

THAIS WALTER VIEIRA

Análise do mecanismo de ação do Alfa-Terpineol em células de músculo liso *A7r5*

Analysis of the mechanism of action of Alpha-Terpineol in smooth muscle *A7r5* cells

São Paulo

2022

THAIS WALTER VIEIRA

Análise do mecanismo de ação do Alfa-Terpineol em células de músculo liso *A7r5*

Analysis of the mechanism of action of Alpha-Terpineol in smooth muscle *A7r5* cells

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências, na área de Fisiologia Geral.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Rejane Fior Chadi

Coorientadora: Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira

São Paulo

2022

Walter Vieira, Thais  
Análise do mecanismo de ação do Alfa-Terpineol em  
células A7r5 / Thais Walter Vieira ; orientador  
Débora Rejane Fior Chadi ; coorientador Aldeídia  
Pereira de Oliveira -- São Paulo, 2022.  
86 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de  
Biociências da Universidade de São Paulo. Programa  
de Pós-Graduação em Fisiologia.

1. Hipertensão. 2. Alfa-terpineol. 3. Células  
A7r5. 4. Citotoxicidade. 5. Receptores A2a. I.  
Rejane Fior Chadi, Débora, orient. II. Pereira de  
Oliveira, Aldeídia, coorient. III. Título.

Comissão Julgadora:

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Profa. Dra. Débora Rejane Fior-Chadi

Orientadora

Aos meus pais, Giumar e Maria (*in memoriam*),  
a minha irmã, Thainá e ao meu namorado, Jonatha, com amor.

“O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia.”

(Robert Collier)

## AGRADECIMENTOS

Minha trajetória durante o mestrado não foi a das mais fáceis, foi repleta de muitos acontecimentos. Mas acredito que cada momento foi importante para contribuir com a minha formação. Portanto, agradeço a todos aqueles que me ajudaram a chegar até aqui.

Agradeço a minha família, meu pai Giumar, minha mãe Maria (*in memoriam*) e minha irmã Thainá por serem meu alicerce, por todo incentivo, amor e carinho.

Ao meu namorado, Jonatha, que está comigo desde o início dessa trajetória me dando força e apoio, nos momentos mais difíceis me ajudou imensamente, meu muito obrigado.

Ao pessoal do laboratório, que não estão mais aqui, mas foram cruciais no meu aprendizado, Lucas, Márcio e Ivisson. Me proporcionaram grandes trocas de ideias e deixaram o ambiente mais agradável, sempre vou lembrar com carinho dos nossos momentos de descontração.

Ao pessoal do laboratório de Fisiologia de Tripanossomatídeos, que sempre me ajudaram prontamente, em especial ao Ricardo e a Juliana, a quem eu sou profundamente grata a todos os ensinamentos, que nunca hesitaram em me ajudar, seja em troca de ideias, delineamento de experimentos, minha gratidão.

A todo o Departamento de Fisiologia que me deram respaldo para realizar os meus trabalhos.

A minha coorientadora Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira e a minha professora de graduação Dra. Elisangela Cláudia Alves Oliveira que viram em mim potencial, sem vocês eu não estaria aqui.

À minha orientadora Dra. Debora Rejane Fior-Chadi que mesmo sabendo das minhas limitações aceitou me orientar. Obrigado por se fazer sempre presente e não medir esforços para me ajudar, por todo o apoio, pelas palavras encorajadoras e por toda a paciência que teve comigo, quando muitas vezes eu não merecia. Suas lições e contribuições me fizeram melhorar como pessoa e profissional. Portanto, sou e sempre vou ser muito grata.

Mais uma vez, meus sinceros agradecimentos todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

E por fim, ao CNPq e a Fapesp pelo apoio financeiro.

## RESUMO

O Alfa-Terpineol é um monoterpeno promissor para estudos relacionados à hipertensão devido a sua ação na redução da pressão arterial em ratos hipertensos (SABINO et al., 2013). O presente trabalho tem como objetivo analisar os possíveis mecanismos de ação do Alfa-Terpineol em célula de músculo liso *A7r5* que possa explicar a ação hipotensora deste monoterpeno observada *in vivo*. Utilizamos cultura celular, análise de viabilidade celular e citotoxicidade do Alfa-Terpineol através do ensaio de MTT, extração de RNA e síntese de cDNA. Utilizamos o teste de viabilidade celular MTT nos tempos de 24, 48 e 72 horas de incubação. Os resultados demonstram que nos testes de citotoxicidade o Alfa-Terpineol promoveu morte celular somente na maior concentração  $10^{-2}$  M, nos períodos de 24 e 48 horas. No período de 72 horas houve uma redução na viabilidade celular nas concentrações de  $10^{-5}$  e  $10^{-3}$  M e morte celular na concentração de  $10^{-2}$  M. Para investigar as possíveis alterações no RNAm dos receptores de adenosina  $A_{2A}$  foi realizado a extração de RNA total, que foi analisado por PCR em tempo real. Foi observado um aumento estatisticamente significativo na expressão de RNAm dos receptores de adenosina  $A_{2A}$  no período de 6 horas para a concentração de Alfa-Terpineol de  $10^{-8}$  M. Foi utilizado o ensaio *In Cell Western Blotting* para verificar a expressão desse receptor nos períodos de 6, 12, 24, 48 e 72 horas, sendo que o Alfa-Terpineol reduziu significativamente a quantidade do receptor em todos os períodos testados. Nossos dados mostram que o Alfa-Terpineol pode exercer ação nas células *A7r5* envolvendo os receptores  $A_{2A}$  de adenosina. Este estudo abre novas perspectivas de estudo do mecanismo de ação do Alfa-Terpineol no músculo liso.

**Palavras-chave:** hipertensão; Alfa-Terpineol; células *A7r5*; citotoxicidade; receptores  $A_{2A}$ .

## **ABSTRACT**

*Alpha-Terpineol is a promising monoterpene for studies related to hypertension due to its action in reducing blood pressure in hypertensive rats (SABINO et al., 2013). The present work aims to analyze the possible mechanisms of action of Alpha-Terpineol in A7r5 smooth muscle cells that may explain the hypotensive action of this monoterpene observed in vivo. We used cell culture, cell viability analysis and Alpha-Terpineol cytotoxicity using the MTT assay, RNA extraction and cDNA synthesis. We used the MTT cell viability test at 24, 48 and 72 hours of incubation. Results demonstrate that in the cytotoxicity tests, alpha-terpineol promoted cell death only at the highest concentration of  $10^{-2}$  M, in the periods of 24 and 48 hours. Within 72 hours there was a reduction in cell viability at concentrations of  $10^{-5}$  and  $10^{-3}$  M and cell death at concentration of  $10^{-2}$  M. To investigate possible changes in mRNA of adenosine  $A_{2A}$  receptors, mRNA expression was evaluated by real-time PCR. A statistically significant increase in mRNA expression of adenosine  $A_{2A}$  receptors in A7r5 cells was observed following 6 hour-treatment with Alpha-Terpineol concentration of  $10^{-8}$  M. Using in Cell Western Blotting assay the expression of A2a receptor was significantly reduced by Alpha-Terpineol at all periods tested. Our data show that Alpha-Terpineol action on smooth muscle cells may involve adenosine  $A_{2A}$  receptors and open new perspectives for studying its mechanism of action in these cells.*

**Keywords:** *hypertension; Alpha-Terpineol; A7r5 cells; cytotoxicity;  $A_{2A}$  receptors.*



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. CONCLUSÃO.....	37
3. REFERÊNCIAS.....	38

## 1. INTRODUÇÃO

Segundo a organização mundial de saúde as doenças cardiovasculares (DCVs) matam cerca de 17,9 milhões de pessoas todos os anos, o equivalente a 31% de todas as mortes globais. A hipertensão arterial sistêmica, como um dos principais fatores de risco (HLUBÓKCA' *et al.*, 2002), se apresenta com grande prevalência aumentando a morbidade e mortalidade dessas doenças (MAYET & HUGHES, 2003; RIMOLDI *et al.*, 2014). Já foi demonstrado que os níveis de pressão arterial estão diretamente relacionados aos riscos relativos de acidente vascular cerebral e doença cardíaca, por exemplo (FINOCCHI & SASSOS, 2017). A patogênese da hipertensão e suas complicações inclui fatores mecânicos (aumento da pressão arterial (PA) e aumento da resistência vascular periférica) e fatores hormonais (sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), catecolaminas, etc.) (HLUBÓKCA' *et al.*, 2002).

A hipertensão é definida como a PA elevada acima do nível normal (ARORA *et al.*, 2013). Ela é classificada como primária (essencial) ou secundária. Cerca de 90-95% dos casos são denominados "hipertensão primária", que se referem à pressão arterial elevada sem causas médicas secundárias encontradas (CARRETERO & OPARIL, 2000). A hipertensão é geralmente resultado entre a predisposição genética, com fatores ambientais e de estilo de vida (BEEVERS, LIP & O'BRIEN, 2001).

A pressão sanguínea de um indivíduo depende da interação complexa do coração e vasos sanguíneos. Detectar e entender anormalidades nessa interação é a chave para compreender a fisiopatologia da hipertensão (KASAL & NEVES, 2011). Um sistema, dentro vários, envolvido na regulação cardiovascular é o sistema adenosinérgico. A adenosina é um nucleosídeo proveniente do catabolismo da adenosina trifosfato (ATP) e faz parte de um grupo de substâncias que agem como moduladoras endógenas, isto é, alteram a resposta celular a uma dada substância, possibilitando a regulação da atividade fisiológica em muitos órgãos, tecidos e células (DALY, 1982). Atualmente, são conhecidos quatro tipos de receptores para adenosina, acoplados à proteína G, clonados e farmacologicamente caracterizados: A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> e A<sub>3</sub> (FREDHOLM *et al.*, 2001).

Nosso laboratório vem, há algum tempo, estudando os receptores de adenosina e tem analisado sua grande importância sobre os processos de regulação cardiovascular. A adenosina possui ações tanto periféricas como centrais e muitas

vezes atua como um modulador de outros moduladores (SEBASTIÃO & RIBEIRO, 2009). Portanto, é fundamental elucidar as diferentes interações da adenosina e seus receptores para inferir sobre sua participação no estabelecimento de determinadas patologias, como as doenças cardiovasculares.

Os monoterpenos estão entre os principais constituintes dos óleos essenciais e são abundantemente encontrados em frutas cítricas, legumes, especiarias e ervas (TAN *et al.*, 2016). Estudos mostram que os monoterpenos possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias (DE SOUSA *et al.*, 2020), antitumorais (VANDRESEN *et al.*, 2014), antivirais (GAROZZO *et al.*; 2009) e antinociceptivas (DE SOUSA *et al.*, 2007). Além disso, existem vários estudos que abordam a baixa toxicidade *in vivo* e *in vitro*, demonstrando, assim, que estes compostos são substâncias promissoras para a farmacoterapia (CARVALHO *et al.*, 2019). Além das propriedades acima citadas, os monoterpenos também produzem efeitos significativos no sistema cardiovascular, promovendo, entre outras ações, o vasorelaxamento (AYDIN *et al.*, 2007; PEIXOTO-NEVES *et al.*, 2010).

