie *A. occidentale* L., relatou a presença de onze classes de metabólitos secundários diferentes, totalizando 101 compostos isolados nesta espécie. Oliveira e colaboradores (2008) utilizando testes fitoquímicos com 4 clones de pedúnculos revelou resultados positivos para a presença de polifenóis como taninos, antocianinas, flavonóides, flavonóis, flavovononas, flavononóis, xantonas e triterpenóides.

O cajueiro está incluso na relação de plantas medicinais de interesse do SUS (RENISUS) (BRASIL, 2009) e é utilizado na medicina popular, principalmente no Nordeste brasileiro com efeitos terapêuticos como: antiinflamatório, contra bronquites, artrites, cólicas intestinais, icterícia, diabetes, asma e até mesmo usado como afrodisíaco (SILVA et al., 2007; MUKHOPADHYAY et al., 2010). Em estudos científicos apresentou atividade antiinflamatória (OLAJIDE et al., 2004), atividade antígenotóxica (BARCELOS et al., 2007), antiulcerogênica (KONAN; BACCHI, 2007), antioxidante (SINGH et al., 2004), atividade hipoglicemiante (OJEWOLE, 2003), atividade antimicrobiana (SILVA et al., 2007), atividade larvicida (MUKHOPADHYAY et al., 2010) e inibidor da enzima acetilcolinesterase (BARBOSA-FILHO et al., 2006).



**Figura1:** Foto: A- Árvore, B- Folhas e Flores, e C- Folhas e Frutos de *Anacardium occidentale* L., Cajueiro.



Fonte:<http://www.arbolesornamentales.es/>

Estudos de toxicidade com o extrato hexânico de *Anacardium occidentale* revelaram que a administração de doses menores que 6 g/kg não eram tóxicas, apresentando uma DL<sub>50</sub> de 16 g/kg, concluindo que o extrato só apresentaria efeito tóxico em doses altas não usuais (TÉDONGA et al., 2007).

Pesquisas conduzidas com o extrato da casca da madeira de *Anacardium occidentale* (THULLIER et al., 1975) revelaram um potente efeito anti-hipertensivo que resultou na publicação do processo para obtenção de constituintes anti-hipertensivos isolados da planta. Runnie e colaboradores (2004) estudando o extrato das folhas do cajueiro em uma abordagem *in vitro*, relataram um efeito relaxante dependente de endotélio em anéis de aorta isolada de rato.

Visto que *Anacardium occidentale* esta presente na relação nacional de plantas de interesse do SUS, além da semelhança entre os constituintes químicos presentes nas folhas e nas cascas do cajueiro; esteróides, flavonóides, catequinas, fenóis, taninos, saponinas (FUJITA, 2008), conduzimos esta pesquisa a fim de investigar os efeitos do extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* sobre o sistema cardiovascular através de uma abordagem *in vivo e in vitro*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar os efeitos cardiovasculares induzidos pelo extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* Linn (EHAO) através de uma abordagem *in vivo* e *in vitro*.

### 2.2 Específicos

- Testes *in vivo*

- Caracterizar o efeito agudo a partir da administração intravenosa (i.v.) de EHAO sobre a pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos Wistar não-anestesiados;
- Investigar os possíveis mecanismos de ação implicados nos efeitos *in vivo* induzidos por EHAO em ratos Wistar não-anestesiados através do uso de ferramentas farmacológicas específicas;
- Caracterizar a atividade anti-hipertensiva a partir do efeito subcrônico da administração oral do EHAO sobre a PA e FC em ratos SHR.

- Testes *in vitro*

- Avaliar o efeito de EHAO sobre artéria mesentérica superior isolada de rato wistar, com ênfase para a avaliação do papel do endotélio.

### 3 MATERIAL

#### 3.1 Obtenção do extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* L.

As folhas de *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) foram coletadas em Junho de 2011, na Universidade Federal de Alagoas, e identificadas pela Profa. Flávia de Barros Prado Moura e depositados no Museu de História Natural de Alagoas, sob N° de registro 4081.

Após a coleta, 1 kg das folhas foi seco à sombra, o resultado foi 450 g de folhas secas. Tal material foi pulverizado e submetido à extração por maceração com hexano durante três ciclos de 48 horas cada. O extrato foi, então, seco sob pressão reduzida em evaporador rotatório, o que resultou em 4,5 g de extrato hexânico seco. O extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* foi cedido pelo prof. Dr João Xavier de Araújo Junior da Escola de Enfermagem e Farmácia (Esenfar), Universidade Federal de Alagoas.

#### 3.2 Avaliação da Atividade Farmacológica

##### 3.2.1 Animais

Foram utilizados ratos machos espontaneamente hipertensos nos experimentos de caracterização de atividade anti-hipertensiva. Os respectivos controles (ratos Wistar normotensos - RN) foram utilizados nos experimentos de caracterização do efeito agudo do extrato na abordagem *in vivo* e em todos os experimentos *in vitro*.

Todos os animais pesando entre 250 e 350 g foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal da UFAL. Estes animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e ciclo claro-escuro de 12 horas (6-18 horas), tendo livre acesso à alimentação e água. Todos os animais utilizados neste trabalho foram manipulados de acordo com normas estabelecidas pela Comissão de Ética da UFAL (MEZADRI et al., 2004). Todos os experimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFAL (CEP), certidão número 0106/08.

### 3.2.2 Drogas e Reagentes

Para a realização dos experimentos, foram utilizadas as seguintes ferramentas farmacológicas: tiopental sódico (Cristália), sal sódico de heparina (Roche), cloridrato de acetilcolina (ACh), cloridrato de L (-) fenilefrina (FEN), sulfato de atropina, nitroprussiato de sódio (NPS), N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina-metil éster (L-NAME), hexametônio, indometacina (todas da sigma). As soluções estoques de indometacina foram dissolvidas juntamente com bicarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) em água destilada. As demais substâncias foram dissolvidas em água destilada. Todas as substâncias foram diluídas em água destilada (experimentos *in vitro*) ou salina (experimentos *in vivo*), para concentrações desejadas.

### 3.2.3 Soluções Nutritivas

Todas as soluções eram aeradas com mistura carbogênica (95 % O<sub>2</sub> e 5 % CO<sub>2</sub>) e mantidas a 37 °C. As soluções nutritivas foram:

**Tabela 1: Composição da solução de Tyrode.**

Substância	Concentração (mM)
NaCl	158,3
NaHCO <sub>3</sub>	10,0
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,42
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2,0
KCl	4,0
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,05
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	5,6

Fonte: Autora, 2012.

**Tabela 2: Composição da solução despolarizante de Tyrode com cloreto de potássio a 80 mM.**

<b>Substância</b>	<b>Concentração (mM)</b>
<b>NaCl</b>	78,3
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	10,0
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	0,42
<b>CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	2,0
<b>KCl</b>	80,0
<b>MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	1,05
<b>C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O</b>	5,6

Fonte: Autora, 2012.

## 4 MÉTODO

### 4.1 Ensaios Farmacológicos

Foram utilizadas duas diferentes formas de abordagens: uma com ensaios farmacológicos *in vivo*, utilizando animais íntegros, e outra com ensaios farmacológicos *in vitro*, utilizando artéria mesentérica superior isolada.

### 4.2 Ensaios Farmacológicos para Estudos *in vivo*

#### 4.2.2 Medida direta da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) em ratos não anestesiados

Ratos foram anestesiados com tiopental sódico (45 mg/kg, i.p.), e cateteres de polietileno (PE), um segmento de PE-10 (diâmetro interno e externo de 0,28 e 0,61 mm, respectivamente), soldado a um segmento de PE-50 (diâmetro interno e externo de 0,58 e 0,96 mm, respectivamente), preenchidos com solução salina heparinizada (1: 20 v/v), foram implantados na aorta abdominal e na veia cava inferior, via artéria e veia femoral esquerdas, respectivamente. Após a inserção e fixação, os cateteres foram tunelizados subcutaneamente e exteriorizados através de uma incisão na região cervical posterior do animal (*scapulae*). Para o protocolo de caracterização do efeito anti-hipertensivo o cateter foi implantado, seguindo o mesmo método, apenas na aorta abdominal, via artéria femoral esquerda.

A PA e FC foram medidas 24h após o procedimento cirúrgico pela conexão do cateter arterial a um transdutor de pressão (BLPR, AECAD, Brasil) pré-calibrado acoplado a um amplificador (Modelo 04P, AECAD, Brasil) e conectado a um micro-computador equipado com placa conversora analógico-digital usando um software AQCAD (AVS Projetos, SP, Brasil). A frequência escolhida para amostragem dos dados foi de 500 Hz. Para cada ciclo cardíaco, o computador calculará pressão arterial sistólica, diastólica e média, e o intervalo de pulso (referido como frequência cardíaca). O cateter venoso foi implantado para a administração das drogas. Após os experimentos os animais foram eutanasiados com tiopental sódico (i.v.).

#### 4.2.3 Protocolos experimentais para os estudos *in vivo*

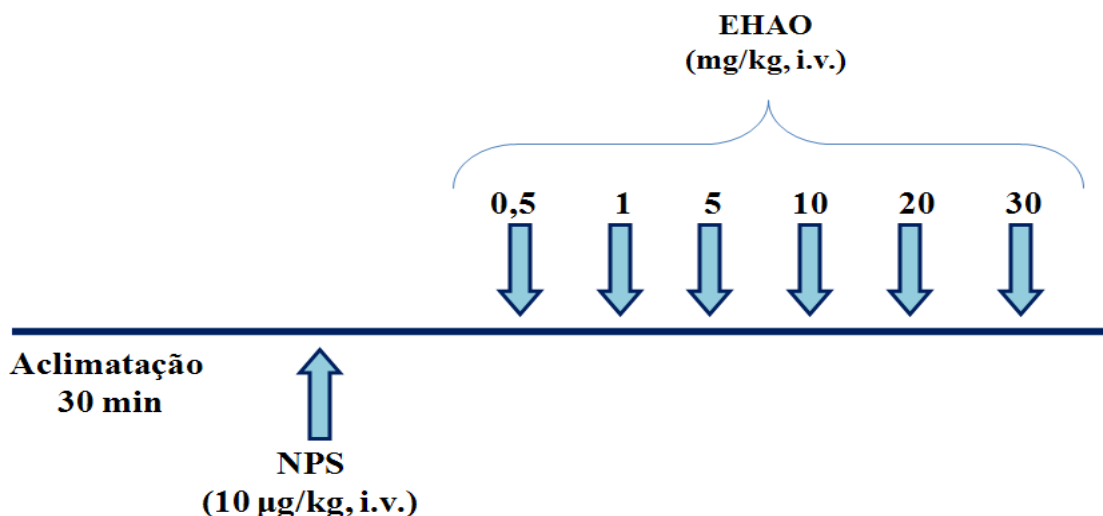
Em todos os experimentos optamos por utilizar o extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale*, após triagem em nosso laboratório, por apresentar maior solubilidade em solução aquosa. Para obtenção de uma curva dose-resposta, os animais foram mantidos em aclimatação por um período de no mínimo 30 min., para estabilização dos parâmetros cardiovasculares, e em seguida foi administrado nitroprussiato de sódio (10 µg/kg, i.v.) para verificar a eficácia da implantação do cateter venoso. Após 15 min., doses crescentes do EHAO (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg) foram administradas de forma randômica pela via endovenosa *in bolus* com intervalos de tempo suficiente para que os parâmetros cardiovasculares retornem aos seus valores da linha de base (Figura 2).

Os valores de PAM e FC foram expressos em porcentagem, computados antes (valores da linha de base) e imediatamente após a administração das substâncias, calculadas através das fórmulas (equação 1 e 2).

$$1) \text{ Valores de PAM (\%)} = \frac{(\text{PAM após} - \text{PAM antes}) \times 100}{\text{PAM antes}}$$

$$2) \text{ Valores de FC (\%)} = \frac{(\text{FC após} - \text{FC antes}) \times 100}{\text{FC antes}}$$

**Figura 2: Representação esquemática referente ao protocolo experimental para avaliação do efeito do EHAO sobre a PAM e FC em ratos normotensos não anestesiados.**

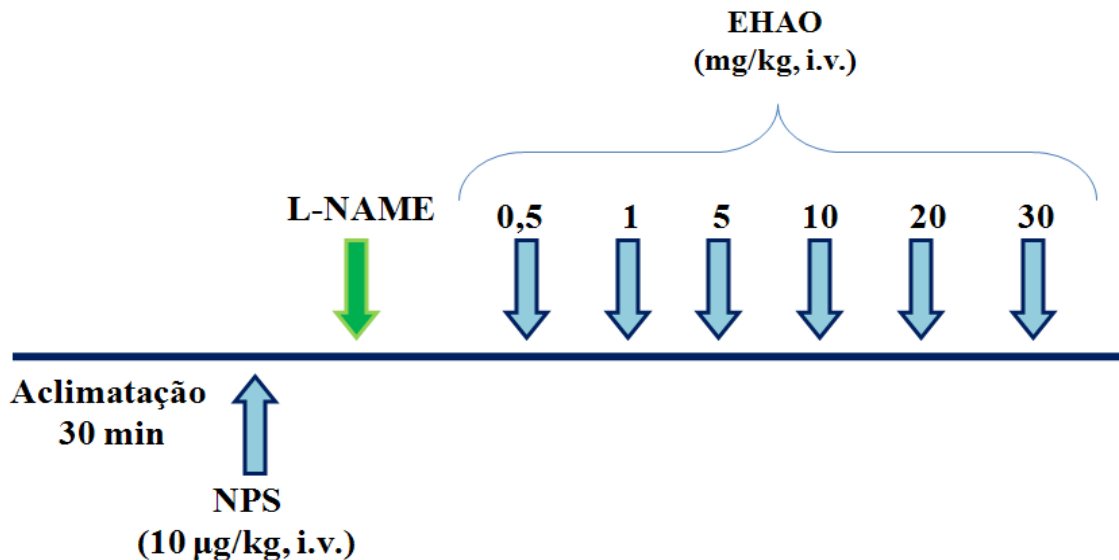


Fonte: Autora, 2012.

#### 4.2.3 Verificação da participação do NO sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida pela administração de doses crescentes de EHAO em ratos não anestesiados

Após um registro controle como descrito no item 4.2.3, os animais foram pré-tratados com um inibidor competitivo da NO-sintase (L-NAME 20 mg/kg, i.v.) (REES et al., 1990) e cerca de 30 minutos após, diferentes doses de EHAO (0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 20,0; e 30,0 mg/kg, i.v.) foram novamente administradas (Figura 3). Mudanças na PAM e na FC induzidas por EHAO foram comparadas antes (valores basais) e após o tratamento com L-NAME.