O Alfa-Terpineol é um monoterpeno encontrado em várias espécies de plantas aromáticas geralmente cultivadas para fins culinários e medicinais (por exemplo, *Origanum vulgare L.* e *Ocimum canum Sims*) (TAN *et al.*, 2016). Estudos anteriores já mostraram que esse monoterpeno induz hipotensão em modelo de ratos hipertensos (MAGALHÃES *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2010; SABINO *et al.*, 2013). Apesar dessa relação estar estabelecida, não se sabe quais mecanismos estão envolvidos na indução da hipotensão pelo Alfa-Terpineol.

### **1.1. Hipertensão Arterial Sistêmica**

De acordo com as Diretrizes de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia (PRECOMA *et al.*, 2019) as DCVs são as principais causas de morte em todo o mundo, levando tanto ao aumento da morbidade quanto ao aumento do que denominam de DALY (*disability-adjusted life year*), um indicador onde são medidos anos perdidos de uma vida saudável seja de forma prematura, seja por anos vividos com deficiência ou alguma incapacidade. Dentre as DCVs temos a hipertensão arterial sistêmica (HAS) como a doença crônica mais prevalente do

mundo, afetando mais ou menos um terço da população adulta, cerca de 1,4 bilhão de pessoas (MANOSROI & WILLIAMS, 2019).

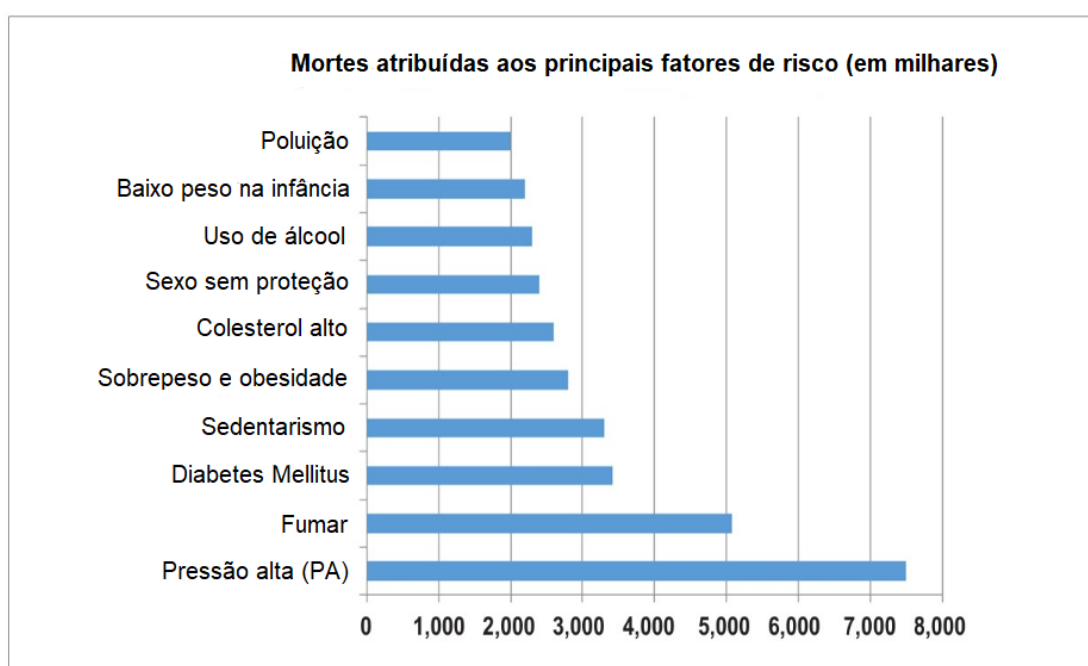
A relação entre hipertensão e doenças cardiovasculares é observada em ambos os sexos, em todas as faixas etárias e está presente nas principais doenças cardiovasculares, como, acidente vascular cerebral (isquêmico e hemorrágico), doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca e doença vascular periférica (PRECOMA *et al.*, 2019). Como mencionado, os números relativos à hipertensão têm aumentado em todas as idades e a projeção é para que se torne a doença não transmissível mais comum do mundo até 2025 (KEARNEY *et al.*, 2005). Porém, nem sempre foi assim, há quase 1 século a hipertensão era considerada incomum. As taxas de hipertensão na população adulta atingiam, no máximo, 10% na Europa e EUA e nas demais localidades no mundo não ultrapassavam 5% (JOHNSON *et al.*, 2005). Nos idosos, boa parte dos casos se deve ao envelhecimento natural que entre outros processos resulta em enrijecimento da vasculatura arterial pois altera mecanismos relacionados ao vasorelaxamento dependente do endotélio (YASUE *et al.*, 1990).

No Brasil, segundo Barreto e col., 2001, a prevalência de pessoas com HAS foi estimada entre 22,3 e 43,9%, e essa porcentagem se eleva para 50% entre as pessoas com faixa de idade de 60 a 69 anos e atinge 70% entre as pessoas que possuem 70 anos ou mais. Na infância e adolescência, conforme Precoma e col., 2019, a prevalência da HAS é de até 8,2%, sendo que a pré-hipertensão é observada em aproximadamente 2,2 a 3,5% da população. Essa porcentagem pode se elevar em adolescentes que apresentam cofatores como: sobrepeso e obesidade (24,8%), doença renal crônica (50%), diabetes mellitus (9,5%), estreitamento da aorta de (17 a 77%). Assim, o mais comum, nesse grupo, é que a HAS tenha uma causa definida, ou seja, a hipertensão secundária. Porém, cada vez mais há um aumento dos casos de hipertensão primária, onde não se pode determinar sua etiologia.

Assim, a HAS é considerada como um dos principais fatores de risco para as DCVs e a mortalidade global contribuindo com uma estimativa de 9,4 milhões de mortes em 2015, passando de 10,4 milhões em 2017 (PRECOMA *et al.*, 2019) A hipertensão é caracterizada por uma elevação mantida da PA e, segundo Forouzanfar e col., 2017, estimativas baseadas em pesquisas internacionais, em 2015, 3,5 bilhões

de adultos, no mundo, apresentavam a pressão arterial sistólica (PAS) entre 110-115 mmHg, valores acima dos ideais, e 874 milhões apresentavam a PAS maior que 140 mmHg, valor considerado patológico. A PA ainda é vista como o principal fator de risco individual da carga global de doenças e mortalidade de todas as causas (Figura 01) (PRECOMA *et al.*, 2019).

**Figura 01** – Mortes atribuídas aos principais fatores de risco para a carga global de doenças e mortalidade



adaptado da Diretriz de Prevenção Cardiovascular Atualizada da Sociedade Brasileira de Cardiologia (Precoma *et al.*, 2019).

A hipertensão foi inicialmente identificada por Mohamed (1874), que aferiu a PA da população através de um dispositivo que podia medir a tensão do pulso e constatou que algumas pessoas apresentavam elevação na pressão mesmo na ausência de doenças que eram associadas a essa condição, como a doença renal. Porém, somente em 1960, é que as autoridades médicas passaram a considerar a hipertensão um importante fator de risco para diversas doenças cardiovasculares e que, portanto, deveria ser tratada (JOHNSON *et al.*, 2015).

A HAS é uma condição clínica caracterizada por uma elevação da PA sustentada nas artérias, consistindo na razão da pressão sistólica pela pressão diastólica (OPARIL *et al.*, 2018). Relembrando, a sístole se refere ao momento em que o coração se contrai, logo a PAS é identificada como a pressão exercida pelo sangue nas paredes das artérias; e a diástole é o termo utilizado para identificar o momento seguinte a sístole, o relaxamento. Conforme descrito na tabela 01, pessoas com níveis sistólicos em 140mmHg e níveis diastólicos em 90 mmHg são consideradas hipertensas.

A hipertensão é considerada uma condição multifatorial já que vários aspectos podem estar ligados ao seu desenvolvimento e muitas vezes pode estar relacionado a origens diferentes. Existe uma parte da população que apresenta a hipertensão secundária com a causa conhecida e a grande maioria das pessoas apresentam a hipertensão essencial ou primária, onde não há uma causa conhecida, na verdade sua etiologia é uma junção de condições genéticas e ambientais (OPARIL *et al.*, 2018). As condições ambientais estão relacionadas ao estilo de vida, como sedentarismo, obesidade, estresse, dieta com consumo excessivo de sal e níveis elevados de colesterol, uso excessivo de bebidas alcoólicas (PRECOMA *et al.*, 2019), além das condições ambientais ou comorbidades que podem estar associadas com a HAS, como o diabetes mellitus (SABUNCU *et al.*, 2021).

**Tabela 01:** Classificação da hipertensão arterial. A hipertensão é determinada quando PAS  $\geq 140$  mmHg e PAD  $< 90$  mmHg, e deve ser classificada nos estágios 1, 2 ou 3.

Classificação	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
<b>Normal</b>	$\leq 120$	$\leq 80$
<b>Pré-hipertensão</b>	121 – 139	81 – 89
<b>Hipertensão estágio 1</b>	140 – 159	90 – 99
<b>Hipertensão estágio 2</b>	160 – 179	100 – 109
<b>Hipertensão estágio 3</b>	$\geq 180$	$\geq 110$

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica – adaptado da Diretriz de Prevenção Cardiovascular Atualizada da Sociedade Brasileira de Cardiologia (PRECOMA et al., 2019).

A hipertensão essencial se apresenta como um importante fator de risco para várias DCVs (GEORGAKIS *et al.*, 2020), como, insuficiência cardíaca, doença arterial coronariana, além de se constituir como um fator que aumenta a predisposição a insuficiência renal, doença vascular periférica e outras condições médicas (WEIR *et al.*, 2015). Possui uma relação já bem estabelecida com o SRAA, o balanço entre água e sal e o sistema nervoso simpático (SNS) (JAFRI & ORMISTON, 2017). Pacientes hipertensos apresentaram elevação anormal nos níveis sanguíneos de citocinas inflamatórias, como, IL-6, IL-21 (HASHIMOTO-KATAOCA *et al.*, 2015), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (BANASZAK *et al.*, 2019). Desde que a hipertensão foi descoberta, muitos avanços na compreensão dos processos e mecanismos envolvidos já foram alcançados, como veremos no próximo tópico.

### 1.1.1. Fisiopatologia/Mecanismos da Hipertensão Arterial

O sistema cardiovascular é responsável pela manutenção da perfusão sanguínea tecidual e para que haja o fluxo adequado a todos os territórios do organismo, a pressão arterial deve ser muito bem regulada, quando isso não acontece surgem as patologias, como a hipertensão arterial sistêmica (ANTUNES & RIBEIRO, 2017). A PA é tida como a força exercida pelo sangue contra os vasos sanguíneos, sendo determinada por parâmetros, como, o débito cardíaco (DC) e a RVP, lembrando

que o débito cardíaco é o resultado do produto do volume sistólico pela frequência cardíaca ( $DC = FC \times VS$ ). Os mecanismos envolvidos na manutenção dos níveis pressóricos basais são diversos e envolvem a interação de mecanismos neuro-humorais, com vários fatores, tal qual o SRAA e o SNS (OPARIL *et al.*, 2018), logo quaisquer alterações nesses sistemas podem acarretar em aumentos ou quedas na pressão (PETRAMALA *et al.*, 2017).