**Figura 3: Representação esquemática do protocolo experimental para verificação da participação do NO sobre a resposta hipotensora do EHAO em ratos não anestesiados.**



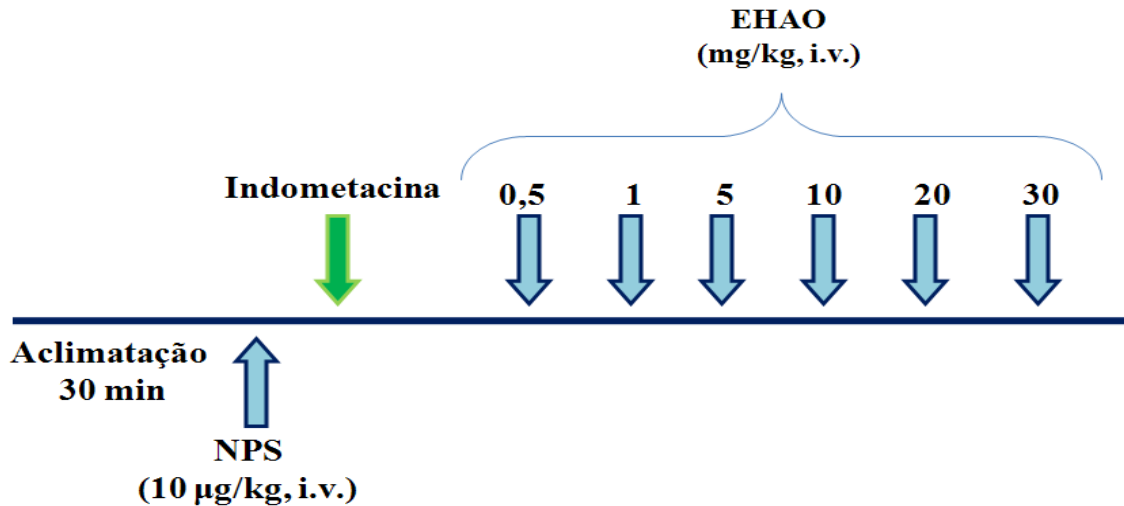
Fonte: Autora, 2012.

#### 4.2.4 Verificação da participação dos derivados prostanóides sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida pela administração de doses crescentes de EHAO em ratos não anestesiados

Após um registro controle como descrito no item 4.2.3, os animais foram pré-tratados com um inibidor da COX (indometacina 3 mg/kg, i.v.) (CLARK; FUCHS, 1997) e após cerca de 30 minutos, diferentes doses de EHAO (0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 20,0; e 30,0 mg/kg, i.v.) foram novamente administradas (Figura 4). Mudanças na PAM e na FC induzidas por EHAO foram comparadas antes (valores basais) e após o tratamento com indometacina.



**Figura 4 - Representação esquemática do protocolo experimental para verificação da participação dos prostanóides, sobre a resposta hipotensora do EHAO em ratos não anestesiados.**

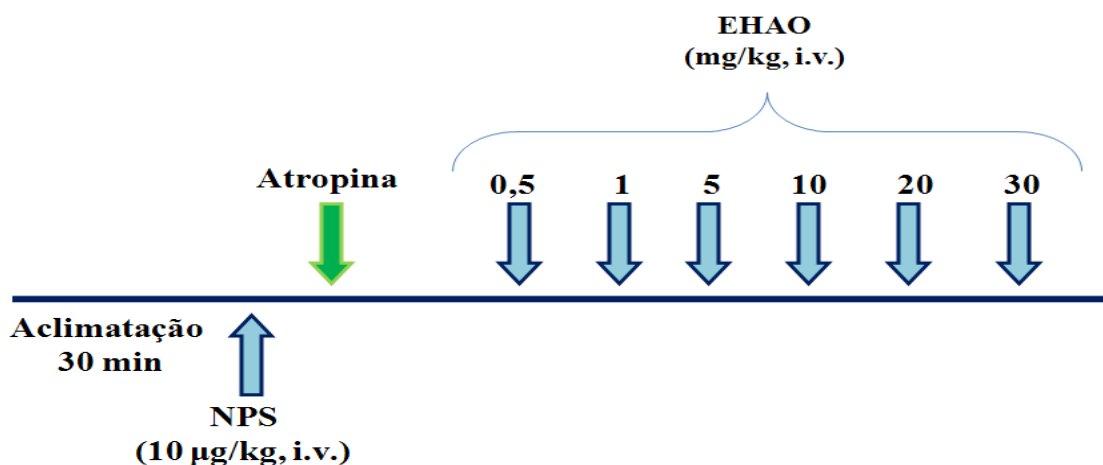


Fonte: Autora, 2012.

#### 4.2.5 Verificação da participação muscarínica na resposta hipotensora e bradicárdica induzida pelo EHAO

Esta mesma curva foi obtida na presença de atropina (2 mg/kg, i.v.), um antagonista muscarínico não-seletivo (MITCHELSON, 1984). Após 20 min, um novo registro foi obtido com EHAO (Figura 5). Mudanças na PAM e na FC induzidas por EHAO foram comparadas antes (valores basais) e após o tratamento com atropina.

**Figura 5 - Representação esquemática do protocolo experimental para verificação da participação dos receptores muscarínicos no efeito do EHAO sobre PAM e FC em ratos não anestesiados.**

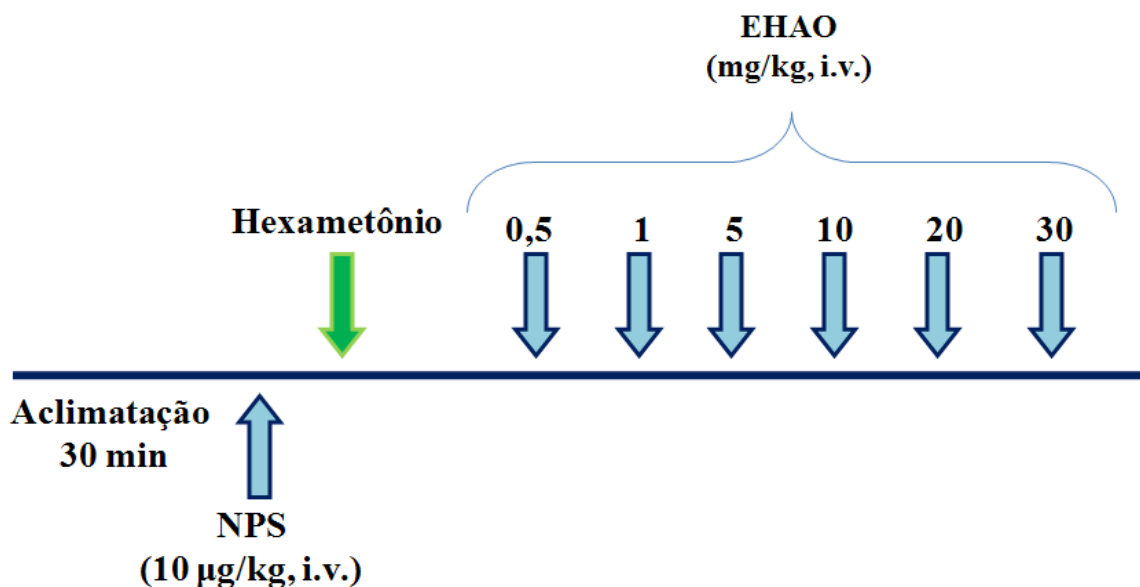


Fonte: Autora, 2012.

#### 4.2.6 Influência do bloqueio ganglionar sobre a resposta hipotensora e bradicárdica induzida pelo EHAO

Esta mesma curva foi obtida na presença de hexametônio, um antagonista dos receptores nicotínicos (30 mg/kg, i.v.) (TAKAHASHI; OWYANG, 1997). Após 20 min, um novo registro foi obtido com EHAO (Figura 6). Mudanças na PAM e na FC induzidas por EHAO foram comparadas antes (valores basais) e após o tratamento com hexametônio.

**Figura 6- Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação da participação ganglionar no efeito do EHAO sobre PAM e FC em ratos não anestesiados.**



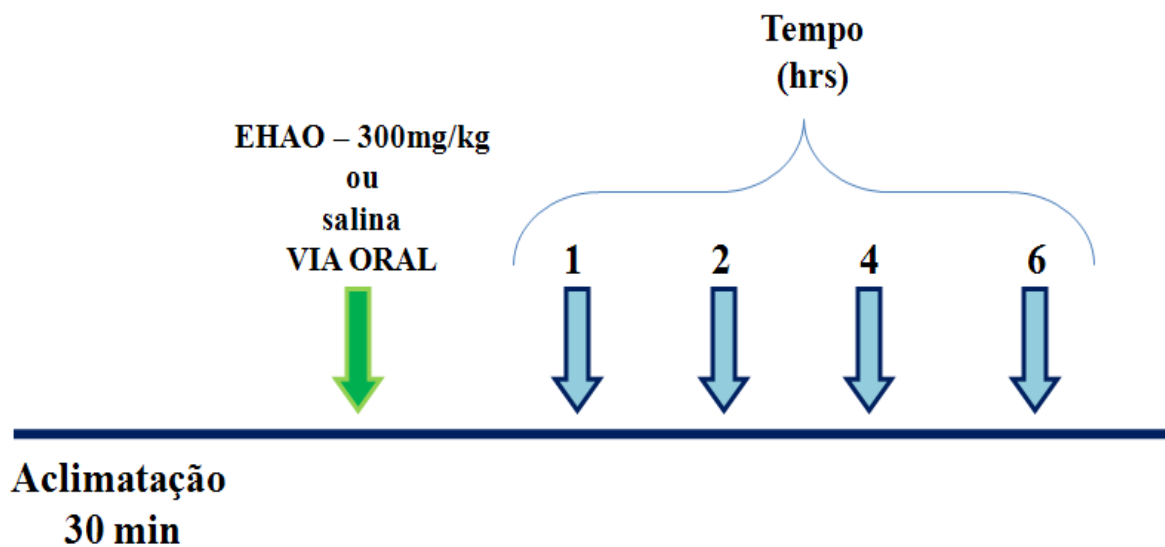
Fonte: Autora, 2012.

#### 4.2.7 Avaliação do efeito anti-hipertensivo induzida pelo EHAO em SHR

A avaliação da atividade anti-hipertensiva do EHAO foi conduzida em ratos SHR. Os valores de PA e FC foram registrados através do método de medida direta da pressão arterial descrita anteriormente. Os animais foram divididos em dois grupos de oito animais cada, grupo controle, o qual foi administrado salina por via oral e o grupo tratado, que recebeu uma única dose de 300 mg/kg do EHAO via oral. A dose utilizada neste protocolo não ultrapassa o limite de dose não tóxica de 14g/kg. Os valores de PA e FC foram registrados antes e após o tratamento (em 0, 1, 2, 4 e 6 horas após administração) (Figura 7). A porcentagem de redução

de PA e FC foram calculadas considerando os valores antes do tratamento como 100% de atividade (Vergara-Galicia et al., 2008).

**Figura 7- Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito anti-hipertensivo induzido por EHAO em ratos SHR não anestesiados.**



Fonte: Autora, 2012.

### 4.3 Ensaios farmacológicos para estudo *In vitro*

#### 4.3.1 Preparações com artéria mesentérica superior isolada de rato

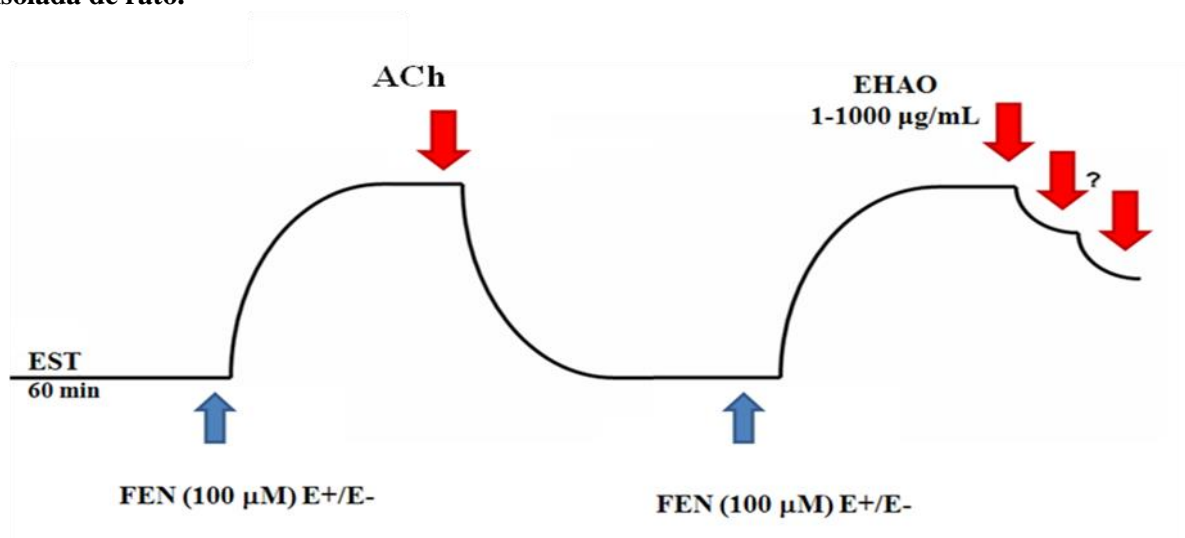
Os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical (MEZADRI et al., 2004). Em seguida, através de uma incisão no abdômen do animal, foi retirada a artéria mesentérica superior. Anéis do primeiro segmento da artéria (1 - 2 mm) foram obtidos livres de tecido conectivo e adiposo, e foram mantidos em cubas contendo 10 mL de solução nutritiva de Krebs a 37° C e gaseificada com uma mistura carbogênica (95 % de O<sub>2</sub> e 5 % de CO<sub>2</sub>). Os anéis foram suspensos por linhas de algodão fixadas a um transdutor de força (Dataq, Brasil) acoplado a um sistema de aquisição de dados (Dataq, Brasil) para o registro das contrações isométricas. Cada anel será submetido a uma tensão constante de 0,5g por um período de no mínimo 60 min. Durante este tempo, a solução nutritiva será trocada a cada 15 min. para prevenir a interferência de metabólitos (ALTURA; ALTURA, 1970).

Anéis sem endotélio funcional foram obtidos mecanicamente através do atrito entre as paredes internas do vaso. A presença ou ausência do endotélio funcional foi verificada pela habilidade, medida em percentagem (%), da ACh (10  $\mu$ M) em relaxar os anéis pré-contraídos com 100  $\mu$ M de FEN. Serão considerados com endotélio funcional, os anéis que apresentarem relaxamentos superiores a 70% sobre a pré-contracção com FEN. Já os anéis com relaxamentos inferiores a 10%, serão considerados sem endotélio funcional (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980). Anéis com relaxamentos entre 10 e 70% serão descartados.

#### 4.3.2 Curva concentração-resposta do EHAO em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato

Após o período de estabilização de 60 min e posterior verificação do endotélio funcional, como descrito no item 4.2.2, foi induzida uma contração com FEN (100  $\mu$ M) (aproximadamente 40 minutos) e concentrações crescentes do EHAO (1 – 1000  $\mu$ g/mL), foram adicionadas às cubas de maneira cumulativa, para obtenção de uma curva concentração-resposta na presença ou ausência do endotélio vascular (Figura 8). O relaxamento foi expresso como a percentagem reversa da contração produzida pelo FEN na presença ou na ausência do endotélio vascular. A eficácia do efeito vasorelaxante do EHAO foi avaliada através dos valores do  $E_{m\acute{a}x}$ .

**Figura 8:** Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito do EHAO sobre contração induzida por FEN em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato.

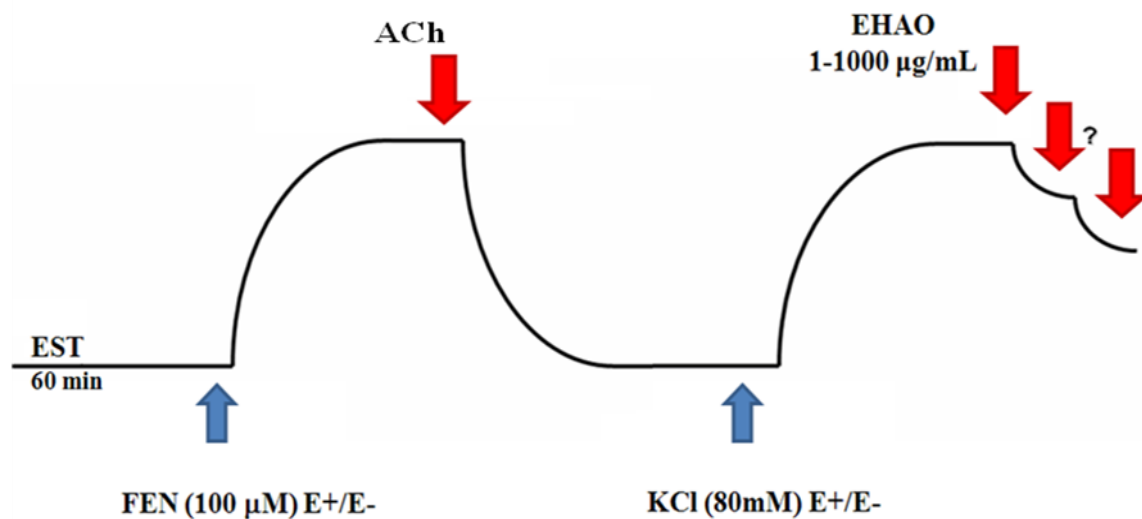


Fonte: Autora, 2012.

### 4.3.3 Efeito do EHAO sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato.

Após a verificação da ausência do endotélio funcional, como descrito no item 4.2.2, o meio nutritivo de cada preparação foi trocado por uma solução com elevada concentração de  $K^+$  (KCl 80 mM). Este processo foi então repetido com o objetivo de se obter duas concentrações com magnitude similar para o KCl 80mM. No componente tônico e sustentado da segunda contração, com o tempo médio de 30 minutos para a estabilização, foi adicionado à cuba concentrações crescentes do EHAO (1 - 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) de maneira cumulativa (Figura 9). O relaxamento foi expresso como a percentagem reversa da contração produzida pelo KCl 80 mM na presença ou na ausência do endotélio vascular. A eficácia do efeito vasorelaxante do EHAO foi avaliado através dos valores do  $E_{\text{max}}$ , obtidos para KCl 80mM e FEN.

**Figura 9: Representação esquemática do protocolo experimental para avaliação do efeito do EHAO sobre contração induzida por KCl 80mM em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato.**



Fonte: Autora, 2012.

## 4.4 Análise Estatística

Os resultados obtidos neste estudo foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m). Foram realizados testes “t” de Student não-pareados, para análise de diferença entre todas as médias e ANOVA “one way” seguida do pós-teste de Bonferroni. As diferenças entre as médias foram consideradas significantes quando valor obtido para “p” foi menor ou

igual a 0,05 ( $p \leq 0,05$ ). As curvas foram obtidas através de regressão não-linear. O valor de  $E_{máx}$  corresponde à média percentual de relaxamento do EHAO para cada condição estudada. Toda a análise estatística e plotagem das curvas foram realizadas utilizando o programa estatístico Graph-Pad Prism 5.0.

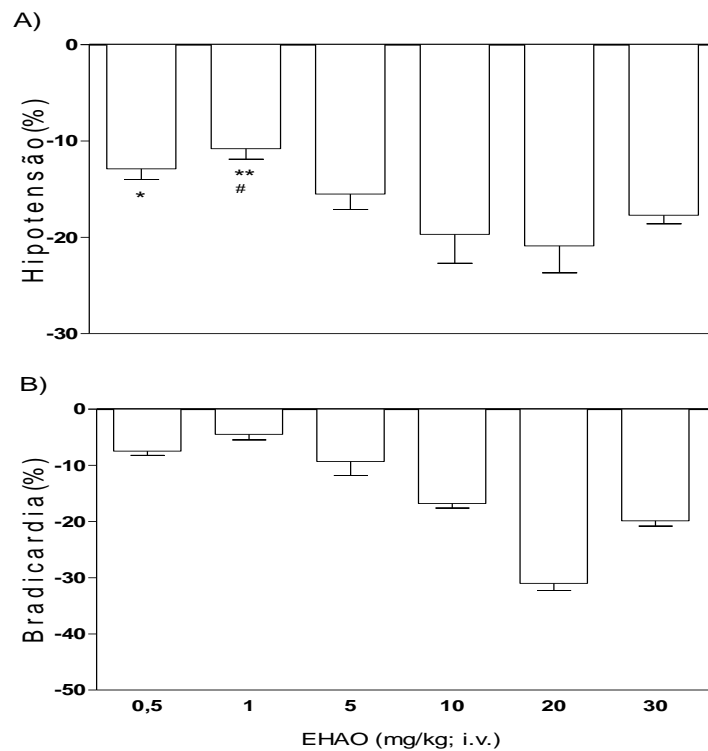
## 5 RESULTADOS

### 5.1 Estudos Farmacológicos com EHAO *in vivo*

#### 5.1.1 Efeito do EHAO sobre PAM e FC em ratos normotensos não anestesiados

Após um período de estabilização dos parâmetros hemodinâmicos, a administração de maneira randômica de doses EHAO (0,5; 1; 5, 10, 20 e 30 mg/kg, i.v.), promoveu uma hipotensão significativa ( $-12,9 \pm 1,1$ ;  $-10,8 \pm 1,1$ ;  $-15,5 \pm 1,6$ ;  $-19,7 \pm 3,0$ ;  $-20,9 \pm 2,8$  e  $-17,7 \pm 0,9$  %, respectivamente) e uma bradicardia ( $-7,5 \pm 0,7$ ;  $-4,5 \pm 1,0$ ;  $-9,3 \pm 2,5$ ;  $-16,8 \pm 0,8$ ;  $-31,0 \pm 1,3$  e  $-19,9 \pm 0,9$  %, respectivamente) de maneira não dose dependente em ratos normotensos não anestesiados (Gráfico 1).

**GRÁFICO 1**– Efeito hipotensor (A) e bradicárdico (B) induzido pela administração aguda de doses crescentes do extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* (EHAO) (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v) em ratos Wistar não-anestesiados (n= 5). Valores estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. \* p < 0,05; dose de 20 versus 0,5 mg/kg. \*\* p < 0,01; dose de 20 versus 1 mg/kg. # p < 0,05; dose de 5 versus 1 mg/kg.

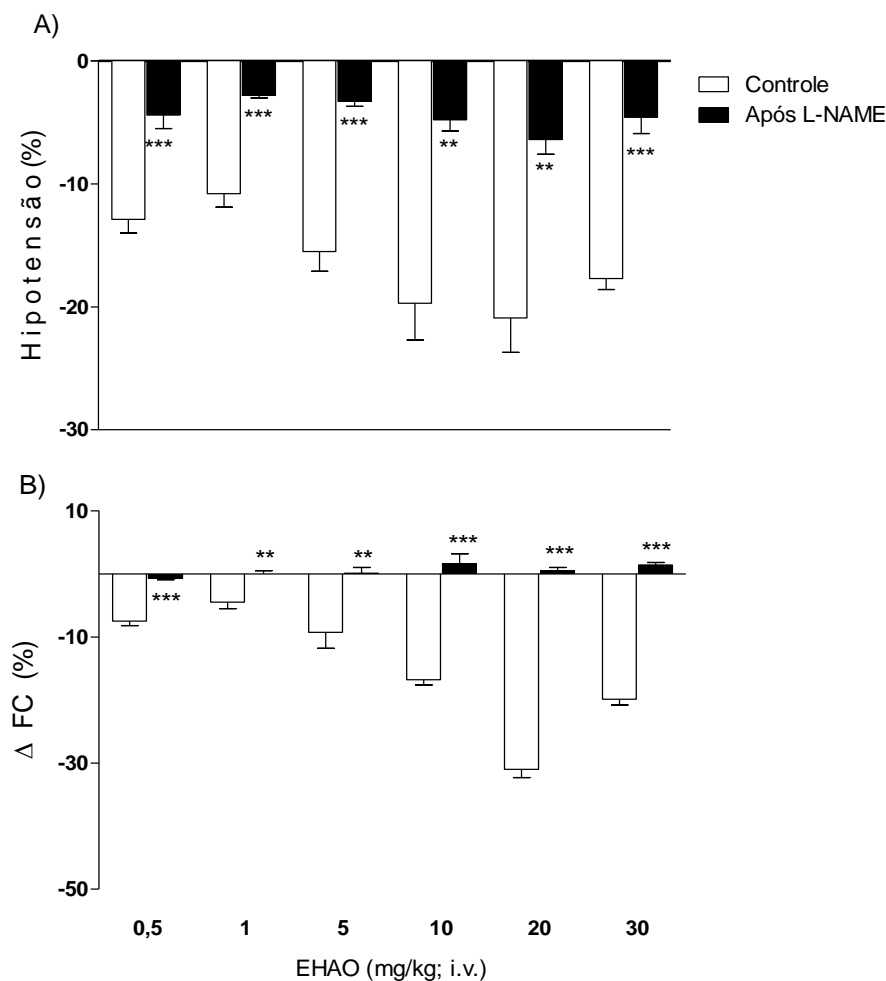


Fonte: Autora, 2012.

### 5.1.2 Efeito do L-NAME sobre as respostas hipotensora e bradicárdica induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados

O efeito hipotensor induzido pelo EHAO foi atenuado em todas as doses ( $-4.4 \pm 1,1$ ;  $-2.8 \pm 0,2$ ;  $-3.3 \pm 0,4$ ;  $-4.8 \pm 0,9$ ;  $-6.4 \pm 1,2$  e  $-4.6 \pm 1,3\%$ , respectivamente) após a inibição da síntese do NO com L-NAME (20 mg/kg, i.v.), além de bloquear o efeito bradicárdico ( $-0,7 \pm 0,2$ ;  $0,0 \pm 0,5$ ;  $0,1 \pm 0,9$ ;  $1,6 \pm 1,6$ ;  $0,5 \pm 0,5$  e  $1,4 \pm 0,4\%$ , respectivamente) representado no gráfico abaixo (Gráfico 2).

**GRÁFICO 2 – Efeito do L-NAME sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO. Efeito do L-NAME (20 mg/kg; i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHAO (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 versus controle.**



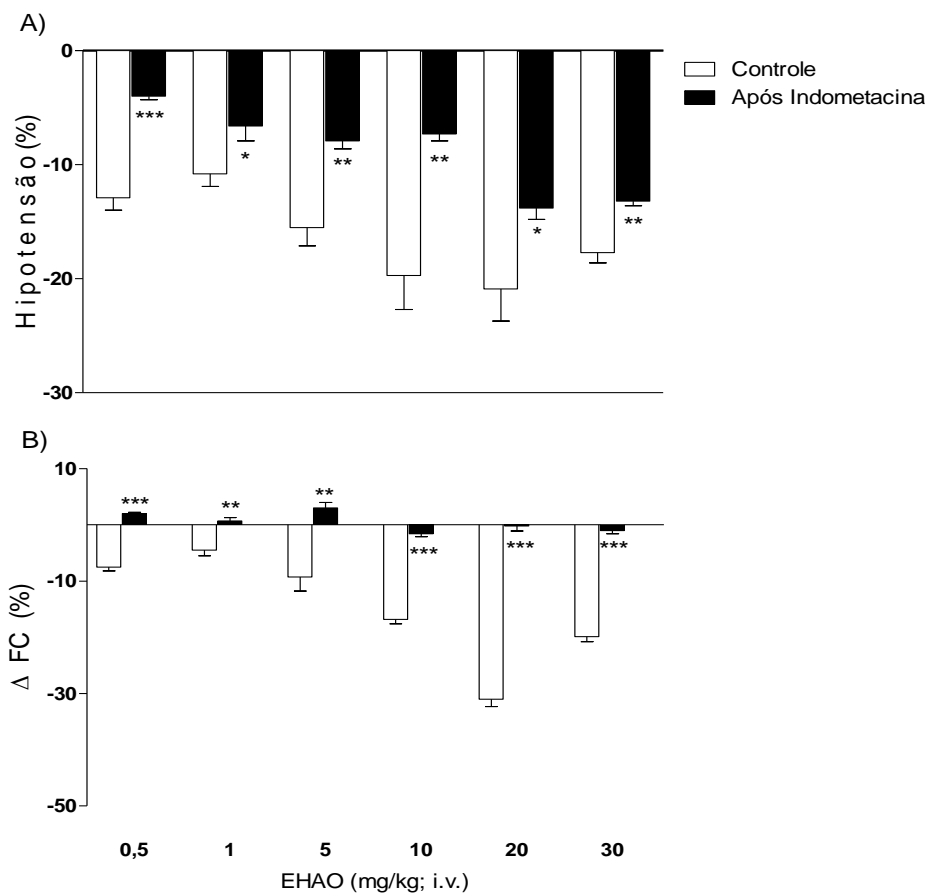
Fonte: Autora, 2012.