Seguindo essa linha, a fisiopatologia da hipertensão é bem complexa e multifacetada. A hipertensão primária está relacionada ao fato de algumas pessoas nascerem com uma predisposição genética e, portanto, possuem um risco aumentado de desenvolver a hipertensão (LUFT *et al.*, 2001). Essa base genética associada a influência de fatores ambientais, onde os hábitos do indivíduo como a alta ingestão de sal ( $Na^+$ ) (BLANCO-METZLER *et al.*, 2017), o consumo excessivo de álcool, o sedentarismo (CORNELISSEN *et al.*, 2010), a falta de prática de exercícios físicos, também colaboram para esse desenvolvimento. De acordo com Martínez-Sámano e col., 2018, pacientes com HAS apresentam aumento na atividade simpática, aumento do tônus vascular, do sistema RAA, enrijecimento na vasculatura arterial, demonstrando mais uma vez sua natureza complexa.

Para que a pressão sanguínea fique dentro dos limites considerados ótimos, os mecanismos regulatórios atuam em fatores que influenciam essa pressão como, por exemplo, o volume sanguíneo, a resistência vascular e a frequência cardíaca (ANTUNES & RIBEIRO, 2017). O controle e a regulação do sistema cardiovascular são realizados por um conjunto de mecanismos de controle neural que atuam a curto prazo e por mecanismos de controle hormonal e renal que agem a médio e longo prazo.

#### **1.1.1.1. Mecanismos de regulação a curto prazo**

O controle neural desencadeia respostas de curto prazo para regulação da pressão arterial. As variações de pressão são detectadas e enviadas aos centros neuronais do sistema nervoso central pelas vias aferentes onde serão integradas e as respostas proporcionais ao estímulo dado serão enviadas aos órgãos efetores, como coração, vasculatura e rins (ANTUNES & RIBEIRO, 2017).



O barorreflexo é o principal mecanismo responsável pela regulação da PA a cada batimento cardíaco. As variações de pressão são detectadas por barorreceptores que são denominados mecanorreceptores pois respondem a estímulos mecânicos ou de pressão, estão localizados no arco aórtico e na bifurcação do seio carotídeo, regiões de grande pressão sanguínea (ANTUNES & RIBEIRO, 2017; OPARIL *et al.*, 2018). Esses sensores detectam distensões na musculatura vascular em situações de aumentos rápidos e intensos na pressão arterial (YORUK, BISOGNANO & GASSLER, 2016). Os potenciais de ação gerados nos barorreceptores chegam ao sistema nervoso central por meio de ramos aferentes, nervo vago e o glossofaríngeo. No bulbo, uma região do tronco encefálico, ocorre a integração entre os núcleos neuronais do sistema autonômico simpático e parassimpático, e as consequentes respostas visando a redução dos níveis pressóricos (ANTUNES & RIBEIRO, 2017). Os principais núcleos eferentes simpáticos são: núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), órgãos circumventriculares (CVOs) e o núcleo do trato solitário (NTS) (WINKLESWSKI *et al.*, 2015), sendo o bulbo ventrolateral rostral (BVLr) o principal centro vasomotor simpático para manutenção do tônus vascular basal (HIROOKA *et al.*, 2010).

A atividade do sistema autonômico simpático é, geralmente, mais ativada em pessoas com insuficiência cardíaca, hipertensão, obesidade e síndrome metabólica (GUYENET, 2006; GRASSI *et al.*, 2007). Logo, elevações crônicas da atividade do SNS desempenham um importante papel na patogênese da hipertensão (HURR & YOUNG, 2016; BARRETT *et al.*, 2003). A estimulação do sistema simpático resulta em aumento da pressão sanguínea, pois possui atuação direta nas respostas dos órgãos efetores cardiovasculares resultando em aumento do débito cardíaco por aumentar a capacidade de bombeamento do coração, da resistência vascular periférica e da retenção de líquidos (aumento no volume circulante) (WINKLESWSKI *et al.*, 2015).

A ativação do sistema nervoso simpático possui aumentos diferenciais nos órgãos alvos dependendo do estágio de desenvolvimento da hipertensão (HURR & YOUNG, 2016), assim, apesar de todo o conhecimento presente na literatura, é necessário explorar a integração entre o fluxo simpático e suas ações no sistema cardiovascular via órgãos efetores para compreender melhor sua contribuição específica no desenvolvimento de DCVs.

### **1.1.1.2. Mecanismos de regulação a médio e longo prazo**

Além dos mecanismos neurais vistos, a regulação da pressão sanguínea conta também com mecanismos de controle de médio e a longo prazo. Um desses mecanismos de regulação envolve a liberação de catecolaminas pela estimulação simpática na medula adrenal. Em respostas a quedas da PA há a liberação dessas catecolaminas, que desempenham um importante papel na função cardiovascular. A estimulação dos receptores beta-adrenérgicos pela epinefrina resulta em vasodilatação nos vasos sanguíneos. No coração, a norepinefrina se liga aos receptores do subtipo beta aumentando a frequência cardíaca e a força de contração; e nos vasos sanguíneos, a norepinefrina promove o aumento da PA ao se ligar nos receptores alfa-adrenérgicos que aumentam a RVP (ANTUNES & RIBEIRO, 2017).

Outro processo de regulação da pressão arterial envolve a liberação da vasopressina (VP) pela neuro-hipófise em situações de aumento na osmolaridade plasmática, uma variável que indica desidratação no organismo pelo aumento da concentração de sódio essa. Essa variação é percebida por osmorreceptores que estão presentes no hipotálamo, mais precisamente nos núcleos do PVN e supraóptico (SON) que são os núcleos neuronais que sintetizam a VP. A VP também é liberada em situações de queda no volume sanguíneo e/ou queda mantida da PA. Seus efeitos dependem de qual receptor ele vai se ligar,  $V_1$  é um receptor presente na musculatura lisa dos vasos sanguíneos; ou  $V_2$  um receptor renal. Ao se ligar aos receptores  $V_1$  promove aumento da RVP, ao se ligar nos receptores  $V_2$  promove uma cascata de mecanismos que resulta na reabsorção de água para aumentar o volume circulante e diminuir a osmolaridade plasmática e aumentar a PA (ANTUNES & RIBEIRO, 2017).

Segundo Johnson e col., 2015, as primeiras evidências que apontaram o papel dos rins na patogênese da HAS foram provenientes de estudos que demonstraram que a pessoa hipertensa conseguia reduzir a PA fazendo dietas com restrição de sal, além do fato de a hidroclorotiazida um medicamento da classe dos diuréticos resultar na redução da pressão sanguínea.

O sistema renal participa do controle da PA a longo prazo, seus mecanismos regulatórios estão envolvidos no controle do volume sanguíneo circulante e consequentemente da pressão sanguínea, além de estar envolvido em outros

processos celulares como o metabolismo da glicose, a síntese de hormônios e a regulação do pH (ANTUNES & RIBEIRO, 2017).

O sódio é um regulador do volume sanguíneo circulante e em altas concentrações promove a retenção de líquidos resultando no aumento da PA. Logo, altas ingestões de sal se tornam um desafio fisiológico para o organismo, pois é necessário uma série de mecanismos compensatórios para a manutenção da pressão sanguínea, como o aumento da síntese e liberação de NO pelo endotélio visando a redução da resistência periférica total (OPARIL *et al.*, 2018).

Assim, dietas ricas em sal são consideradas fator de risco para a hipertensão, pois podem causar alterações do volume extracelular levando a alterações cardiovasculares a curto e a longo prazo. Devido a isso, há um interesse por mecanismos locais que possam afetar a função renal, e um deles é o SRAA que, como veremos adiante, também é considerado um dos fatores que contribuem para a gênese da hipertensão (OYARZÚN *et al.*, 2017).

A renina, enzima armazenada e liberada pelas células justaglomerulares, atua na clivagem do angiotensinogênio, um peptídeo sintetizado e liberado pelo fígado. O produto dessa ação é a transformação em angiotensina I (ANG I) que sofre a ação no vaso da enzima conversora de angiotensina (ECA) que está presente em todo o endotélio vascular do organismo formando a angiotensina II (ANG II). A renina é fundamental para o SRAA, pois além de dar o *start* na reação sua quantidade também constitui uma etapa limitante nesse processo de produção da ANG II. A ANG II tem uma participação crítica na regulação da PA (ANTUNES & RIBEIRO, 2018; OYARZÚN *et al.*, 2017) e uma de suas ações é atuar na indução de vasoconstrição ao entrar na corrente sanguínea e se ligar ao receptor de angiotensina 1 (AT<sub>1</sub>) na musculatura vascular lisa. Assim, o SRAA e a ANG II exercem efeitos importantes na patogênese da HAS: medeia o balanço de sódio e água, vasoconstrição, disfunção endotelial e lesão vascular, pois promove hipertrofia e remodelamento dos vasos (OPARIL *et al.*, 2018).

### 1.1.1.3. Mecanismos locais de regulação vascular

A hipertensão é considerada uma condição das pequenas artérias de resistência (YUGAR-TOLEDO *et al.*, 2015). O tônus vascular é modulado por mecanismos centrais (GUYENET, 2006), periféricos (WIERUSZEWSKI *et al.*, 2021) e mecanismos locais (PANZA *et al.*, 1995). Os processos regulatórios do tônus vascular já são bem conhecidos na literatura e incluem respostas contráteis ou vasodilatadoras dependendo dos fatores liberados pelas células vasculares (MCCARTHY *et al.*, 2019). Veremos as alterações patológicas que ocorrem no endotélio vascular, nas células do músculo liso vascular (VSMCs), nas células da adventícia e do tecido adiposo perivascular (PVAT).

As ações do endotélio vascular são permeadas por diversas substâncias vasorreguladoras: prostaciclina, fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio (EDFH), NO e bradicinina são as principais substâncias vasodilatadoras; e a endotelina 1(ET-1), ANG II, tromboxano A2, prostaglandinas são as principais substâncias vasoconstritoras (YUGAR-TOLEDO *et al.*, 2015).

O endotélio se constitui como essencial para a manutenção da homeostase cardiocirculatória sendo o responsável por comandar o tônus em todo o sistema vascular (YUGAR-TOLEDO *et al.*, 2015). Em condições normais, atua como uma barreira física entre o sangue e o espaço vascular e na degradação de moléculas pró-contráteis, pró-inflamatórias e pró-oxidativas (MCCARTHY *et al.*, 2019); possui atividade antitrombótica inibindo a ativação e agregação plaquetária e interagindo com fatores de adesão e substâncias trombogênicas (BECKER *et al.*, 2000).

A disfunção do endotélio é uma condição na qual os mecanismos regulatórios não funcionam de forma adequada, há uma perda na sua funcionalidade, o que contribui para a gênese e/ou manutenção de DCVs (MCCARTHY *et al.*, 2019), por exemplo, falamos que em condições normais, o endotélio atua na degradação de moléculas pró-inflamatórias, um endotélio disfuncional tem essa função reduzida ou ausente e, assim, resulta no aumento da permeabilidade não conseguindo manter a integridade do vaso (SUN *et al.*, 2012). Logo, a disfunção endotelial está relacionada ao desequilíbrio entre mecanismos vasodilatadores e mecanismos vasoconstritores influenciando diretamente no tônus vascular, sendo caracterizada por qualquer alteração na resposta vasomotora, proliferação celular, agregação de plaquetas e

inflamação na parede vascular (YUGAR-TOLEDO *et al.*, 2015; MARTÍNEZ-SÁMANO *et al.*, 2018).