### 5.1.3 Efeito da indometacina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados

No gráfico 3, observa-se que a inibição da COX através da indometacina (3 mg/kg, i.v.) também promoveu atenuação do efeito hipotensor do EHAO, reduzindo de maneira significativa o efeito induzido pelo extrato em todas as doses ( $-4,0 \pm 0,3$ ;  $-6,6 \pm 1,3$ ;  $-7,9 \pm 0,7$ ;  $-7,3 \pm 0,6$ ;  $-13,8 \pm 1,0$  e  $-13,2 \pm 0,4\%$ , respectivamente), além de bloquear o efeito bradicárdico induzido pelo extrato ( $2,0 \pm 0,2$ ;  $0,7 \pm 0,6$ ;  $3,0 \pm 1,0$ ;  $-1,6 \pm 0,5$ ;  $-0,2 \pm 0,9$  e  $-1,0 \pm 0,6\%$ , respectivamente).

**GRÁFICO 3 – Efeito da indometacina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO. Efeito da Indometacina (3 mg/kg; i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHAO (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 versus controle.**

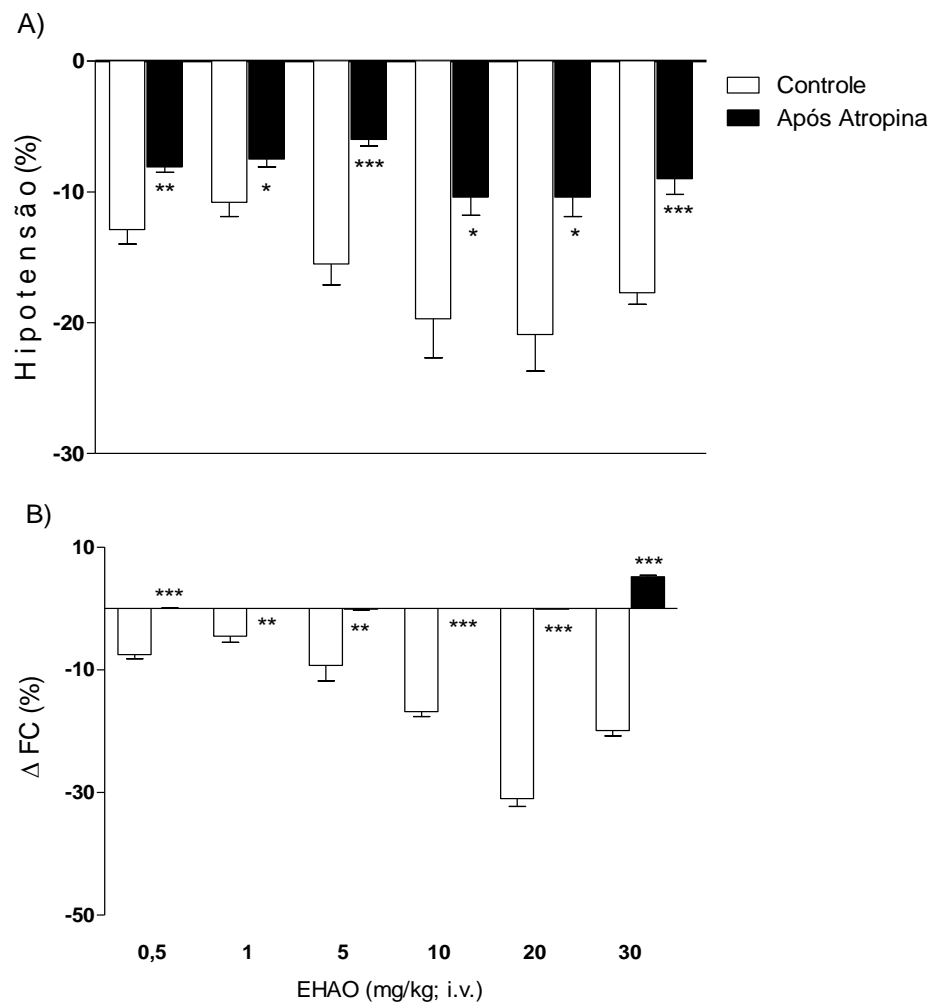


Fonte: Autora, 2012.

### 5.1.4 Efeito da atropina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados

O bloqueio dos receptores muscarínicos induzido pela administração de atropina (2mg/kg, i.v.) reduziu de maneira significativa a hipotensão (-8,1±0,4; -7,5±0,6; -6,0± 0,5; -10,4±1,4; -10,4±1,5 e -9,0±1,2%, respectivamente) e aboliu a bradicardia promovida pelo extrato (0,0±0,1; 0,0±0,1; -0,1±0,1; 0,0±0,1; -0,1±0,0 e 5,2±0,2%, respectivamente) (Gráfico 4).

**GRÁFICO 4 – Efeito da atropina sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO. Efeito da Atropina (2 mg/kg; i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHAO (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 versus controle.**

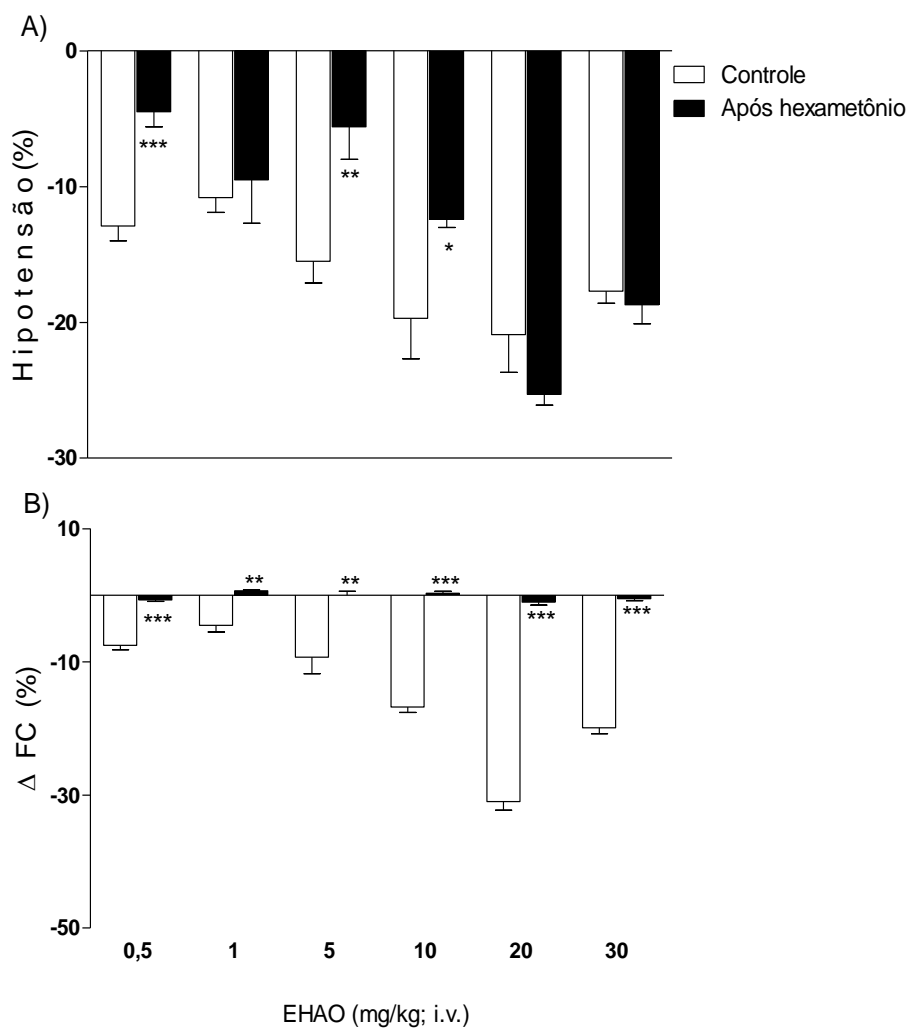


Fonte: Autora, 2012.

### 5.1.5 Efeito do Hexametônio sobre as respostas hipotensora e bradicárdia induzida por EHAO em ratos normotensos não anestesiados

De maneira semelhante, o bloqueio dos receptores ganglionares com hexametônio (30 mg/kg, i.v.) também bloqueou o efeito bradicárdico induzido pelo EHAO ( $-0,7 \pm 0,2$ ;  $0,7 \pm 0,1$ ;  $0,0 \pm 0,6$ ;  $0,3 \pm 0,3$ ;  $-1,0 \pm 0,5$  e  $-0,5 \pm 0,3\%$ , respectivamente), além de reduzir significativamente o efeito hipotensor nas doses de 0,5, 5 e 10 mg/kg ( $-4,5 \pm 1,1$  e  $-5,6 \pm 2,4$ ;  $-12,4 \pm 0,6\%$ ) observado no gráfico 5.

**GRÁFICO 5 – Efeito da Hexametônio sobre as respostas hipotensora e bradicárdica do EHAO. Efeito da Hexametônio (30 mg/kg; i.v.) sobre a resposta hipotensora (A) e bradicárdica (B) induzida pela administração aguda de doses crescentes do EHAO (0,5; 1; 5; 10; 20 e 30 mg/kg, i.v.) em ratos Wistar não-anestesiados (n = 5). \* p < 0,05; \*\* p < 0,01 e \*\*\* p < 0,001 versus controle.**

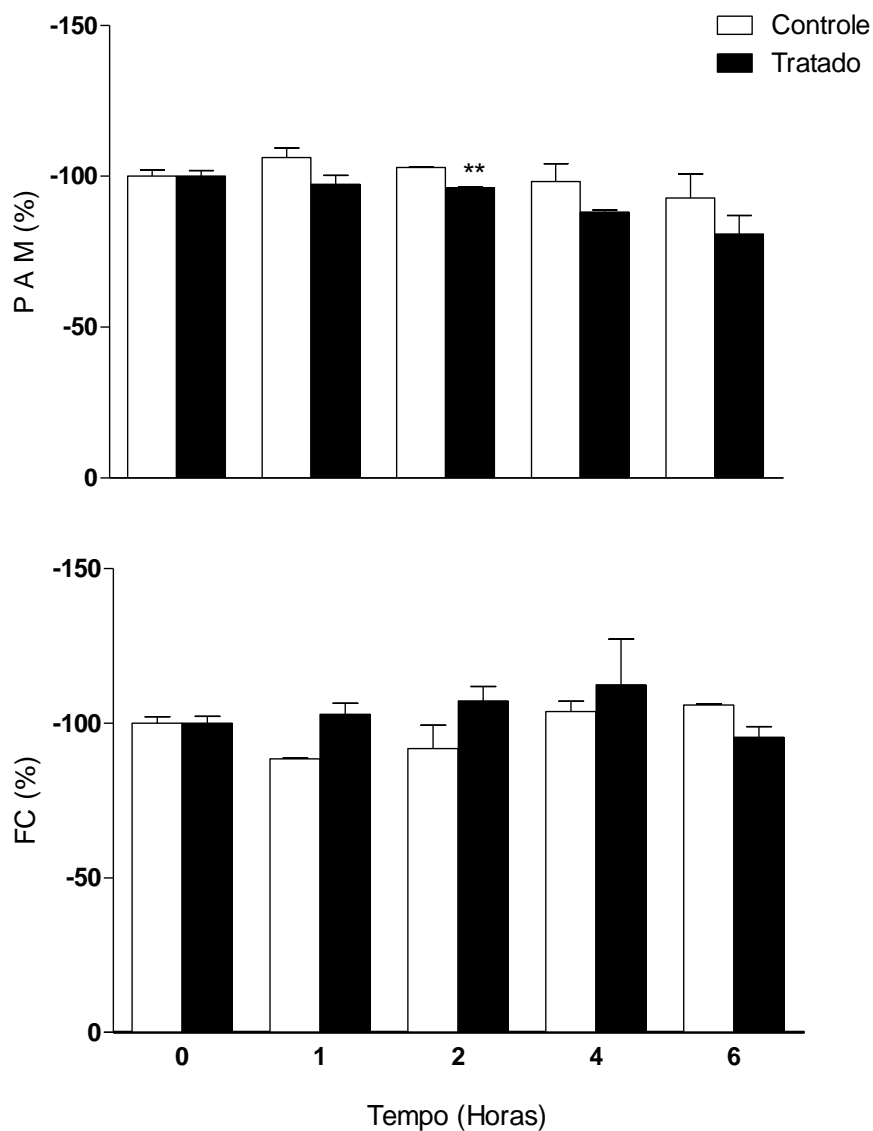


Fonte: Autora, 2012.

### 5.1.6 Efeito anti-hipertensivo induzido por EHAO em ratos SHR não anestesiados

A administração de uma única dose intragástrica de 300 mg/kg do EHAO produziu redução significativa da PAM, apenas na segunda hora (Gráfico 6). EHAO não apresentou efeito significativo sobre a FC. Os valores de PAM e FC antes da administração do extrato foram considerados como 100% (0 h) de atividade.

**GRÁFICO 6 – Efeito Anti-Hipertensivo do EHAO** Efeito do tratamento subcrônico sobre a PAM e FC, após a administração de salina (controle), após administração de AOHE (300 mg/kg, v.o.) em ratos SHR (Tratado) n=8. \* p < 0,05 e \*\* p < 0,01 versus controle.



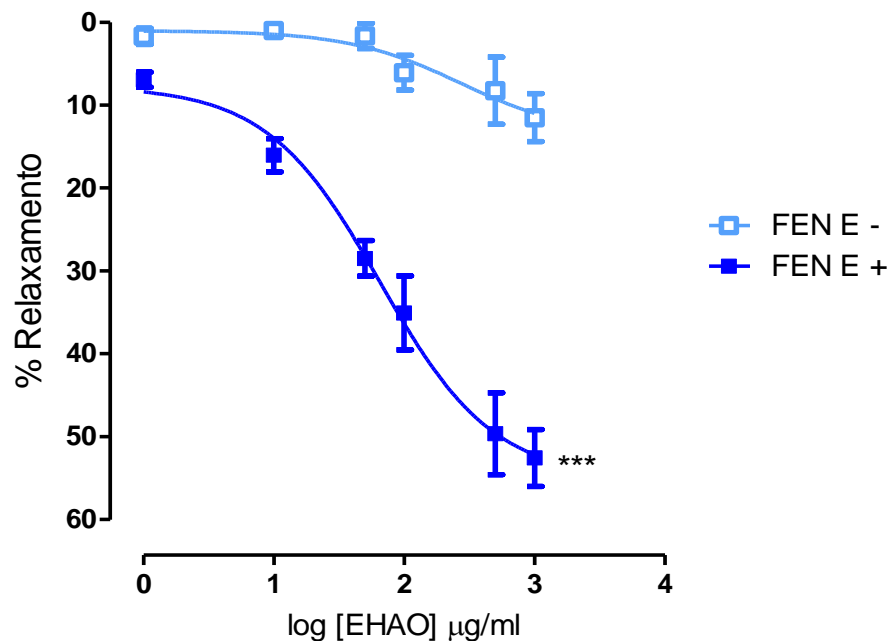
Fonte: Autora, 2012.

## 5.2 Estudo com anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato

### 5.2.1 Efeito do EHAO sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato com e sem o endotélio funcional pré-contraídos com FEN

O EHAO (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) promoveu vasorelaxamento de maneira dependente de concentração, em anéis com endotélio funcional de artéria mesentérica superior isolada de rato, pré-contraídos com FEN (100  $\mu\text{M}$ ). A remoção do endotélio alterou a resposta vasorelaxante induzida pelo EHAO, como demonstrado pelos valores de  $E_{\text{máx}}$  obtidos de artérias com endotélio intacto ( $E_{\text{máx}} = 52,56 \pm 3,4 \%$ ,  $n=6$ ) e anéis com endotélio removido ( $E_{\text{máx}} = 11,51 \pm 2,9 \%$ ,  $n=6$ ) (Gráfico 7). O tempo máximo de estabilização do relaxamento entre uma concentração e outra foi de 5 min, com uma duração máxima de relaxamento total de 30 min.

**GRÁFICO 7 – Efeito do extrato em anéis de artéria mesentérica superior pré-contraído com FEN. Curva - concentração resposta de EHAO (1-1000  $\mu\text{g/mL}$ ), em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato wistar, pré-contraídos com FEN (100  $\mu\text{M}$ ) com endotélio intacto (■) e sem endotélio (□). Os valores estão expressos com média  $\pm$  e.p.m ( $n= 5$ ). \*\*\* $p < 0,001$ .**

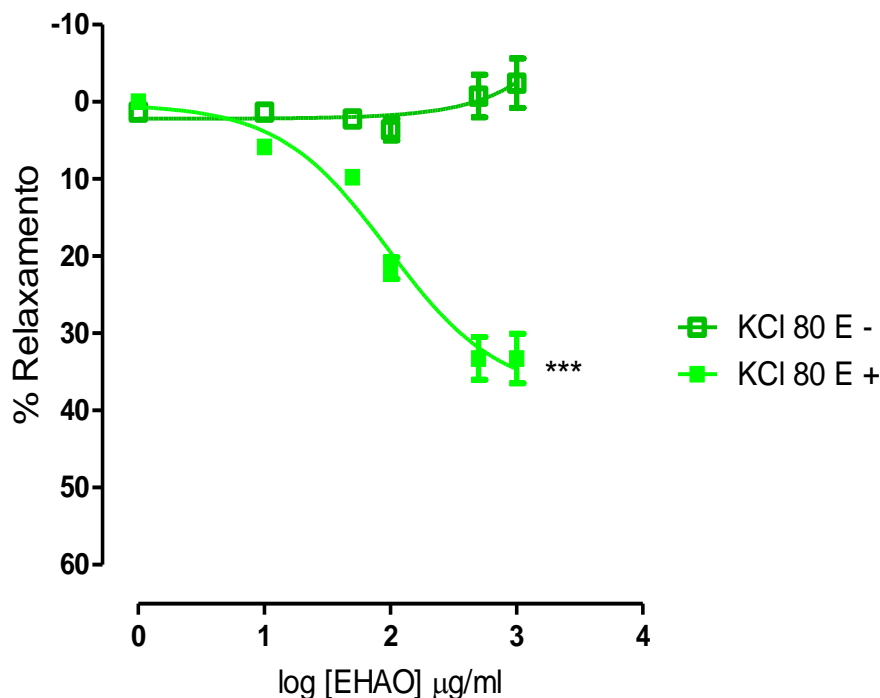


Fonte: Autora, 2012.

### 5.2.2 Efeito do EHAO sobre anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato com e sem o endotélio funcional pré-contraídos com KCl 80 mM

O relaxamento promovido por EHAO (1 – 1000  $\mu\text{g/mL}$ ) foi dependente de concentração, em anéis com endotélio funcional de artéria mesentérica superior isolada de rato, pré-contraídos com KCl 80 mM. A remoção do endotélio também alterou a resposta vasorelaxante induzida pelo EHAO, demonstrado pelos valores de  $E_{\text{máx}}$  obtidos de artérias com endotélio intacto ( $E_{\text{máx}} = 33,30 \pm 3,20 \%$ ,  $n=6$ ) e artérias com endotélio removido ( $E_{\text{máx}} = -2,39 \pm 3,2 \%$ ,  $n=6$ ) (Gráfico 8). O tempo máximo de estabilização do relaxamento entre uma concentração e outra foi de 5 min, com uma duração máxima de relaxamento total de 30 min.

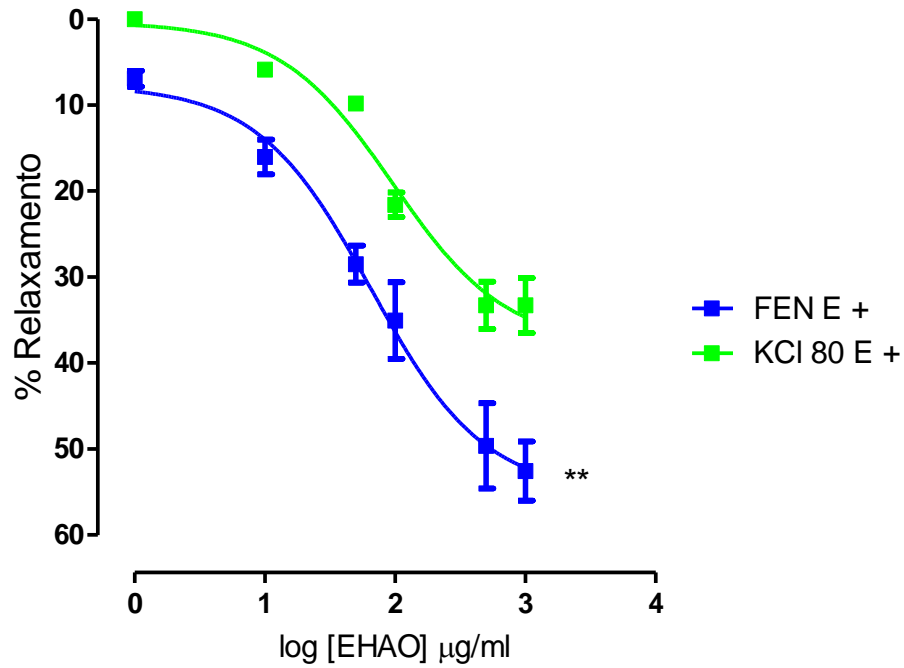
**GRÁFICO 8 – Efeito do extrato em anéis de artéria mesentérica superior pré-contraído com KCl 80mM. Curva - concentração resposta de EHAO (1-1000  $\mu\text{g/mL}$ ), em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato wistar, pré-contraídos com KCl (80 mM) com endotélio intacto (■) e sem endotélio (□). Os valores estão expressos com média  $\pm$  e.p.m ( $n= 5$ ). \*\*\* $p<0,001$ .**



Fonte: Autora, 2012.

Quando comparados os efeitos vasorelaxantes de anéis pré-contraídos com FEN (100  $\mu\text{M}$ ) e KCl (80 mM), observou-se um efeito mais eficaz em anéis contraído com FEN (GRÁFICO 9).

**GRÁFICO 9** – Efeito do extrato em anéis de artéria mesentérica superior pré-contraindo com FEN ou KCl 80mM. Curva - concentração resposta de EHAO (1-1000  $\mu\text{g/mL}$ ), em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato wistar, pré-contraindo com FEN (■) e com KCl (80 mM) (□) ambos com endotélio intacto. Os valores estão expressos com média  $\pm$  e.p.m. (n= 5)  
\*\*p<0,01



Fonte: Autora, 2012.

## 6 DISCUSSÃO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos induzidos pelo extrato hexânico de *Anacardium occidentale* Linn. sobre o sistema cardiovascular, bem como investigar os possíveis mecanismos de ação envolvidos nestes efeitos. Para isto, foi realizada uma abordagem *in vivo* utilizando o protocolo de medida direta da pressão arterial em ratos normotensos Wistar não anestesiados, e uma abordagem *in vitro*, utilizando anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos normotensos Wistar.

O principal achado deste trabalho foi que a administração aguda do EHAO produziu hipotensão e bradicardia em ratos normotensos Wistar provavelmente em consequência de uma diminuição da resistência vascular periférica, em função da ativação de receptores muscarínicos endoteliais, e ativação direta e indireta de receptores muscarínicos cardíacos, respectivamente.

Todos os protocolos *in vivo* foram realizados com animais não anestesiados a fim de se evitar a influência da anestesia e do estresse cirúrgico nos parâmetros cardiovasculares (SMITH; HUTCHINS, 1980; FLUCKIGER et al., 1985), visto que a literatura descreve bem os efeitos produzidos por anestésicos sobre o sistema cardiovascular, alterando os principais sistemas de regulação da pressão arterial, como o nervoso simpático e barorreflexo (FLUCKIGER et al., 1985; DORWARD et al., 1985), induzindo depressão das sinapses do sistema nervoso central e promovendo alterações das respostas autonômicas (KORNER et al., 1968; WHITE; MCRITCHIE, 1973; ZIMPFER et al., 1982).

Diante da inexistência de estudos cardiovasculares mais detalhados do extrato das folhas de *Anacardium occidentale*, nossos estudos foram conduzidos inicialmente por uma abordagem *in vivo* para caracterizar os efeitos induzidos pelo extrato em ratos normotensos. A administração aguda (i.v.) de doses randômicas do extrato induziu efeito hipotensor acompanhado de bradicardia de maneira independente de dose. Estes efeitos apresentaram rápido retorno aos valores basais.

A literatura relata que a estimulação de receptores muscarínicos presentes nas células endoteliais vasculares gera uma intensa vasodilatação, apesar da ausência aparente de inervação colinérgica na maioria dos vasos sanguíneos (BRUNNING et al., 1994). Os receptores envolvidos nesta resposta é o M<sub>3</sub> (EGLIN; WHITING, 1985; CHOO et al., 1986; CAULFIELD, 1993; SAWAYER et al., 1999). Esta estimulação induz um aumento na [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>



nas células endoteliais vasculares, promovendo a formação e liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio (FRDEs) (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980), a exemplo do NO (MONCADA; PALMER; HIGGS, 1991) e dos derivados prostanóides, PGE<sub>1</sub>, PGI<sub>2</sub>. O endotélio através da liberação destes fatores vasoativos apresenta papel fundamental na regulação do tônus da musculatura lisa vascular. O tônus vascular por sua vez desempenha papel crítico na regulação fisiológica da pressão arterial (MONCADA; PALMER; HIGGS, 1991). Estudos sugerem que o desenvolvimento e manutenção da hipertensão envolvem a redução dos efeitos vasodilatores dependentes de endotélio sobre o tecido vascular (OJEWOLE, 2006). A existência de FRDEs foi postulada por Furchgott e colaboradores quando eles observaram que acetilcolina relaxava preparações aórticas através de mecanismos dependentes de endotélio (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980). Sobre condições fisiológicas, NO é liberado pelas células endoteliais e difunde para as células da MLV adjacente causando relaxamento (PÉREZ-VIZCAÍNO et al., 1999).

A formação do gás NO é catalisada pela enzima dependente de Ca<sup>2+</sup> NO-sintase (NOS), que catalisa a reação a partir do aminoácido L-arginina. A natureza lipofílica do NO facilita a difusão através das células da musculatura lisa adjacente, estimula GC solúvel (COHEN; VANHOUTTE, 1995), metabolizando o GTP e transformando-o em GMPc. O GMPc, por sua vez, ativa a PKG, resultando em ativação da bomba de Ca<sup>2+</sup> no retículo sarcoplasmático (SERCA) e aceleração da recaptção de Ca<sup>2+</sup> para os estoques intracelulares (CORNWELL et al., 1991); ativação dos canais para K<sup>+</sup>; fechamento dos canais para Ca<sup>2+</sup> sensíveis a voltagem e fosforilação da MLCK, inativando-a. Todos estes eventos culminam em vasorelaxamento (FURCHGOTT, 1983; VANHOUTTE et al., 1995), diminuindo assim a resistência vascular periférica. Além desta via dependente de GMPc, alguns trabalhos têm demonstrado que o NO também pode produzir seus efeitos por uma via independente de GMPc através da ativação direta de canais para K<sup>+</sup> sensíveis ao Ca<sup>2+</sup> de grande condutância (BKCa) (BOLOTINA et al., 1994; MISTRY; GARLAND, 1998).

As respostas mediadas pelo NO podem ser bloqueadas por análogos da L-arginina, tal como o N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME). Este análogo apresenta-se como um inibidor competitivo da enzima NO-sintase (MONCADA; HIGGS, 1993). O bloqueio da síntese do NO com L-NAME causa um aumento na resistência vascular (REES et al., 1989) acompanhado por um aumento na pressão arterial e diminuição no fluxo sanguíneo em vários leitos vasculares (GARDINER et al., 1990; LEHERA et al., 1991).

Diante do exposto, a fim de se investigar se FRDEs estariam envolvidos no efeito hipotensor e bradicárdico induzido por EHAO, verificamos a participação do NO nestes efeitos, para isto foi administrado o extrato em ratos normotensos Wistar não-anestesiado pré-tratados com L-NAME. O efeito hipotensor induzido por EHAO foi atenuado significativamente, sugerindo que o extrato possa estar reduzindo a resistência periférica total através da liberação de NO a partir do endotélio vascular.

A administração de L-NAME também bloqueou a resposta bradicárdica. Este efeito é consistente com os achados *in vitro* de Mohan & Paterson (2000), que reportaram que o NO pode reduzir a frequência cardíaca e respostas inotrópicas positivas causadas por estimulações do sistema nervoso simpático (SNS) em átrio isolado de porco sugerindo que o NO pode estar envolvido no efeito hipotensor produzido por EHAO, visto que o NO pode ser sintetizado e liberado no endocárdio (SCHULZ et al., 1991), miócitos cardíacos (SCHULZ et al., 1992; BRADY et al., 1993), fibras nervosas cardíacas e neurônios (KLIMASCHEWISKI et al., 1992), e pode também induzir efeitos negativos na força de contração do miocárdio (FINKEL et al., 1992) e miócitos isolados (BRADY et al., 1993). NO é capaz de produzir efeitos inibitórios sobre o coração através do aumento de GMPc e conseqüente diminuição da  $[Ca^{2+}]_i$  (MERY et al., 1991). Portanto, pode-se sugerir que os efeitos do EHAO têm possível ativação da via do NO na regulação do tônus vascular e alterações da frequência cardíaca.