A HAS interrompe as funções das células endoteliais levando a uma redução da regulação do fluxo microvascular e na capacidade dessas células de exercer suas funções vasomotoras (BAGHER & SEGAL, 2011), tanto que indivíduos normotensos, geralmente, apresentam uma dominância do sistema vasodilatador, pois possuem um endotélio vascular saudável, enquanto que indivíduos hipertensos possuem uma predominância do sistema vasoconstritor (MARTÍNEZ-SÁMANO *et al.*, 2018).

As células vasculares do músculo liso desempenham uma importantíssima função na regulação vascular da PA, e devido as suas características são determinantes na resistência vascular periférica total. Alguns dos mecanismos que regulam a resposta contrátil do musculo liso vascular são modulados pela inervação do sistema nervoso autonômico simpático (MCCARTHY *et al.*, 2019).

A actina e a miosina são as unidades de contratilidade e força das VSMCs (DE LANEROLLE & STULL, 1980). Os íons de cálcio são fatores cruciais, pois eles iniciam a interação entre essas duas unidades, além disso a contração do vaso é mantida pelo aumento da entrada de cálcio extracelular e pelo aumento do cálcio intracelular armazenado na célula (MORGAN, PAPAGEORGIOU & JIANG, 1989, MCCARTHY *et al.*; 2019). Então, problemas na regulação e sinalização de cálcio, como, aumento da entrada de cálcio na célula, aumento do armazenamento citosólico ou diminuição da eliminação de cálcio, estão associados a vasoconstrição (GOULOPOULOU & WEBB, 2014).

Aumentos prolongados da RPT podem levar a remodelamento estrutural da camada média arterial. Temos dois tipos, a remodelação interna que é bem comum em pessoas hipertensivas, onde ocorre uma diminuição da área média do vaso pelo espessamento da parede; e a remodelação externa, geralmente, previne e antecede a hipertrofia vascular, as células se reposicionam aumentando o diâmetro do vaso em virtude de diminuir o estresse sofrido pelo aumento da PA (IADECOLA *et al.*, 2016).

E, como falado no início, a adventícia também tem seu papel na regulação do tônus vascular, os fibroblastos em resposta a estímulos hipertensivos podem se ativar e se diferenciar em miofibroblastos que é um perfil celular produtor de colágeno, que

expressa actina, além de secretar moléculas que estão envolvidas no recrutamento de monócitos e linfócitos, como as quimiocinas e citocinas (BURKE *et al.*, 2009). Nesse processo de recrutamento, a adventícia pode entrar em um ciclo pró-inflamatório contínuo que resulta em um enrijecimento arterial visando a normalização do estresse sofrido na parede vascular pela pressão sanguínea (SCHULZE-BAUER & HOLZAPFEL, 2002).

O PVAT é constituído por adipócitos, células da vasculatura, fibroblastos, células imunes e afeta significativamente a contratilidade do músculo liso vascular liberando fatores vasodilatadores como, as leptinas, as adiponectinas, o NO e o sulfeto de hidrogênio (MCCARTHY *et al.*, 2019). Em condições patológicas, pode hospedar células imunes de forma exacerbada se tornando disfuncional e inflamado (GUZIK *et al.*, 2007).

A HAS leva a rigidez das grandes artérias, pois também induz a deposição de colágeno, fibronectina e fragmentos de elastina na parede vascular, causa alterações em pequenas artérias e arteríolas, caracterizado pela perda de células musculares, espessamento da parede e conseqüente redução do lúmen vascular, podendo levar até a ruptura desses vasos, esses processos são característicos e antevêm eventos cerebrovasculares, resultando em doenças como o acidente vascular cerebral (IADECOLA *et al.*, 2016).

### **1.1.2. Tratamento da hipertensão arterial**

As taxas de sucesso no tratamento da HAS não são altas, na verdade elas são bem modestas, mostrando a grande importância de se compreender melhor os mecanismos envolvidos em cada paciente para o desenvolvimento de terapias mais eficientes (MANOSROI & WILLIAMS, 2018). Além disso, várias pessoas hipertensas não tem ciência da sua PA elevada, quando tem não está em tratamento ou trata de forma inadequada (OPARIL *et al.*, 2018).

Existem algumas características inerentes a hipertensão que são importantes ao abordar esse tema e que faz com que ele seja, em certo ponto, um dilema. Por exemplo, o fato de que a grande maioria das pessoas com hipertensão não tem causa definida; as formas secundárias da hipertensão estão relacionadas a um ou mais

sistemas endócrinos, e, por fim, há um forte componente hereditário no aparecimento da hipertensão (LUFT *et al.*, 2001; MANOSROI & WILLIAMS, 2018). Portanto, quando falamos em tratamento da HAS temos que levar em consideração:

- A prevenção é o melhor tratamento, já que muito se discute sobre os benefícios que a mudança no estilo de vida acarreta, e
- O diagnóstico precoce é crucial.

Há muito tempo, as mudanças no estilo de vida que fazem parte das chamadas intervenções não farmacológicas já demonstraram sua eficácia tanto na redução da pressão arterial quanto na redução do risco de DCVs (WHELTON *et al.*, 1997). Dentre esses tratamentos não medicamentosos que se mostraram ser tão efetivos temos o controle de peso, dietas com menos consumo de sal, cessação do tabagismo, redução do consumo de álcool, aumento na prática de exercícios físicos e controle de estresse (PRECOMA *et al.*, 2019), e a mudança no estilo de vida é a melhor forma de implementá-los (Tabela 02).

O diagnóstico precoce é essencial, pois como já vimos a HAS aumenta o risco de DCVs, já que pacientes hipertensos sem tratamento podem apresentar danos em vários órgãos (BASULI *et al.*; 2021). Na grande maioria das vezes ela é assintomática e é necessário manter uma regularidade das mensurações da PA no consultório médico onde também será avaliado quais possíveis fatores de risco para indicação de um tratamento mais ajustado (OPARIL *et al.*, 2018).

**Tabela 02:** Intervenções não farmacológicas e seus efeitos na PA

Intervenções	Redução aproximada na PAS/PAD (mmHg)
<b>Controle peso corporal</b>	20 a 30% de redução da PA para cada 5% de perda de peso
<b>Redução na ingestão de sódio</b>	Redução de 2 a 7 mmHg na PAS e de 1 a 3 mmHg na PAD
<b>Redução do consumo de álcool</b>	Redução de 3,31/2,04 mmHg com a redução de 3-6 para 1-2 doses/dia
<b>Exercícios físicos diários</b>	3,6/5,4 mmHg

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica – adaptado de 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão arterial, 2016.

Com relação às intervenções farmacológicas existem diversas classes de medicamentos disponíveis, porém é relativamente normal pacientes com HAS não seguirem o tratamento, conforme a prescrição médica, seja pela quantidade de comprimidos ou pelos custos do tratamento (PIMENTA *et al.*, 2007). Essa falta de adesão contribui para o desenvolvimento de uma forma da hipertensão mais resistente ao tratamento, que é definida quando o paciente necessita de uma combinação de três classes de fármacos anti-hipertensivos e mesmo assim não conseguem manter a PA controlada (OSTERBERG & BLASCHKE, 2005). Os efeitos colaterais também são um dos motivos que resultam nessa não adesão ou adesão variável (TOYOSHIMA, TAKAHASHI & AKERA, 1997), sendo necessário intervenções terapêuticas eficazes e com melhor tolerância.

Novas abordagens farmacológicas são necessárias para melhorar o controle da PA e, claro, a resposta dos pacientes aos medicamentos também são vitais no desenvolvimento dessas novas abordagens (LOBO *et al.*, 2017). Conseqüentemente, avaliar a adesão dos pacientes hipertensos é uma etapa importante do tratamento para orientar melhores intervenções farmacológicas e que sejam mais específicas (LAUDER *et al.*, 2020).

O tratamento da HAS tem como propósito impedir a progressão da doença ou complicações oriundas, proporcionar qualidade de vida a essas pessoas, reduzindo a morbimortalidade (MARTÍNEZ-SÁMANO *et al.*, 2018). Os medicamentos disponíveis no mercado estão agrupados em classes conforme seus mecanismos de ação. Os diuréticos (DIU) possuem ação natriurética, normaliza a volemia sanguínea que resulta na redução da resistência vascular periférica. Os agentes de ação central são alfa-agonistas, agem estimulando os receptores adrenérgicos alfa-2 que estão envolvidos em mecanismos simpatoinibitórios, logo essa classe de medicamentos atua diminuindo as atividades simpáticas e o reflexo dos barorreceptores. Os betabloqueadores (BB) promovem uma diminuição inicial do débito cardíaco, da secreção de renina e da liberação de catecolaminas nas sinapses nervosas. Os alfa-bloqueadores atuam inibindo o sistema simpático, são antagonistas dos receptores adrenérgicos alfa-1 e, portanto, reduzem a RVP (PRECOMA *et al.*; 2019).

Os vasodilatadores diretos como o próprio nome diz atuam relaxando a musculatura lisa vascular reduzindo a RVP. Os bloqueadores dos canais de cálcio



(BCC) são medicamentos que bloqueiam os canais de cálcio da membrana de células musculares lisas de arteríolas, levando a uma conseqüente redução de cálcio no interior delas e, assim, a redução da RVP. Os Inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) atuam no sistema RAA ao inibir a enzima conversora de angiotensina I em angiotensina II. Inibidores diretos da renina agem no intuito de diminuir a formação de angiotensina II pela ausência de renina. As últimas 3 classes atuam impedindo ações provenientes da angiotensina II que seriam vasoconstritoras (PRECOMA *et al.*; 2019).

Além dessas classes de medicamentos também existem intervenções farmacológicas que utilizam a adenosina e seus agonistas no tratamento ou diagnóstico de DCVs. Inclusive, a adenosina (Adenocard) é recomendada como uma terapia segura e eficaz nas manobras iniciais da taquicardia. Sua aplicação intravenosa é recomendada em taquicardias regulares caso as manobras vagais falhem e também em casos de diagnóstico (NEUMAR *et al.*, 2010). O Tecadenoson é agonista seletivo do receptor de adenosina A<sub>1</sub> que demonstrou ser eficaz para taquicardia supraventricular sustentada, a convertendo para o ritmo sinusal e também parece estar associado a uma incidência de fibrilação atrial (PETERMAN & SANOSKI, 2005).

Vários estudos têm sido desenvolvidos buscando agonistas para os receptores de adenosina A<sub>1</sub> mais seletivos e eficazes pois muitas vezes ocorrem efeitos farmacológicos indesejados com agonistas totais e uma vez que a ativação desses receptores inibe uma gama de patologias miocárdicas (BOREA *et al.*, 2018). No estudo de Meibom e col., 2017, o Neladenosina, um agonista parcial do receptor de adenosina A<sub>1</sub>, demonstrou um importante efeito de cardioproteção sem os efeitos adversos, como por exemplo, indução a bradicardia.

## **1.2. Sistema Adenosinérgico**

Há muito tempo, a adenosina tem sido considerada uma molécula crucial na homeostasia corporal. Foi inicialmente identificada como uma molécula bioativa na década de 30, quando observaram que um composto de adenina era capaz de reduzir o ritmo e a frequência cardíaca em extratos do coração (OYARZÚN *et al.*, 2017). Hoje

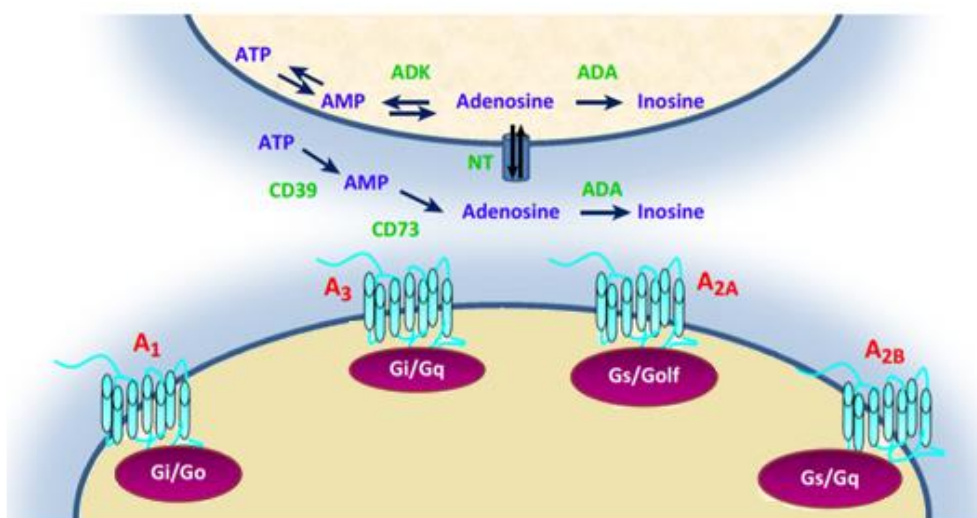
sabe-se que, em determinadas situações, a adenosina atua como um regulador celular, sendo uma molécula que está envolvida em diversos mecanismos celulares, incluindo a atividade cerebral e a função vascular (BOREA *et al.*, 2018).

A adenosina é um nucleosídeo endógeno catabólico de adenosina trifosfato (ATP), suas principais ações estão relacionadas a correção do balanço entre a oferta e demanda de oxigênio e a disponibilidade de energia para as células (SOBREVIA & FREDHOLM, 2017). Em ambientes hipóxicos a adenosina é, então, liberada para alterar a resposta vascular às principais moléculas pró-angiogênicas (URIBE *et al.*, 2017). Portanto, são moléculas chave para manter as condições fisiológicas ideais para a função celular (BOREA *et al.*, 2016;). Suas ações são moduladas mediante sua interação com os receptores de adenosina A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> e A<sub>3</sub>, que pertencem a família de receptores com sete domínios transmembrânicos acoplados à proteína G e tem a adenosina como principal agonista (SOBREVIA & FREDHOLM, 2017). Os receptores citados possuem diferentes afinidades com a adenosina e atuam inibindo, por meio da ativação dos subtipos A<sub>1</sub> e A<sub>3</sub>, ou estimulando, por meio da ativação dos subtipos A<sub>2A</sub> e A<sub>2B</sub>, a adenilil ciclase (AC) que resulta em um aumento ou diminuição, respectivamente, do nível intracelular de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) (FREDHOLM *et al.*, 2001; BOREA *et al.*, 2016).

A adenosina pode ser sintetizada intracelularmente e no espaço extracelular através da quebra de moléculas macroenergéticas, essa síntese é estritamente dependente do estado metabólico da célula. O principal mecanismo responsável pela geração extracelular de adenosina envolve a quebra rápida dessas moléculas, onde o ATP será convertido em AMP pela ação da ectonucleosídeo trifosfato difosfohidrolase (CD39), e então o recém-formado AMP será convertido em adenosina através da ação da enzima ecto-5'-ectonucleotidase (CD73). Quando gerada na célula, a adenosina pode ser transportada através da membrana para o espaço extracelular, conforme necessidade, pelos transportadores de nucleosídeos (NTs). Logo, a biodisponibilidade de adenosina é determinada pelos níveis de concentração extracelular, dos NTs e depende também da ação das enzimas adenosina deaminase (ADA) que degrada a adenosina em inosina e adenosina quinase (ADK) que fosforila a adenosina em AMP (BOREA *et al.*, 2016; OYARZÚN *et al.*, 2017) (Figura 02). A adenosina também pode ser sintetizada para mediar respostas vasculares nas arteríolas aferentes, nesse caso o ATP liberado pelas células da macula densa será

degradado em adenosina (SCHNERMANN, 2011). A estimulação do receptor de adenosina A<sub>1</sub> ocasiona na inibição da liberação de renina pelas células justaglomerulares e a estimulação do receptor A<sub>2A</sub> resulta em vasodilatação (OYARZÚN *et al.*, 2017).

**Figura 02:** Vias de síntese e degradação da adenosina



ATP: adenosina trifosfato, AMP: adenosina monofosfato, ADK: adenosina quinase, ADA: adenosina deaminase, NT: transportador de nucleosídeo – adaptado de Borea *et al.*, 2016.

A adenosina está envolvida em uma infinidade de mecanismos regulatórios de vários tecidos e órgãos. Seus receptores estão amplamente distribuídos pelo corpo, nos olhos, ossos, articulações, pele, no sistema nervoso, cardiovascular, imunológico, respiratório e urológico, medeiam diversas funções celulares (HO, LOW & ROSE'MEYER, 2016; BOREA *et al.*, 2018) e estão envolvidos na etiologia de doenças, como, obesidade, câncer, dislipidemias, DCVs e disfunção renal crônica onde uma concentração elevada de adenosina está associada ao dano renal (SOBREVIA & FREDHOLM, 2017). Como dito anteriormente, a adenosina atua em situações de hipóxia ou isquemia restabelecendo o balanço de oxigênio celular e o suprimento de sangue, e, além disso, é uma molécula anti-inflamatória, atua na preservação do tecido evitando danos celulares e na estimulação da angiogênese promovendo liberação de fatores de crescimento pró-angiogênicos e citocinas via

ativação dos receptores de subtipos A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> e A<sub>3</sub>. Portanto, é possível inferir que a adenosina desempenha controle de várias atividades, sendo uma molécula de extrema importância para a homeostase corporal (BOREA *et al.*, 2016; CLARK *et al.*, 2007). Ainda, de acordo com Clark e col. (2007), o subtipo A<sub>1</sub> induziu a liberação de fatores de crescimento endotelial (VEGF) em cultura de monócitos.

No sistema cardiovascular a adenosina exerce um papel de extrema importância atuando como uma substância vasodilatadora. Seus receptores estão distribuídos pelos vasos sanguíneos e coração, está envolvida na remodelação de vasos, proliferação celular e respostas inflamatórias que são processos presentes em várias doenças cardiovasculares (HO, LOW & ROSE' MEYER, 2016). No coração, em situações de baixo teor de oxigênio, há uma elevação na concentração extracelular de adenosina nos cardiomiócitos. Visando a restauração desse equilíbrio a adenosina atua modificando a contratilidade do coração através da modulação da ação adrenérgica, na diminuição da frequência cardíaca, na vasodilatação de artérias coronarianas e age alterando a responsividade adrenérgica (MCLNTOSH & LASLEY, 2012; BOREA *et al.*, 2018).

A adenosina induz vasodilatação dependente e independente do endotélio via ativação do receptor de adenosina A<sub>2A</sub>. Uma das principais ações da adenosina no sistema cardiovascular está relacionado a manutenção do equilíbrio entre oferta e suprimento de oxigênio no miocárdio. A adenosina tem um efeito indireto no sistema cardiovascular em virtude de seus efeitos no sistema nervoso autônomo (TABRIZCHI & BEDI, 2011), onde esse balanço entre oferta e demanda de oxigênio ocorre através da antagonização dos efeitos das catecolaminas ao, conforme necessidade, induzir vasodilatação coronariana ou diminuição da contratilidade do miocárdio (LERMAN & BELARDINELLI, 1991).

Os Mecanismos envolvidos na vasodilatação vascular ocorrem pela ativação dos receptores de adenosina A<sub>2A</sub>, que desencadeiam a abertura de canais Kv (canais de potássio voltagem-dependentes) e canais KATP (canais de potássio sensíveis ao ATP) nas células musculares lisas levando a hiperpolarização da membrana e ao relaxamento do vaso (HEIN *et al.*, 2001; ARSYAD & DOBSON, 2016).

A adenosina também atua no endotélio para causar liberação de óxido nítrico (NO), um composto que atua na dilatação das artérias coronarianas. A estimulação

dos receptores de adenosina  $A_{2A}$  desencadeiam a ativação da eNOS (óxido nítrico sintase endotelial) levando ao aumento da síntese de NO no endotélio. A estimulação dos receptores de adenosina  $A_{2A}$  presente nessas células atuam aumentando a síntese enquanto que os receptores de adenosina  $A_1$  atuam diminuindo a produção de NO que é realizada pelas células endoteliais que revestem a vasculatura (REISS *et al.*, 2019).

A ativação dos receptores de adenosina  $A_1$  presentes nas células justaglomerulares e nos terminais simpáticos também evocam vasodilatação de forma indireta, pois atenuam a formação de angiotensina II e inibem a liberação de norepinefrina que, como já discutimos, são moléculas que atuam na vasoconstrição (JACKSON *et al.*, 1991).

A adenosina possui um papel cardioprotetor através da ativação dos subtipos  $A_1$ ,  $A_{2A}$  e  $A_3$  (SAFRAN *et al.*, 2001), essa ativação resulta na dilatação dos vasos que abastecem o músculo cardíaco. A ativação do subtipo  $A_1$  possui efeitos cardioprotetores; já o subtipo  $A_{2A}$  possui um importante papel nas propriedades vasodilatadoras coronarianas da adenosina e foi identificado nas células endoteliais coronárias, células musculares lisas coronarianas (HO, LOW & ROSE'MEYER, 2016; MCLINTOSH & LASLEY, 2012); e, a ativação do receptor de adenosina  $A_3$  causa vasodilatação via acoplamento a proteína  $G_i$  inibindo a Adenilil ciclase, e via acoplamento a proteína  $G_q$  que irá estimular a fosfolipase C e tem como resultado final a vasodilatação pelo aumento da concentração de cálcio intracelular. (ZUCCHI *et al.*, 2001, ZHAO *et al.*, 1997). Em 2010, Methner e col., observaram que os receptores de adenosina  $A_{2A}$  e  $A_{2B}$  em conjunto foram cruciais para que a adenosina atingisse o limiar de cardioproteção em situações de infarto.