Diante destes resultados decidimos investigar a participação de outro FRDE nesta resposta, a PGI<sub>2</sub>. A literatura descreve que a PGI<sub>2</sub> é um potente vasodilatador tanto dependente quanto independente de endotélio (SHULZ; TRIGGLE, 1994) e participa ativamente no controle local do tônus vascular. Nos vasos, a PGI<sub>2</sub> é formada em células endoteliais vasculares a partir de um aumento na  $[Ca^{2+}]_i$  que ativam uma seqüência de reações enzimáticas iniciada pela ciclooxygenase do tipo 1 (COX-1) (SMITH, 1992), difundindo-se até as células musculares. O mecanismo de ação das PGI<sub>2</sub> envolve a ativação de receptor IP acoplado a proteína Gs (COLEMAM et al., 1994), ativação da ciclase da adenilil e aumento dos níveis intracelulares de AMPc, promovendo ativação da PKA. Esta enzima, por sua vez, promove aceleração da SERCA (recaptação de Ca<sup>2+</sup> para os estoques intracelulares); abertura dos canais para K<sup>+</sup>; fechamento dos canais para Ca<sup>2+</sup> sensíveis a voltagem e fosforilação da MLCK, inativando-a. Todos estes eventos levam a uma redução da concentração  $[Ca^{2+}]_i$  e conseqüentemente vasorelaxamento (SIEGEL et al., 1989; FROLICH, 1990).

Para avaliarmos se a PGI<sub>2</sub> poderia estar envolvida nas respostas do extrato, os animais foram pré-tratados com indometacina, um potente inibidor não-seletivo da COX (CLARK; FUCHS, 1997). Neste protocolo, observamos que o bloqueio com indometacina atenuou significativamente as respostas hipotensora e bradicárdica produzidas por EHAO, sugerindo que além do NO, possivelmente a PGI<sub>2</sub> também parece estar envolvida nestes efeitos.

Embora as evidências apontem para a possível participação do NO e da PGI<sub>2</sub> no efeito hipotensor e bradicárdico induzido pelo extrato, não podemos descartar a possibilidade de que outros fatores relaxantes dependentes e independentes de endotélio estejam envolvidos nesta resposta, fazendo necessários outros experimentos para elucidar esta participação.

Como já foi dito anteriormente, a estimulação de receptores muscarínicos em células endoteliais induz vasorelaxamento através da liberação de FRDES, como o NO e a PGI<sub>2</sub>. Além disso, a regulação autonômica primária da função do nodo sinoatrial é por ação parassimpática (vagal) via estimulação de receptores muscarínicos cardíacos (PETERSON et al., 1984). A estimulação destes receptores induz bradicardia intensa seguida de hipotensão decorrente da redução do débito cardíaco (MEDEIROS; SANTOS; DUARTE, 2006). Estes receptores são predominantemente do subtipo M<sub>2</sub> (CAULFIELD, 1993) como demonstrado por Brodde e Michel (1999) através de estudos farmacológicos e moleculares. Apesar de ter sido relatada a expressão de outros subtipos de receptores muscarínicos, tais como M<sub>1</sub>, M<sub>3</sub> e M<sub>4</sub> em coração de mamífero, eles ainda não foram associados a nenhuma resposta funcional em átrio (STENGEL et al., 2000).

A fim de verificarmos se a participação do NO e PGI<sub>2</sub> nas respostas induzidas pelo extrato é devido a uma estimulação de receptores muscarínicos, no vaso e no coração, utilizamos atropina, um antagonista não-seletivo dos receptores muscarínicos (MITCHELSON, 1984). Após a administração da atropina, a resposta hipotensora foi atenuada, e a bradicárdica foi praticamente abolida, sugerindo que possivelmente o extrato age estimulando receptores muscarínicos.

Com intuito de investigarmos se a ação do EHAO poderia ser indireta via ativação vagal, nós utilizamos o hexametônio, um bloqueador ganglionar (antagonista dos receptores nicotínicos). Após a administração do bloqueador, a resposta bradicárdica foi praticamente bloqueada, enquanto que a resposta hipotensora foi atenuada na primeira, terceira e quarta dose. Estes resultados sugerem que o efeito bradicárdico induzido pelo EHAO contribui

parcialmente com o efeito hipotensor e parece ser devido a uma ativação indireta de receptores muscarínicos cardíacos, possivelmente via ativação do nervo vago.

Nossos estudos revelaram que EHAO induziu efeito hipotensor e bradicárdico provavelmente devido a redução da resistência periférica e do débito cardíaco, considerando que os fármacos com atividade anti-hipertensiva agem através destes mecanismos (HOFFMAN, 2006). Objetivamos investigar se o extrato também produzia efeito anti-hipertensivo, para isto, utilizamos o protocolo de caracterização do efeito sub-crônico da administração de uma única dose de 300 mg/kg via oral do extrato em ratos SHR não anestesiados. O extrato foi capaz de reduzir significativamente a PAM apenas na segunda hora, já a FC não apresentou alterações significativas, o que sugere que o efeito de EHAO pode ser devido a uma soma das alterações na pré-carga (PAD) e da pós carga (PAS), indicando que estes efeitos podem ocorrer devido a alterações no tônus vascular e na resistência periférica (BERNE e LEVY, 2009; AYELE et al, 2010). corroborando com os achados citados anteriormente.

Para podermos compreender melhor e confirmarmos a natureza do efeito hipotensor observado nos experimentos *in vivo*, nós utilizamos uma abordagem *in vitro* utilizando anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato. O modelo de artéria mesentérica foi escolhido e não aquele com aorta, por considerar que um vaso de condutância e de grosso calibre tem um papel limitado nas variações globais da resistência periférica (MULVANY; AALKJAER, 1990). Já os vasos de pequeno calibre, como é o caso da artéria mesentérica, que apresentam maior resistência e são mais amplamente implicados na regulação do débito e da pressão capilar, refletem melhor as evoluções da resistência periférica global (FOLKOW, 1979; FOLKOW, 1987).

Em anéis pré-contraídos com fenilefrina, um agonista  $\alpha$ -adrenérgico, O EHAO induziu vasorelaxamento dependente de concentração e dependente da presença do endotélio intacto. Estes resultados corroboram com nossos estudos *in vivo*, onde a resposta hipotensora e bradicárdica têm possível participação de EDRFs, e com estudos anteriores conduzidos em aorta isolada de rato, onde o extrato das folhas de *Anacardium occidentale* produziu efeito relaxante dependente de endotélio (RUNNIE et al., 2004).

O endotélio é imprescindível na regulação da pressão arterial e fluxo sanguíneo local, pois exerce o controle de diversas funções celulares e moleculares, incluindo atividade contrátil e proliferativa da musculatura lisa vascular, sendo responsável pela regulação e

manutenção da homeostase do sistema vascular mediado pela liberação fatores vasoconstritores e EDRFs (GARLAND et al., 1995; BUSSE et al., 2002), como o NO, PGI<sub>2</sub> e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio ainda não caracterizado – FHDE (FÉLÉTOU; VANHOUTTE, 2006). Com o objetivo de verificar a participação dos EDRFs no efeito vasorelaxante induzido pelo EHAO foram realizados experimentos com anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato, na ausência do endotélio funcional. Após a remoção mecânica do endotélio, o EHAO não induziu efeito vasorelaxante significativo, demonstrando que o vasorelaxamento induzido é dependente do endotélio funcional e provavelmente devido a uma ação direta do extrato no músculo liso vascular.

A fenilefrina é um agonista seletivo dos receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, a estimulação farmacomecânica ativa a via da PLC iniciando uma cascata de eventos que irá promover aumento das concentrações de Ca<sup>2+</sup> no meio intracelular, culminando em contração da MLV. Estes receptores estão acoplados a proteína G<sub>q/11</sub> e após a ativação da PLC esta enzima catalisa a hidrólise do PIP<sub>2</sub> em IP<sub>3</sub> e DAG, o IP<sub>3</sub> ativa os receptores do retículo sarcoplasmático (compartimento intracelular de estoque de Ca<sup>2+</sup>), promovendo a liberação de Ca<sup>2+</sup> no citosol. O DAG juntamente com a elevação do Ca<sup>2+</sup> promove a ativação da PKC, que promove a fosforilação de enzimas envolvidas no processo contrátil, como a MLCP inibindo (MCCARRON et al., 2003; THORNELOE; NELSON, 2005; SALAMANCA; KHALIL, 2005). Deste modo, pode-se sugerir que o EHAO pode estar inibindo alguma etapa do processo contrátil induzido por FEN mediado por EDRFs.

Uma vez verificado que o EHAO promove vasorelaxamento frente à contração por estimulação farmacomecânica, buscou-se avaliar a ação do mesmo sobre uma contração por estimulação eletromecânica, por despolarização celular. A literatura relata que a elevação da concentração de K<sup>+</sup> nas células de músculo liso, promove despolarização de membrana, por abertura dos Ca<sub>v</sub> e conseqüente aumento do influxo de Ca<sup>2+</sup> para o meio intracelular, promovendo uma contração sustentada (SOMLYO; SOMLYO, 1994; GODFRAIN, 1983; GODFRAIN, 2005). É possível reduzir esta resposta contrátil por meio da inibição dos Ca<sub>v</sub>, promovendo nestas condições vasorelaxamento (GODFRAIN, 2005). Portanto, avaliou-se o efeito do EHAO em anéis pré-contraídos com a solução despolarizante de KCl 80 mM, observamos que semelhantemente ao resultado obtido com o agente contracturante FEN, o extrato promoveu relaxamento de maneira dependente de concentração e dependente da presença do endotélio funcional. Estes resultados apresentam um forte indício de que a

vasodilatação possa envolver um passo comum na via de sinalização celular, visto que ambos agentes contraturantes utilizados promovem aumento citosólico dos níveis de  $\text{Ca}^{2+}$  (GALICIA et al., 2008). Possivelmente, o mecanismo vasodilatador do EHAO envolva a inibição do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  através do bloqueio dos canais para  $\text{Ca}^{2+}$  dependentes de voltagem ou inibição da liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  dos estoques intracelulares.

Testes químicos qualitativos do EHAO revelaram a presença de alcalóides, saponinas e polifenóis (TÉDONGA; DZEUFLET; DIMO, 2007). Convém mencionar que as saponinas e os polifenóis são descritos na literatura por estimular a liberação de NO das células endoteliais vascular induzindo relaxamento da musculatura lisa vascular (KAMADYAAPA et al., 2009).

Os resultados em conjunto sugerem que EHAO induz efeito hipotensor e bradicárdico, o efeito hipotensor é causado pela redução da resistência vascular periférica, provavelmente através da liberação de EDRFs, o NO e derivados prostanóides, interferindo na  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  por inibição do influxo e liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  dos estoques intracelulares, através da ativação direta ou indireta de receptores muscarínicos na MLV e em parte por redução do débito cardíaco. O efeito bradicárdico parece ser devido a uma ativação indireta de receptores muscarínicos cardíacos, via ativação do nervo vago. O extrato também produziu atividade anti-hipertensiva possivelmente por reduzir a resistência vascular periférica.

## 7 CONCLUSÕES

Os estudos dos efeitos cardiovasculares induzidos pelo extrato hexânico das folhas de *Anacardium occidentale* sugerem que:

- EHAO produz efeito hipotensor e bradicárdico em ratos normotensos não-anestesiados;
- A hipotensão parece ser majoritariamente por diminuição da resistência vascular periférica em decorrência da vasodilatação promovida pela liberação de NO e derivados prostanóides, direta ou indiretamente por ativação de receptores muscarínicos endoteliais e, somada a uma diminuição transitória do débito cardíaco em função da bradicardia;
- A bradicardia parece ser devido à ativação indireta de receptores muscarínicos cardíacos através da liberação de acetilcolina do nervo vago;
- EHAO produz efeito vasorelaxante em artéria mesentérica superior isolada de rato dependente de endotélio vascular.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ATLAS, S. A. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. **Am J Manag Care**, v. 13, n. 8, p. s9-s20, 2007.

ARA TACHJIAN, M.D.; VIQAR MARIA, M.B.B.S.; ARSHAD JAHANGIR, M.D. Use of Herbal Products and Potential Interactions in Patients With Cardiovascular Diseases. **Journal of American College of Cardiology**. v. 55; n. 6. 2010.

BARBOSA FILHO, J. M.; MEDEIROS, K. C. P.; DIN, M. F. et al. Natural Products Inhibitors of The Enzyme Acetylcholinesterase. **Rev Bras De Farmacogn**, v. 16, p. 258-285. 2001.

BARCELOS G R, SHIMABUKURO F, MACIEL M A, CÓLUS I M. GENOTOXICITY and Antigenotoxicity of Cashew (*Anacardium Occidentale L.*) in V79 Cells. **Toxicol in Vitro**, v. 21, n. 8, p. 1468-1475. 2007.

BARROS, L. M. Caju. **Produção: aspectos tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 148. 2002.

BERNE, R, M.; LEVY, M. N. Hemodinâmica Cardíaca. In: BERNE, R, M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STATION, B. A. **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier. Cap. 14, p. 275-286, 2004.

BOLOTINA, V. M.; NAJIBI, S.; PALACINO, J. J.; PAGANO, P. J.; COHEN, R. A. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**, v. 368, p. 850-853, 1994.

BRADY, A.; WARREN, J.; POOLE-WILSON, P.; WILLIAMS, T.; HARDING, S. Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction. **Am J Physiol**, v. 265: H176-H182, 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. DAF/SCTIE/MS – **Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse do SUS – RENISUS**, Brasília, DF, Fevereiro de 2009.

BRODDE, O. E.; MICHEL, M. C. Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart. **Pharmacology Reviews**, v. 51, p.651-690, 1999.



BRUNNING, T. A.; HENDRICKS, M. G. C.; CHANG, P. C.; KUYPERS, E. A. P.; VAN ZWIETEN, P. A. In vivo characterization of vasodilating muscarinic receptors in humans. **Cir Res**, v. 74, p. 912-919, 1994.

BUSSE, R.; EDWARDS, G.; FELETOU, M.; FLEMING, I.; VANHOUTTE, P. M.; WESTON, A. H. EDHF: bringing the concepts together. **Trends Pharmacol of Sci**, v. 23, p. 374-380, 2002.

CALPHAM, D. E. Calcium signaling. **Cell**, v. 14, p. 1047-1058, 2007.

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

CANDAN, F. Effect of *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) on superoxide radical scavenging and xanthine oxidase activity. **J Enzyme Inhib Med Chem**, v.18, n. 1, p. 59-62. 2003.

CARNEIRO, G.; FARIA, A. N.; RIBEIRO FILHO, F. F. et al. Influência da distribuição da gordura corporal sobre a prevalência de hipertensão arterial e outros fatores de risco cardiovascular em indivíduos obesos. **Rev. da Assoc. Médic. Bras.**, São Paulo, v. 49, n. 3, p. 306-311, 2003.

CARVALHO, A. P.; COSTA, A. F. Circulação e respiração: **Fundamentos de Biofísica e Fisiologia**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1979.

CASTELLANO, O. **Introdução à Fitoterapia**. Serviço de Arte Gráfica da Coordenadoria de Atividades Culturais - USP – São Paulo, 1981.

CAULFIELD, M. P. Muscarinic receptors: characterization, coupling and function. **Pharmacol. Ther.**, v.58, p. 323-31, 1993.

CHALMERS, S.; OLSON, M. L.; MACMILLAN, D.; RAINBOW, R. D.; McCARRON, J. CASTRO, M. E.; Rolim, M. O.; Mauricio, T. F. Prevenção da hipertensão e sua relação com o estilo de vida de trabalhadores. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 184-189, 2005.

CHEN, S. LV. G.; ZHANG, X.; LIU, X. et al. Anti-Hypertensive Effects Of Laiju Extract In Two Different Rat Models. **Asia Pac J Clin Nutr**, v. 16, s. 4, p. 309–312. 2007.

- CHOBANIAN, A. V. et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. **Hypertension**, v. 42, n. 6, p.1206-1252, 2003.
- CHOO, L. K.; MALTA, E.; MITCHELSON, F. The affinity of some selective muscarinic receptor antagonists for the muscarinic receptor mediating endothelial-dependent relaxation of the rabbit and rat thoracic aorta. **J Pharm Pharmac**, v. 38, p. 843-845, 1986.
- CLARK, A. M. Natural products as a resource for new drugs. **Pharmac Res**, v. 13, p. 1133-44, 1996.
- CLARK, S. G.; FUCHS, L. C. Role of nitric oxide and Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels in mediating heterogeneous microvascular responses to acetylcholine in different vascular beds, **J. Pharmacol Exper Ther**, v. 282, n. 3, p. 1473-1479, 1997.
- COELHO, F. B. R.; DALBELO, C. A.; LOLIS, S. Levantamento Etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca localizada no Jalapão - TO. **Rev. eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 52-55, 2005.
- COHEN, A. C.; VANHOUTTE, P. M. Endothelium-dependent hyperpolarization. **Circulation**, v. 92, n. 3337-3349, 1995.
- COLEMAN, T. G.; MANNING, R. D. Jr.; NORMAN, R. A. Jr.; DECHEE, J. The role of the kidney in spontaneous hypertension. **Am Heart J**, v. 89, p. 94-98, 1975.
- COLEMAM, R. A.; SMITH, W. L.; NARUMIYA, S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution and structure of the receptors and their subtypes, **Pharmacol Rev**, v. 46, p. 205-229, 1994.
- CORNWELL, T. L.; PRYZWANSKY, K. B.; WYATT, T. A.; LINCOLN, T. M. Regulation of sarcoplasmic reticulum protein phosphorylation by localized cyclic GMP-dependent protein kinase in vascular smooth muscle cells. **Mol. Pharmacol**. v. 40, p. 923-931, 1991.
- CRISÓSTOMO, J. R.; CAVALCANTI, J. J. V.; BARROS, L. M.; ALVES, R. E.; FREITAS, J. G.; OLIVEIRA, J. N. Melhoria do cajueiro-anão precoce: avaliação da qualidade do pedúnculo e a heterose dos seus híbridos. **Rev. Bras. de Frutic.**, v. 24, n. 2, p. 477-480, 2002.

DE LA CRUZ MG (org.). O acesso aos fitoterápicos e plantas medicinais e a inclusão social – diagnóstico situacional da cadeia produtiva farmacêutica no estado de Mato Grosso. Secretaria de Estado de Saúde do Mato Grosso, 2005.

DEMAIN, A. L. 2000 Years of Natural Products Research: Past, Present and Future, Ed. Teus J. C. Luijendijk, **Phytoconsult**, 2000.

DILLARD, C. J.; GERMAN, J. B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **J. Sci Food Agriculture**, v. 80 , n. 2, p. 1744-1756, 2000.

DORWARD, P. K.; RIEDEL, W.; BURKE, S. L.; GIPPS, J.; KORNER, P. I. The renal sympathetic baroreflex in the rabbit. Arterial and cardiac baroreceptor influences, resetting, and effects of anesthesia. **Circ Res**, v. 57, p. 618-633, 1985.

EGLIN, R. M.; WHITING, R. Determination of the muscarinic receptor subtype mediating vasodilatation. **Br J Pharmac**, v. 84, p. 3-5, 1985.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3ª ed. Porto Alegre, Florianópolis: Editora da UFRGS, Editora da UFSC, cap. 6, p.91-99, 2001.

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G. C. Etnofarmacologia como Ferramenta na Busca de Substâncias Bioativas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia - da Planta ao Medicamento**, 5ª ed., Porto Alegre/Florianópolis: EDUFRGS/EDUFSC, pp. 107-122, 2004.

EVORA, P. R. B.; PEARSON, P. J.; DISCIGIL, B.; SECCOMBE, J. F.; SCHAFF, H. V. Endotélio e óxido nítrico: História, fisiologia e as primeiras observações relacionadas com a hipertensão arterial. **Hiper. Ativo**, v. 2, n. 2, p. 1-20, 1995.

FATEHI, M.; SALEH, T. M.; FATEHI-HASSANABAD, Z.; FARROKHFAL, K.; JAFARZADEH, M.; DAVODI, M. A pharmacological study on *Berberis vulgaris* fruit extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 46–52, 2005.

FAZAN, JR. R.; DA SILVA, V. J. D.; SALGADO, H. C. Modelos de hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, p.1, 2001.

FÉLÉTOU, M.; VANHOUTE. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor. Where Are We Now?. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.29, n.6, p.1-11, 2006.

FLOYD, R.; WRAY, S. Calcium transporters and signaling in smooth muscle. **Cell Calcium**, v. 42, p. 467-476, 2007.

FLUCKINGER, J. P.; SONNAY M.; BOILLAT, N.; ATKINSON, J. Attenuation of the baroreceptor reflex by general anesthetic agent in the normotensive rat. **Eur J Pharmacol**, v. 109, p. 105-109, 1985.

FOLKOW, B. Physiological aspects of primary hypertension. **Physiol Rev**, v. 62, p. 347-504, 1982.

FOLKOW, B. Relationship between vessel design and hemodynamics along the precapillary resistance compartement in normo and hypertension. **Blood Vessels**, v. 16, p. 277-280, 1979.

FOLKOW, B. Structure and function of the arteries in hypertension. **Am Heart J**, v. 114, p. 938-948, 1987.

FINKEL, M. S.; ODDIS, C. V.; JACOB, T. D.; WATKINS, S. C.; HATTLER, B. G.; SOMMONS, R. L. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. **Science**, v. 257, p. 387-389, 1992.

FROLICH, J. C. Prostacyclin in hypertension. **J Hypertens Suppl.**, v.8, p. S73-S78, 1990.

FUJITA, G. T. BDRA-26-Caju, intenso caju. **Revista Terra da Gente**. 2008.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, p. 373-376, 1980.

FURCHGOTT, R. F. Role of the endothelium in responses of vascular smooth muscles. **Circ. Res.**, v. 53, p. 557-573, 1983.

GALICIA, V. J.; ORTIZ-ANDRADE, R.; CASTILLO-ESPAÑA, P.; IBARRA-BARAJAS, M.; GALLARDO-ORTIZ, I.; VILLALOBOS-MOLINA, R.; ESTRADA-SOTO, S. Antihypertensive and vasorelaxant activities of *Laelia autumnalis* are mainly through calcium channel blockade. **Vascul Pharmacol**, v. 49, p. 26-31, 2008.

GARDINER, S. M.; COMPTON, A. M.; KEMP, P. A.; BENNETT, T. Regional and cardiac haemodynamic effects of NG-nitro-L-arginine methyl ester in conscious, long evans rats. **Br J Pharmacol**, v. 101, n. 3, p. 625-631, 1990.

GARLAND, C.; PLANE, F.; KEMP, B.; COCKS, T. Endothelium-dependent hyperpolarization: a role in the control of vascular tone. **Tr Pharmacol Sci**, v. 16, p. 23-30, 1995.

GODFRAIN, T. Actions of nifedipine on calcium fluxes and contraction in isolated rat arteries. **J Pharmacol and Exp Ther**, v. 224, n.2, p. 443-450, 1983.

GODFRAIN, T. Antioxidant effects and the therapeutic mode of action calcium channel blockers in hypertension and atherosclerosis. **Phil Trans B**, v. 360, p. 2259-2272, 2005.

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

HARVEY A. Strategies for the discovering drugs from previously unexplored natural products. **Drug Discov Today**, v. 5, p. 294-300, 2000.

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

HILL M, A.; DAVIS, M. J.; MEININGER, G. A.; POTOCHNIK, S. J.; MURPHY, T. V. Arteriolar myogenic signalling mechanisms: Implications for local vascular function. **Clin Hemorheol Microcirc**, v. 34, p. 67-79, 2006.

HOFFMAN, B. B. Terapia da Hipertensão. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S. L.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman – **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 11<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, p. 757-778, 2006.

JAYA, A.; SHANTHI, A. P.; SACHDANANDAM, P.; Hypoglycemic Effect of *Semecarpus Anacardium* in Streptozocin Induced Diabetic Rats. **Int J Pharmacol**, v. 6, n. 4, p. 435-443, 2010.

JIN, X.; SATOH-OTONASHI, Y.; ZAMAMI, Y. et al. Characterization of the Inhibitory Effect of Vascular Endothelium on Agonist Induced Vasoconstriction in Rat Mesenteric Resistance Arteries. **J Pharmacol Sci**, v. 108, p. 95 - 103, 2008.

JIN, X.; SATOH-OTONASHI, Y.; ZAMAMI, Y. et al. Endothelial modulation of agonist-induced vasoconstriction in Mesenteric Microcirculation. **Pharmac Soc of Japan**. v. 130, n. 5, p. 723-728, 2010.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, Y M. **J. Plant systematics, a phylogenetic approach**, 2nd ed. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. p. 57, 2002.

KAMADYAAPA, D. R.; GONDWE, M. M.; MOODLEY, K; OJEWOLE, J. A.; MUSABAYANE, C. T. Cardiovascular Effects of Ekebergia Capensis Sparrm (Meliaceae) Ethanolic Leaf Extract in Experimental Animal Paradigms. **Cardiovasc J Afr**, v. 20, p. 162–167. 2009.

KANNEL, W. B. Elevated Systolic Blood Pressure as a Cardiovascular Risk Factor. **Am j cardiol**, v. 81, p.251-255, 2000.

KAPLAN, N. M.; OPIE, L. H. Fármacos Anti-hipertensivos. In: OPIE, L. H. (Ed.). **Fármacos em Cardiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

KAPLAN, N. M.; OPIE, L. H. Controversies in cardiology 2: **Controversies in hypertension**. Lancet, London, v. 367, n. 9505, p. 168-176, 2006.

KAREMAKER, J. M.; WESSELING, K. H .Variability in cardiovascular control: the baroreflex reconsidered. **Cardiovascul Eng**, v. 8, p. 23-29, 2008.

KLIMASCHEWISKI, L.; KUMMER, W.; MAYER, B. et al. Nitric oxide syntase in cardiac nerve fibers and neurons of rat and guinea pig heart. **Circ Res**,v. 71, p. 1533-1537, 1992.

KONAN, N. A.; BACCHI, E. M. Antiulcerogenic Effect and Acute Toxicity of A Hydroethanolic Extract from The Cashew (*Anacardium Occidentale L.*) Leaves. **J Ethnopharmacol**, v. 112, n. 2, p. 237-242. 2007.

KORNER, P. I.; LANGSFORD, G.; STARR, D.; UTHER, J. B.; WARD, W.; WHITE, S. W. The effects of chloralose-urethane and sodium pentobarbitone anesthesia on the local and autonomic components of the circulatory response to arterial hypoxia. **J Physiol (Lond)**, v. 199, p. 283-302, 1968.

KRIEGER, M. E.; IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, J. E. Fisiopatologia da Hipertensão. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**, v. 1, p. 1-7, 1999.

KWANA, C.; CHENA, C.; DEYAMA, T.; NISHIBE, S. Endothelium-dependent vasorelaxant effects of the aqueous extracts of the *Eucommia ulmoides* Oliv. leaf and bark: implications on their antihypertensive action. **Vascul Pharmacol**, v. 40, p. 229-235, 2004.

LABATO, M. A.; ROSS, L. A. Diagnóstico y Tratamiento de la Hipertension. August, J.R. **Consultas em Medicina Interna Felina**. Seção V. Cap. 37. Buenos Aires: Inter-Médica. p. 323-332. 1993.

LEDOUX, J.; WERNER, M. E.; BRAYDEN, J. E.; NELSON, M. T. Calcium-Activated Potassium Channels and the Regulation of Vascular Tone. *Physiology*, v. 21, p. 69-78, 2006.

LEHERA, V.; SALON, M. G.; MIRANDA-GUARDIOLA, F.; MONCADA, S.; ROMERO, J. C. Effects of NG-nitro-L-arginine methyl ester on renal function and blood pressure. **Am J Physiol**, v. 261, p. F1033-1037, 1991.

LOTUFO, P. A. Stroke in Brazil: a neglected disease. **São Paulo Medical Journal**, v. 123, n. 1, p. 3-4, 2005.

LUCAS, K. A.; PITARI, G. M.; KAZEROUNIAN, S.; RUIZ-STEWART, I.; PARK, J.; SCHULZ, S.; CHEPENIK, K. P.; WALDMAN, S. A. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. **Pharmacol Rev**, v. 52, p. 375-414, 2000.

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.

MARTINS, I. S. et. al, Doenças cardiovasculares ateroscleróticas, dislipidemias, hipertensão, obesidade e diabetes melito em população da área metropolitana da região sudeste do Brasil. I - Metodologia da pesquisa. **Rev. Saúde Pública**, v.27, n.4. 1993.

MATSUMOTO, T.; KOBAYASHI, T.; KAMATA, K. Phosphodiesterases in the vascular system. **J. smooth muscle res**, v. 39, p. 67-86, 2003.