Como citado acima, os efeitos da adenosina são mediados pela ativação dos seus receptores que apresentam diferentes afinidades com a adenosina, sendo os subtipos  $A_1$  e  $A_{2A}$ , considerados de alta afinidade (DUNWIDDIE & MASINO, 2001). Essa ativação também depende da sua concentração. Logo, seus efeitos são condicionados tanto pela presença dos seus receptores quanto pela biodisponibilidade de adenosina nas áreas próximas a essas proteínas (SOUSA-OLIVEIRA *et al.*, 2019). Já se sabe, por exemplo, que o aumento nos níveis de adenosina endógena na musculatura vascular hipertensa pode acarretar em ativação

de subtipos de receptores de adenosina que não seriam ativados normalmente em condições normotensas, além disso, a biodisponibilidade de adenosina também possui uma certa influência na expressão dos receptores de adenosina (BOREA *et al.*, 2016; SOUSA-OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Assim, o impacto da HAS no sistema adenosinérgico foi avaliado por Sousa-Oliveira e col. (2019), e os achados confirmaram o importante papel da adenosina na resistência periférica e mostraram que a hipertensão ocasiona alterações fisiopatológicas no sistema adenosinérgico. Houve maior disponibilidade de adenosina nas artérias mesentéricas tanto na musculatura de ratos normotensos quanto na musculatura de ratos hipertensos, além disso, foi observado maior expressão de receptores de adenosina e NTs no território arterial. Nos ratos hipertensos foi observado um aumento significativo da biodisponibilidade de adenosina nos vasos mesentéricos, além, de apresentarem uma redução na expressão do subtipo A<sub>2B</sub> e a regulação negativa prejudicada do subtipo A<sub>1</sub>.

Os estudos realizados por Ho, Low e Rose'Meyer, 2016, mostraram que os receptores de adenosina do subtipo A<sub>3</sub> exercem um importante papel na fisiopatologia da hipertensão primária pela sua função na atividade vasomotora, pois foi observado uma regulação negativa na expressão desses receptores em corações de ratos espontaneamente hipertensos causando uma redução na vasodilatação de vasos coronarianos mediada por esse subtipo de receptor.

As ações da adenosina no tônus vascular na hipertensão pulmonar foram estudadas por Tofovic e col., 2009. Essa condição clínica é caracterizada pela dificuldade de o sangue passar pelas artérias e veias pulmonares, logo ele não flui bem pelos pulmões causando cansaço no coração, pois precisa trabalhar mais para esse sangue ir adiante. Os dados indicaram uma significativa indução, mediada pela adenosina, na vasodilatação dos vasos pulmonares via o subtipo A<sub>2A</sub> independente de um endotélio funcional. Além disso, a hipóxia é um grande estímulo para produção de adenosina, que atua protegendo o tecido da lesão causada pela própria hipóxia e os níveis aumentados de adenosina próximos aos vasos podem ter efeitos na estrutura e função vascular.

Assim, a adenosina se torna um promissor alvo terapêutico, é uma molécula considerada onipresente, pois possui ações em diversas funções celulares, seus

receptores são expressos na maioria dos tecidos e células. Logo, a ativação ou bloqueio desses receptores estão relacionados a várias patologias e a hipertensão é uma delas. Portanto, a compreensão do sistema adenosinérgico é crucial para o desenvolvimento de fármacos que possam auxiliar no tratamento dessas patologias (SOBREVIA & FREDHOLM, 2017; PELELI *et al.*, 2017).

### **1.3. Alfa-Terpineol**

O uso de medicamentos fitoterápicos como agentes terapêuticos na prevenção e no tratamento de doenças vem crescendo no mundo (CHOI *et al.*, 2013) devido às propriedades farmacológicas significativas que muitos óleos essenciais e seus constituintes demonstraram, portanto tem se buscado cada vez mais novos produtos naturais bioativos (GALI-MUHTASIB *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2011). Os óleos essenciais apresentam uma gama de ações biológicas, incluindo efeitos analgésicos, anticonvulsivantes, anti-inflamatórios e cardiovasculares (KUMAR *et al.*, 2017; DE SOUSA *et al.*, 2020).

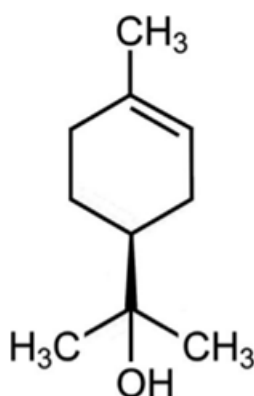
Os terpenos são compostos secundários naturalmente sintetizados pelas plantas. Esses compostos são chamados assim, pois não são essenciais para a viabilidade da planta, mas são importantíssimos na interação da planta com o meio ambiente. Os terpenos são os produtos vegetais mais numerosos e estruturalmente diversos e são formados por unidades de repetição ramificada de cinco carbonos, então sua classificação se configura de acordo com a quantidade dessas estruturas: temos os monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos e politerpenos (SANTOS *et al.*, 2011). Os monoterpenos estão entre os principais constituintes dos óleos essenciais, são metabólitos secundários formados por plantas aromáticas e são abundantemente encontrados em frutas cítricas, vegetais, especiarias e ervas (BAKKALI *et al.*, 2008). São compostos voláteis e caracterizados por serem responsáveis pela fragrância em muitas plantas e frutas. Portanto, esses compostos têm sido usados comercialmente como aromas artificiais nas indústrias e em preparações culinárias (TAN *et al.*, 2016)

Os monoterpenos são comuns em muitas espécies de plantas e são considerados a principal classe de componentes ativos em plantas aromáticas. Esses

compostos já apresentaram várias propriedades farmacológicas, incluindo efeitos antifúngicos, antibacterianos, antioxidantes, anticâncer e antiespasmódico e apresentaram propriedades benéficas também no sistema cardiovascular (RIBEIRO *et al.*, 2010). Essa atividade hipotensora pode resultar de seus efeitos vasodilatadores direto no músculo liso vascular. Assim, esses compostos podem ser úteis no tratamento de diversas patologias.

O Alfa-Terpineol ou (R) -p-menth-1-en-8-ol é um álcool monoterpeneo de ocorrência natural, é um composto incolor de sabor levemente adocicado e pode ser encontrado em várias espécies de plantas aromáticas e de fins comumente medicinais ou culinários, por exemplo, *Melaleuca alternifolia*, *Salvia officinalis*, *Carthamus tinctorius*, *Origanum vulgare L.* e *Ocimum canum Sims* (CHOI *et al.*, 2013; SABINO *et al.* 2013), possuindo uma vasta gama de propriedades biológicas (KHALEEL *et al.*, 2018). E, segundo Choi e col., 2013, o Alfa-Terpineol foi aprovado pelo FDA (*Food and Drug Administration*) como um condimento alimentar. É um composto reconhecido como seguro, uma vez que a dose letal oral de 50% (LD50) no rato é superior a 5000mg/kg, e nos níveis de ingestão atuais usado como um agente aromatizante não apresenta preocupação de segurança.

**Figura 03:** Fórmula estrutural do Alfa-Terpineol



**Fonte:** Safaripour *et al.*, 2018

O Alfa-Terpineol é bastante utilizado na fabricação de cosméticos, sabonetes, perfumes, agentes antissépticos e é considerado um dos compostos de fragrâncias



mais utilizados (KHALEEL *et al.*, 2018). Devido ao seu uso específico como fragrância, os estudos toxicológicos dos efeitos dérmicos comprovaram irritação leve ou nenhuma (CHOI *et al.*, 2013). Além disso, o Alfa-Terpineol possui uma ampla gama de aplicações biológicas, exibindo efeitos anti-proliferativos e anticancerígenos, sendo um composto com potencial terapêutico na prevenção ou tratamento do câncer. O Alfa-Terpineol apresentou citotoxicidade significativa em várias linhagens celulares cancerígenas: HepG2 (linhagem hepatocelular de carcinoma humano), HeLa (linhagem celular carcinômica hepiteloide), MOLT-4 (células T de leucemia linfoblástica humana), K-562 (linhagem celular de leucemia mieloide crônica humana) e CTRV-1 (células B da medula óssea de um paciente com leucemia mieloide aguda). O Alfa-Terpineol parece inibir o crescimento e induzir a morte celular em células tumorais via inibição da Nf-KB (KHALEEL *et al.*, 2018).

O Alfa-Terpineol também apresentou propriedades anti-inflamatórias, se mostrando como agente promissor na redução de efeitos inflamatórios e na modulação de citocinas que são mediadores químicos (HART *et al.*, 2000). A citocina IL-10 se mostrou ser umas das principais citocinas envolvidas no efeito anti-inflamatório de monoterpenos como Mentol, Carvacrol e o Alfa-terpineol (QUINTANS *et al.*, 2019). Entre as citocinas pró-inflamatórias liberadas em resposta ao dano celular ou tecidual, a interleucina-6 (IL-6) é o mediador mais importante da febre e induz a secreção de proteínas de resposta de fase aguda durante a inflamação. Sua inibição é considerada um evento anti-inflamatório, que ajuda a reduzir as reações inflamatórias associadas a várias infecções, incluindo a do resfriado comum. Os resultados apresentados nesse estudo, suportam claramente a hipótese de que o suco de laranja contém compostos, como o Alfa-Terpineol, capazes de inibir a formação de IL-6 em células bucais. A fortificação do suco de laranja com Alfa-Terpineol a 3144 µg / L, reduziu a formação de IL-6 nas células bucais (HELD, SCHIEBERLE & SOMOZA, 2007). No estudo de Nogueira e col., 2014, o Alfa-Terpineol, juntamente com outro monoterpeno, o Terpinen-4-ol, inibiram a produção de IL-6. O Alfa-Terpineol também apresentou efeitos antioxidantes uma vez que se descobriu ser um potente inibidor da produção de superóxido por monócitos estimulados, refletindo sua capacidade de atuar como conservante em alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos, prevenindo a degeneração oxidativa de seus componentes (KHALEEL *et al.*, 2018; QUINTANS *et al.*, 2019).

O Alfa-Terpineol apresentou propriedades antimicrobianas. Estudos mostraram que o óleo essencial de folhas de *Cinnamomum longepaniculatum* possui forte atividade antibacteriana. Essa erva cultivada na província chinesa de Sichuan tem o Alfa-Terpineol como principal componente e compreende cerca de 15,43% do óleo integral. O Alfa-Terpineol demonstrou excelente atividade antibacteriana inclusive superior a demonstrada pela *C. longepaniculatum*, inibiu o crescimento de *Escherichia coli* alterando sua estrutura, matando-a diretamente. Possui mesma atividade contra *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus* (LI *et al.*, 2014).

Outras propriedades apresentadas pelo Alfa-Terpineol foram antinocicepção, atividade inseticida, composto que aumenta a permeabilidade de drogas hidrofílicas e atividade anti-úlceras (KHALEEL *et al.*, 2018; SAFARIPOUR *et al.*, 2018). A administração oral de Alfa-Terpineol reduziu a úlcera gástrica induzida por etanol e indometacina em ratos de forma dose dependente. A ação gastroprotetora do Alfa-Terpineol indica a importância desse composto no desenvolvimento de novos fármacos anti-úlceras (SOUZA *et al.*, 2011).

No sistema cardiovascular, os efeitos do Alfa-Terpineol foram estudados por Sabino e col., 2013, onde foi verificado que a administração oral de Alfa-Terpineol foi capaz de reduzir a pressão arterial média em ratos de forma dependente da concentração e induziu uma vasodilatação independente do endotélio nos anéis arteriais mesentéricos. Essa hipotensão pode ter ocorrido devido a uma diminuição na resistência vascular periférica. O Alfa-Terpineol foi capaz de inibir as contrações induzidas pela adição cumulativa de fenilefrina em preparações de anéis arteriais mesentéricos sem endotélio, sugerindo sua possível atividade na maquinaria contrátil do músculo liso vascular.