MATSUMOTO, T.; WAKABAYASHI, K.; KOBAYASHI, T.; KAMATA, K. Functional changes in adenylyl cyclases and associated decreases in relaxation responses in mesenteric

arteries from diabetic rats. American Journal of Physiology. **Heart Circ Physiol**, v. 289, n.5, p. H2234–H2243, 2005.

MATSUO, A. L.; FIGUEIREDO, C. R.; ARRUDA, D. C. et al.  $\alpha$ -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 29, n. 411, s. 2, p. 449-54, 2011.

MAURICE, D. H.; PALMER, D.; TILLEY, D. G. et al. Cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, expression, and targeting in cells of the cardiovascular system. **Mol Pharmacol**, v. 64, p. 533–546, 2003.

MCCARRON, J. G.; BRADLEY, K. N.; MACMILLAN, D.; MUIR, T. C. Sarcolemma agonist induced interactions between InsP3 and ryanodine receptors in  $Ca^{2+}$  oscillations and waves in smooth muscle. **Biochem Soc Trans**, v. 31, p. 920-924, 2003.

MCNEILL, J. R.; JURGENS, T. M. A Systematic Review of Mechanisms by Which Natural Products of Plant Origin Evoke Vasodilatation. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 84, p. 803-821. 2006.

MELCHIOR et al. Quality of Life in Hypertensive Patients and Concurrent Validity of Minichal-Brazi. **Arq Bras Cardiol**, v. 94, n. 3, p. 357-364, 2010.

MEDEIROS, M. R. V.; SANTOS, N. M. S.; DUARTE, N. J. C. Cardiovascular Effects of *Sida Cordifolia* Leaves Extract In Rats. **Fitoterapia**, v. 77p. 19-27. 2006.

MELO, A. F. M. Estudo galênico de formas plásticas (gel e creme) do extrato bruto de *Anacardium occidentale* L. **Dissertação** (Mestrado)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2002.

MERY, P. F.; LOHMANN, S. M.; WALTER, U. FISCHMEISTER, R.  $Ca^{2+}$  Current is Regulated by Cyclic Gmp-Dependent Protein Kinase in Mammalian Cardiac Myocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 88, p. 1197-1201. 1991.

MISTRY, D. K.; GARLAND, C. J. Nitric oxide (N)-induced activation of large conductance  $Ca^{2+}$ -dependent  $K^+$  channels (BK(Ca)) in smooth muscle cells isolated from the rat mesenteric artery. **Br J Pharmacol**, v. 124, n. 6, p. 1131-1140, 1998.



MITCHELSON, F. Heterogeneity in muscarinic receptors: evidence from pharmacological studies with antagonists. **Trends Pharmacol Sci**, s. 5, p. 12-16, 1984.

MOHAN, R. M.; PATERSON, D. J. Activation of Sulphonylurea-Sensitive Channels and The No-Cgmp Pathway Decreases The Heart Rate Response To Sympathetic Nerve Stimulation. **Cardiovasc. Res**, v. 47, p. 81-89. 2000.

MONCADA, S.; PALMER, R. M. J.; HIGGS, E. A. Nitric Oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. **Pharmacol Rev**, v. 43, p. 109-142, 1991.

MONCADA, S.; HIGGS, E. A. The L-arginine - nitric oxide pathway. **N Engl J Med**, v. 29, p. 2002–2012, 1993.

MULVANY, M. J.; AALKJAER, C. Structure and function of small arteries. **Physiol Res**, v. 70, p. 921-951, 1990.

MUKHOPADHYAYA, A. K.; HATI, Q. K.; TAMIZHARASUA, A. K. W.; SATYA BABUA, P. Larvicidal Properties of Cashew Nut Shell Liquid (*Anacardium Occidentale L*) on Immature Stages of Two Mosquito Species. **J Vector Borne Dis**, v. 47, n. 4, p. 257-260. 2010.

NJUME, C.; AFOLAYAN, A. J.; NDIP, R. N. Preliminary phytochemical screening and *in vitro* anti-Helicobacter pylori activity of acetone and aqueous extracts of the stem bark of *Sclerocarya birrea* (Anacardiaceae). **Arch Med Res**, v. 42, n. 3, p. 252-7. 2011. OKAMOTO K, AOKI K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Jap Circ J**, v. 27, p. 282-93, 1963.

OJEWOLE, J. A. Laboratory Evaluation of The Hypoglycemic Effect of *Anacardium Occidentale Linn* (Anacardiaceae) Stem-Bark Extracts in Rats. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, v. 25, n. 3, p. 199-204. 2003.

OJEWOLE J A. Vasorelaxant and Hypotensive Effects of *Sclerocarya Birrea* (A Rich) Hochst (Anacardiaceae) Stem Bark Aqueous Extract in Rats. **Cardiovasc J South**; v. 17, p. 117–123. 2006.

OLAJIDE O A, ADEROGBA M A, ADEDAPO A D A, MAKINDE J M. Effects of *Anacardium Occidentale* Stem Bark Extract on *in Vivo* Inflammatory Models. **J Ethnopharmacol**, v. 95, n. 2-3, p. 139-142. 2004.

OLIVEIRA, M. S. C.; ALEXANDRINO, C. D.; QUEIROZ, V. A.; VIEIRA, M. G. S.; MORAIS, S. M.; BATISTA, W. P. Perfil fitoquímico e potencial antioxidante do pendúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.) de quatros clones diferentes. **48º Congresso brasileiro de química**. Rio de Janeiro – RJ, 2008.

OSTROM, R. S. LIU, X.; HEAD, B. P.; GREGORIAN, C.; SEASHOLTZ, T. M. INSE, P. A. Localization of Adenylyl Cyclase Isoforms and G Protein-Coupled Receptors in Vascular Smooth Muscle Cells: Expression in Caveolin-Rich and Noncaveolin Domains. **Mol Pharmacol**, v. 62, n. 4, p. 983–992, 2002.

PAGE, C. P.; CYRTIS, M. J. C.; SUTTIER, M. C.; WALKER, M. J. A.; HOFFMANN, B. B. As drogas e o sistema cardiovascular. **Farmacologia Integrada**. 1ª ed., Editora Manole, São Paulo-SP, p. 153-193, 1999.

PAULIS L, LÍŠKOVÁ S, PINTÉROVÁ M, DOBEŠOVÁ Z, KUNEŠ J, ZICHA J: Nifedipine-sensitive noradrenergic vasoconstriction is enhanced in spontaneously hypertensive rats: the influence of chronic captopril treatment. **Acta Physiol (Oxf)** v. 191, p. 255-266, 2007.

PÉREZ-VIZCAÍNO, F.; COGOLLUDO, A. L.; ZARAGOZÁ-ARNÁEZ, F. Vasodilator Effects of Sodium Nitroprusside, Levchromakalim And Their Combination in Isolated Rat Aorta. **Br J Pharmacol**, v. 128, p. 1419-1426. 1999.

PETERSON, G. L.; HERRON, G. S.; YAMAKI, M.; FULLERTON, D. S.; SCHIMMERLIK, M. I. Purification of the muscarinic acetylcholine receptor from porcine atria. **Proc Natl Acad Sci U S A.**, v. 81, n. 4993-4997, 1984.

PINTÉROVÁ, M.; LÍŠKOVÁ, S.; DOBEŠOVÁ, Z.; BEHULIAK, M.; KUNEŠ, J.; ZICHA, J. Impaired Control of L-Type Voltage-Dependent Calcium Channels in Experimental Hypertension. **Physiol. Res.** v. 58, s. 2, S43-S54, 2009.

PINTÉROVÁ, M.; KUNEŠ, J.; ZICHA, J. Altered Neural and Vascular Mechanisms in Hypertension. **Physiol. Res.** v. 60, p. 381-402, 2011.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; LOPES, N. P.; EPIFÂNIO R. A. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. **Química Nova**, v. 25, s. 1, p. 45-61, 2002.

RAMPRASATH, V. R.; SHANTHI, A. P.; SACHDANANDAM, P. Anti-inflammatory Effect of *Semecarpus anacardium* LINN. Nut Extract in Acute and Chronic Inflammatory Conditions. **Biol. Pharm. Bull**, n. 27, v. 12, p. 2028-2031, 2004.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.

REES, D. D.; PALMER, R. M. J., MONCADA, S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. **Proc Natl Acad USA**, v. 86, p. 3375-3378, 1989.

RUNNIE, I.; SALLEH, M. N.; MOHAMED, S.; HEAD, R. J.; ABEYWARDENA, M. Y. Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed. **J Ethnopharmacol**, v. 92, n. 2-3, p. 311-316, 2004.

RUAN, C-H.; DIXON, R. A. F.; WILLERSON, J. T. M.; RUAN, K-H. Prostacyclin for Pulmonary Arterial Hypertension. **Texas Heart Institute Journal**, v. 37, n. 4, p. 391-399, 2010.

RYU, S. Y.; OH, K.; KIM, Y. S.; LE, B. H. Antihypertensive, vasorelaxant and inotropic effects of an ethanolic extract of the roots of *Saururus chinensis* **J Ethnopharmacol**, v. 118, p. 284-289, 2008.

SALAMANCA, D. A.; KHALIL, R. A. Protein kinase C as specific targets for modulation of vascular smooth muscle function in hypertension. **Biochem Pharmacol**, v. 70, p. 1537-1547, 2005.

SANDERS, K. M: Invited review: mechanisms of calcium handling in smooth muscles. **J Appl Physiol**, v. 91, p. 1438-1449, 2001.

SAWAYER, D. B.; BYMASTER, P. F.; CALLIGARO, O. D.; FALCONE, J.; MITCH, H. C.; WARD, S. J.; WHITESITT, C.; SHANNON, E. H. Direct pharmacological comparison of the muscarinic receptors mediating relaxation and contraction in the rabbit thoracic aorta. **Gen Pharmacol**, v. 32, p. 445-452, 1999.

SBC (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA). **V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial**, São Paulo, 2006.

SBC. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA /SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO/ SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. Arq. Bras Cardiol**. v. 95, p. 1-51. 2010.

SCHULZ, R.; SMITH, J. A.; LEWIS, M. J.; MONCADA, S. Nitric oxide synthesis in endocardial cells of the pig. **Br J Pharmacol**, v. 104, p. 21-24, 1991.

SCHULZ, R.; NAVA, E.; MONCADA, S. Induction and potential biological relevance of a calcium-independent, nitric oxide synthase in the myocardium. **Br J Pharmacol**, v.105, p. 575-508, 1992.

SILVA, J. G.; SOUZA, I. A.; HIGINO, S. J. Antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* Linn. against multi-drug resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Bras J Pharmacogn**, v. 17, n. 4, p. 572-577. 2007.

SIEGEL, G.; SCHNALKE, F.; STOCK, G.; GROTE, J. Prostacyclin, endothelium-derived relaxing factor and vasodilatation. **Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res**, v. 19, p. 267-270, 1989.

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.

SINGH, B.; KALE, R. K.; RAO, A. R. Modulation of Antioxidant Potential in Liver of Mice by Kernel Oil of Cashew Nut (*Anacardium Occidentale*) and Its Lack of Tumour Promoting Ability in Dmba Induced Skin Papillomagenesis. **Indian J Exp Biol**; v. 42, n. 4, p. 373-377. 2004.

SMITH, W. L. Prostanoid biosynthesis and mechanism of action. **Am J Physiol**, v. 268: F181-F191, 1992.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. M.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento – Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, p. 291-320. 2003.

SOMLYO, A. P.; SOMLYO, A. V. Signal transduction by G-proteins, rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. **J Physiol**, v. 522, p. 177-185, 2000.

STENGEL, W. P.; GOMEZA, J.; WESS, J.; COHEN, L. M. M2 and M4 Receptor Knockout Mice: Muscarinic Receptor Function in Cardiac and Smooth Muscle *In Vitro*. **J Pharmacol Exper Ther**, v. 292, n. 3, p. 877-885, 2000.

SMITH, T. L.; HUTCHINS P. M. Anesthetic effects on hemodynamics of spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. **Am J Physiol**, v. 238, p. H539-H544, 1980.

TAKESHITA, A.; MARK A. L. Decreased venous distensibility in boderline hypertension. **Hypertension**, v. 1, p. 202-206, 1979.

TÉDONGA L, DZEUFUET P D D, DIMO T, et. al. Acute And Subchronic Toxicity of *Anacardium Occidentale* Linn (Anacardiaceae) Leaves Hexane Extract In Mice. **Afr. J. Trad. Cam**, v. 4, n. 2, p. 140-147. 2007.

THORNELOE, K. S.; NELSON, M. T. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 83, p. 215-242, 2005.

THULLIER Y, GIONO- BARBER P, INVENTOR; ALBERT ROLLAND S. A., , Assignee. Process For Obtaining An Anti-Hipertensive Principle From Of *Anacardium Occidentale* L. **United States Patent Us** 3,879, 547. 1975, Apr 22.

VAN GORP, A. W.; SCHENAU, D. S.; HOEKS, A. P.; BOUDIER, H. A.; DE MEY, J. G.; RENEMAN, R. S. In spontaneously hypertensive rats alterations changes in aortic wall properties precede development of hypertension. **Am J Physiol**, v. 278, p. H1241-H1247, 2000.

VANHOUTTE, P. M.; BOULANGER, C. M.; MOMBOULI, J. V. Endothelium-derived relaxing factors and converting enzyme inhibition. **Am J Cardiol**, v. 76, p. 3E-12E, 1995.  
WALDMAN, S. A.; MURAD, F. Cyclic GMP synthesis and function. **Pharmacol Rev**, v. 39, p. 163-196, 1987.

Vergara-Galicia, J.; Ortiz-Andrade, R.; Castillo-España, P.; Ibarra-Baraja, M.; Gallardo-Ortiz, I.; Villalobos-Molina, R.; Estrada-Soto, S. Antihypertensive and vasorelaxant activities of *Laelia autumnalis* are mainly through calcium channel blockade.

**Vascul Pharmacol**, v.49, n. 1, p. 26-31, 2008. WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**, v. 27, p. 201-206, 2003.

WHITE, S. W.; MCRITCHIE, R. J. Nasopharyngeal reflexes: Integrative analysis of evoked respiratory and cardiovascular effects. **Aust J Exp Biol Med Sci**, v. 5, p. 17-31, 1973.  
WICKMAN, K. CLAPHAM, D. E. Ion channel regulation by G proteins. **Physiol Rev**, v. 75, p. 865-885, 1995.

ZIMPFER, M.; MANDERS, W. T.; BARGER, A. C.; VATNER S. F. Pentobarbital alters compensatory neural and humoral mechanisms in response to hemorrhage. **Am J Physiol**, v. 243, p. H713-H721, 1982.