Em outro estudo, o vasorrelaxamento induzido pelo Alfa-Terpineol foi significativamente atenuado após a remoção do endotélio. Os principais achados foram que o Alfa-Terpineol induz hipotensão acentuada e taquicardia em ratos conscientes que poderiam ser atribuídos, pelo menos em parte, à diminuição da resistência vascular periférica mediada pelo aumento da liberação de NO e consequente ativação do NO-GMPc. A hipotensão e taquicardia induzidas pelo alfa-terpineol foram significativamente atenuadas na presença do inibidor de NOS L-NAME, indicando que o efeito hipotensor do composto em ratos normotensos

conscientes pode ser dependente da liberação de NO do endotélio vascular (RIBEIRO *et al.*, 2010).

No estudo de Magalhães e col., 2008, o óleo essencial de *Croton nepetaefolius Baill* composto predominantemente por terpenos como Metileugenol e Alfa-Terpineol demonstrou efeitos hipotensivos. Os dados demonstraram que os efeitos vasorrelaxantes podem ser atribuídos, pelo menos em parte, às ações de seus constituintes principais Metileugenol e Alfa-Terpineol e parecem parcialmente dependentes da integridade do endotélio funcional. Além do envolvimento das vias endoteliais de L-arginina / NO, a inibição de outras vias de transdução pode estar envolvida na mediação desses efeitos.

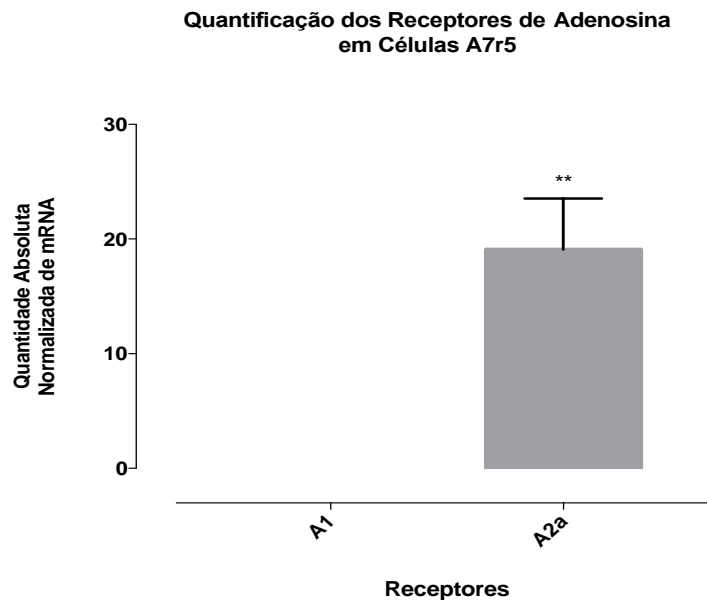
Em nosso estudo, utilizamos a linhagem celular *A7r5* que são células provenientes do músculo liso vascular da aorta de ratos, essas células apresentam um aumento na atividade das enzimas adenilato quinase (ADK) ou mioquinase e creatina fosfoquinase (CPK) a medida que a cultura atinge a fase estacionária ou *plateau*, fase onde há um equilíbrio na proliferação celular. A ADK é uma enzima citosólica que atua no sistema adenosinérgico sendo um dos mecanismos responsáveis pela diminuição da biodisponibilidade desse nucleosídeo, pois fosforila a adenosina em AMP (LERMAN & BERLARDINELLI, 1991; BOREA *et al.*, 2016).

Dada a importância do sistema adenosinérgico nos processos de regulação cardiovascular, como discutido no tópico anterior, decidimos investigar a possível expressão desses receptores nas células *A7r5*. Após ampla investigação, não foi encontrado nenhum trabalho que mostrasse de fato a presença deles nessa linhagem celular. Assim, investigamos a presença dos receptores  $A_1$  e  $A_{2A}$  nessas células de músculo liso de aorta torácica de ratos uma vez que, no sistema cardiovascular, a adenosina induz vasodilatação via ativação do receptor de adenosina  $A_{2A}$  (HO, LOW & ROSE'MEYER, 2016).

Assim, trabalho do nosso laboratório (Santos, 2019), confirmou a presença dos receptores  $A_{2A}$  nas células *A7r5*. A figura 04 mostra a quantidade absoluta normalizada em relação ao *housekeeping* AIF, do RNAm dos receptores  $A_1$  e  $A_{2A}$ . Nele vemos a presença considerável dos receptores  $A_{2A}$  em relação ao  $A_1$  nesse tipo de linhagem celular e, dessa forma, justifica-se a importância dos nossos estudos em função desse receptor como possivelmente envolvido nas ações do Alfa-Terpineol.

A CPK é uma enzima indicadora utilizada em exames laboratoriais para identificar lesões e/ou inflamações no tecido muscular, uma vez que desempenha um papel nas vias energéticas do músculo contribuindo para manutenção dos níveis intracelulares de ATP (SAKS *et al.*, 1978). As VSMCs exibem um fenótipo contrátil e, como falamos, possuem uma grande plasticidade pois apresentam a capacidade de se modularem fenotipicamente para realizar o reparo em resposta a lesões através do aumento das taxas de migração e proliferação, modificação da matriz extracelular, síntese de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento (YEMERE *et al.*, 2006; BROZOVICH *et al.*, 2016).

**Figura 04:** Identificação dos receptores de adenosina nas células A7r5



Expressão do receptor A<sub>2A</sub> nas células A7r5. **Fonte:** Santos, 2019.

## 2. CONCLUSÃO

- Concluímos que a melhor concentração do Tween 80 para ser utilizado como veículo e que não interfere na viabilidade celular da linhagem de células *A7r5* é de 0,025%.
- Concluímos que o Alfa-Terpineol não ocasiona morte celular nos tempos de 24 e 48 horas, nas concentrações testadas, exceto na maior concentração de  $10^{-2}$ M.
- O Alfa-Terpineol ocasiona redução na viabilidade celular no tempo mais prolongado, 72 horas, e em concentrações mais altas, de  $10^{-5}$  e  $10^{-3}$  M.
- Nas células *A7r5*, o Alfa-Terpineol parece agir modulando os receptores de adenosina  $A_{2A}$ , porém os mecanismos envolvidos nessas ações precisam melhor estudados.

### 3. REFERENCIAS

- ANTUNES, V. R.; RIBEIRO, I. M. R. Regulação da Pressão Arterial. In: Rui Curi; Joaquim Procópio. (Org.). *Fisiologia Básica*. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, v. 1, p. 372-384.
- ARORA, P.; ARORA, A.; SHARMA, S. (2013). Vascular Endothelium Dysfunction and Hypertension: Insight on Molecular Basics. **Innov Pharm Pharmacother**, v. 1, n. 3, p. 199-219.
- ARSYAD, A.; DOBSON, G. P. (2016). Adenosine relaxation in isolated rat aortic rings and possible roles of smooth muscle Kv channels, KATP channels and A2a receptors. **BMC Pharmacology and Toxicology**, v. 17, n. 1, p. 1-11.
- ASLANTÜRK, Ö. S. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. **Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World**, v. 2, p. 64-80.
- AYDIN, Y.; KUTLAY, O.; AR, S.; DUMAN, S.; UZUNER, K.; AYDIN, S. (2017). Hypotensive effects of carvacrol on the blood pressure of normotensive rats. **Planta medica**, v. 73, n. 13, p. 1365-1371.
- BAGHER, P.; SEGAL, S. S. (2011). Regulation of blood flow in the microcirculation: role of conducted vasodilation. **Acta Physiologica**, v. 202, n. 3, p. 271-284.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475.
- BANASZAK, B.; SWIETOCHOWSKA, E.; BANASZAK, P.; ZIORA, K. (2019). Endothelin-1 (ET-1), N-terminal fragment of pro-atrial natriuretic peptide (NTpro-ANP), and tumour necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) in children with primary hypertension and hypertension of renal origin. **Endokrynologia Polska**, v. 70, n.1, p. 37-42.
- BARRETO, S. M.; PASSOS, V. M. A.; FIRMO, J. O. A.; GUERRA, H. L.; VIDIGAL, P. G.; LIMA-COSTA, F. F. (2001). Hypertension and clustering of cardiovascular risk factors in a community in Southeast Brazil: the Bambuí Health and Ageing Study. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 77, n. 6, p. 576-581.
- BARRETT, C. J.; RAMCHANDRA, R.; GUILD, S. J.; LALA, A.; BUDGETT, D. M.; MALPAS, S. C. (2003). What Sets the Long-Term Level of Renal Sympathetic Nerve Activity: A Role for Angiotensin II and Baroreflexes? **Circulation Research**, v. 92, n. 12, p. 1330–1336.
- BASULI, D.; PAREKH, R. U.; WHITE, A.; THAYYIL, A.; SRIRAMULA, S. (2021). Kinin B1 Receptor Mediates Renal Injury and Remodeling in Hypertension. **Frontiers in Medicine**, v. 8.
- BAYALA, B.; BASSOLE, I. H. N.; GNOULA, C.; NEBIE, R.; YONLI, A.; MOREL, L.; ... SIMPORE, J. (2014). Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, p. e92122.
- BECKER, B. F.; HEINDL, B.; KUPATT, C.; ZAHLER, S. (2000). Endothelial function and hemostasis. **Zeitschrift für Kardiologie**, v. 89, n. 3, p. 160-167.
- BEEVERS, G.; LIP, G. Y. H.; O'BRIEN, E. (2001). The pathophysiology of hypertension. **Bmj**, v. 322, n. 7291, p. 912-916.

- BICAS, J. L.; NERI-NUMA, I. A.; RUIZ, A. L. T. G.; DE CARVALHO, J. E.; PASTORE, G. M. (2011). Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavors. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 7, p. 1610-1615.
- BJÖRK, S.; HUHTINEN, A.; VUORENPAA, A.; SCHEININ, M. (2014). Quantitative determination of  $\alpha$ 2B-adrenoceptor-evoked myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 70, n. 2, p. 152-162.
- BLANCO-METZLER, A.; CLARO, R. M.; HEREDIA-BLONVAL, K. H.; RODRÍGUEZ, I. C.; MONTERO-CAMPOS, M. A.; LEGETIC, B.; ABBE, M. R. J. (2017). Baseline and estimated trends of sodium availability and food sources in the Costa Rican population during 2004–2005 and 2012–2013. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1020, 2017.
- BOREA, P. A.; GESSI, S.; MERIGHI, S.; VARANI, K. (2016). Adenosine as a Multi-Signalling Guardian Angel in Human Diseases: When, Where and How Does it Exert its Protective Effects? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 37, n. 6, p. 419–434.
- BOREA, P. A.; GESSI, S.; MERIGHI, S.; VINCENZI, F.; VARANI, K. (2018). Pharmacology of adenosine receptors: the state of the art. **Physiological Reviews**, v. 98, n. 3, p. 1591-1625.
- BRAAK, K.; FREY, H. H. (1990). Effects of solvents and detergents on the contractions of isolated smooth muscle preparations. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 42, n. 12, p. 837-841.
- BROZOVICH, F. V.; NICHOLSON, C. V.; DEGEN, C. V.; GAO, Y. Z.; AGGARWAL, M.; MORGAN, K. G. (2016). Mechanisms of vascular smooth muscle contraction and the basis for pharmacologic treatment of smooth muscle disorders. **Pharmacological Reviews**, v. 68, n. 2, p. 476-532.
- BURKE, D. L.; FRID, M. G.; KUNRATH, C. L.; KAROOR, V.; ANWAR, A.; WAGNER, B. D., ... STENMARK, K. R. (2009). Sustained hypoxia promotes the development of a pulmonary artery-specific chronic inflammatory microenvironment. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 297, n. 2, p. L238-L250.
- CARRETERO, O. A.; OPARIL, S. (2000). Essential hypertension: part I: definition and etiology. **Circulation**, v. 101, n. 3, p. 329-335.
- CARVALHO, A. M. S.; HEIMFARTH, L.; SANTOS, K. A.; GUIMARÃES, A. G.; PICOT, L.; ALMEIDA, J. R. G. S.; QUINTANS, J. S. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. (2019). Terpenes as possible drugs for the mitigation of arthritic symptoms—A systematic review. **Phytomedicine**, v. 57, p. 137-147.
- CASTRO, C. A.; HOGAN, J. B.; BENSON, K. A.; SHEHATA, C. W.; LANDAUER, M. R. (1995). Behavioral effects of vehicles: DMSO, ethanol, Tween-20, Tween-80, and emulphor-620. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 50, n. 4, p. 521-526.
- CHOI, Y. J.; SIM, W. C.; CHOI, H. K.; LEE, S. H.; LEE, B. H. (2013).  $\alpha$ -Terpineol induces fatty liver in mice mediated by the AMP-activated kinase and sterol

response element binding protein pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 129-136.

CLARK, A. N.; YOUKEY, R.; LIU, X.; JIA, L.; BLATT, R.; DAY, Y. J.; SULLIVAN, G. W.; ... TUCKER, A. L. (2007). A1 adenosine receptor activation promotes angiogenesis and release of VEGF from monocytes. **Circulation Research**, v. 101, n. 11, p. 1130-1138.

CORNELISSEN, V. A.; VERHEYDEN, B.; AUBERT, A. E.; FAGARD, R. H. (2010). Effects of aerobic training intensity on resting, exercise and post-exercise blood pressure, heart rate and heart-rate variability. **Journal of human hypertension**, v. 24, n. 3, p. 175-182.

DALY, J.W. (1982). Adenosine receptors: targets for future drugs. **Journal of Medicine Chemistry**, v. 25, p. 197-207.

DE LANEROLLE, P.; STULL, J. T. (1980). Myosin phosphorylation during contraction and relaxation of tracheal smooth muscle. **Journal of Biological Chemistry**, v. 255, n. 20, p. 9993-10000.

DE SOUSA, D. P.; JÚNIOR, E. V. M.; OLIVEIRA, F. S.; ALMEIDA, R. N.; NUNES, X. P.; BARBOSA-FILHO, J. M. (2007). Antinociceptive activity of structural analogues of rotundifolone: structure-activity relationship. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 62, n. 1-2, p. 39-42.

DE SOUSA, G. M.; CAZARIN, C. B. B.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; LAMAS, C. A.; QUITETE, V. H. A. C.; PASTORE, G. M.; BICAS, J. L. (2020). The effect of  $\alpha$ -terpineol enantiomers on biomarkers of rats fed a high-fat diet. **Heliyon**, v. 6, n. 4, p. e03752.

DUNWIDDIE, T. V.; MASINO, S. A. (2001). The role and regulation of adenosine in the central nervous system. **Annual Review of Neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 31-55.

FINOCCHI, C.; SASSOS, D. (2017). Headache and arterial hypertension. **Neurological Sciences**, v. 38, n. 1, p. 67-72.

FOROUZANFAR, M. H., LIU, P., ROTH, G. A., NG, M., BIRYUKOV, S., MARCZAK, L., ... & MURRAY, C. J. (2017). Global burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115 mm Hg, 1990-2015. **Jama**, v. 317, n. 2, p. 165-182.

FREDHOLM, B. B.; IJZERMAN, A. P.; JACOBSON, K. A.; KLOTZ, K. N.; LINDEN, J. (2001). International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n. 4, p. 527-552.

GALI-MUHTASIB, H. U.; ABOU KHEIR, W. G.; KHEIR, L. A.; DARWICHE, N.; CROOKS, P. A. (2004). Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes. **Anti-Cancer Drugs**, v. 15, n. 4, p. 389-399.

GAROZZO, A.; TIMPANARO, R.; BISIGNANO, B.; FURNERI, P. M.; CASTRO, A. (2009). In vitro antiviral activity of Melaleuca alternifolia essential oil. **Letters in Applied Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 806-808.



- GEORGAKIS, M. K.; GILL, D.; MALIK, R.; PROTOGEROU, A. D.; WEBB, A. J. S.; DICHGANS, M. (2020). Genetically predicted blood pressure across the lifespan: differential effects of mean and pulse pressure on stroke risk. **Hypertension**, v. 76, n. 3, p. 953-961.
- GOULOPOULOU, S.; WEBB, R. C. (2014). Symphony of vascular contraction: how smooth muscle cells lose harmony to signal increased vascular resistance in hypertension. **Hypertension**, v. 63, n. 3, p. e33-e39.
- GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; QUARTI-TREVANO, F.; SCOPELLITI, F.; DELL'ORO, R.; BOLLA, G.; MANCIA, G. (2007). Excessive sympathetic activation in heart failure with obesity and metabolic syndrome: characteristics and mechanisms. **Hypertension**, v. 49, n. 3, p. 535-541.
- GUYENET, P. G. (2006). The sympathetic control of blood pressure. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 5, p. 335-346.
- GUZIK, T. J.; SKIBA, D. S.; TOUYZ, R. M.; HARRISON, D. G. (2017). The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. **Cardiovascular Research**, v. 113, n. 9, p. 1009-1023.
- HARASSI, Y.; TILAOUI, M.; IDIR, A.; FRÉDÉRIC, J.; BAUDINO, S.; AJOUAOI, S.; ... ZYAD, A. (2019). Phytochemical analysis, cytotoxic and antioxidant activities of *Myrtus communis* essential oil from Morocco. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 16, n. 3.
- HART, P. H.; BRANSD, C.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V.; PRAGER, R. H.; FINLAY-JONES, J. J. (2000). Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. **Inflammation Research**, v. 49, n. 11, p. 619-626.
- HASHIMOTO-KATAOKA, T.; HOSEN, N.; SONOBE, T.; ARITA, Y.; YASUI, T.; TAKESHI, M.; ... NAKAOKA, Y. (2015). Interleukin-6/interleukin-21 signaling axis is critical in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 20, p. E2677-E2686.
- HASSAN, S. B.; GALI-MUHTASIB, H.; GORANSSON, H.; LARSSON, R. (2010). Alpha terpineol: a potential anticancer agent which acts through suppressing NF- $\kappa$ B signalling. **Anticancer Research**, v. 30, n. 6, p. 1911-1919.
- HELD, S.; SCHIEBERLE, P.; SOMOZA, V. (2007). Characterization of  $\alpha$ -terpineol as an anti-inflammatory component of orange juice by in vitro studies using oral buccal cells. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 20, p. 8040-8046.
- HEIDARIAN, E.; KELOUSHADI, M. (2019). Antiproliferative and anti-invasion effects of carvacrol on PC3 human prostate cancer cells through reducing pSTAT3, pAKT, and pERK1/2 signaling proteins. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 10.
- HEIN, T. W.; WANG, W.; ZOGHI, B.; MUTHUCHAMY, M.; KUO, L. (2001). Functional and molecular characterization of receptor subtypes mediating coronary

microvascular dilation to adenosine. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 33, n. 2, p. 271-282.

- HINZE, A. V.; MAYER, P.; HARST, A.; VON KÜGELGEN, I. (2012). Adenosine A3 receptor-induced proliferation of primary human coronary smooth muscle cells involving the induction of early growth response genes. **Journal of molecular and cellular cardiology**, v. 53, n. 5, p. 639-645.
- HLUBOCKA', Z.; UMNEROVA, V.; HELLER, S.; PELESKA, J.; JINDRA, A.; JA'CHYMOVA', M.; ... ASCHERMANN, M. (2002). Circulating intercellular cell adhesion molecule-1, endothelin-1 and von Willebrand factor-markers of endothelial dysfunction in uncomplicated essential hypertension: the effect of treatment with ACE inhibitors. **Journal of Human Hypertension**, v. 16, n.8, p. 557-562.
- HIROOKA, Y.; SAGARA, Y.; KISHI, T.; SUNAGAWA, K. (2010). Oxidative Stress and Central Cardiovascular Regulation – Pathogenesis of Hypertension and Therapeutic Aspects. **Circulation Journal**, v. 74, n. 5, p. 827-835.
- HO, M. F.; LOW, L. M.; ROSEMEYER, R. B. (2016). Pharmacology of the adenosine A3 receptor in the vasculature and essential hypertension. **PLoSone**, v. 11, n. 2, p. e0150021.
- HURR, C.; YOUNG, C. N. (2016). Neural control of non-vasomotor organs in hypertension. **Current Hypertension Reports**, v. 18, n. 4, p. 1-11.
- IADECOLA, C.; YAFFE, K.; BILLER, J.; BRATZKE, L. C.; FARACI, F. M.; GORELICK, ... AL HAZZOURI, A. Z. (2016). Impact of hypertension on cognitive function: a scientific statement from the American Heart Association. **Hypertension**, v. 68, n. 6, p. e67-e94.
- ISHIYAMA, M.; TOMINAGA, H.; SHIGA, M.; SASAMOTO, K. (1996). A combined assay of cell viability and in vitro cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 19, n. 11, p. 1518-1520.
- IYEMERE, V. P.; PROUDFOOT, D.; WEISSBERG, P. L.; SHANAHAN, C. M. (2006). Vascular smooth muscle cell phenotypic plasticity and the regulation of vascular calcification. **Journal of Internal Medicine**, v. 260, n. 3, p. 192-210.
- JACKSON, E. K. (1991). Adenosine: a physiological brake on renin release. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 31, n. 1, p. 1-35.
- JAFRI, S.; ORMISTON, M. L. (2017). Immune regulation of systemic hypertension, pulmonary arterial hypertension, and preeclampsia: shared disease mechanisms and translational opportunities. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 313, n. 6, p. R693-R705.
- JING, G. X.; TAO, N. G.; JIA, L.; ZHOU, H. E. (2015). Influence of  $\alpha$ -terpineol on the growth and morphogenesis of *Penicillium digitatum*. **Botanical Studies**, v. 56, n. 1, p. 1-6.
- JOHNSON, R. J.; TITTLE, S.; CADE, J. R.; RIDEOUT, B. A.; OLIVER, W. J. (2005). Uric acid, evolution and primitive cultures. In: **Seminars in Nephrology**. WB Saunders, p. 3-8.

- JOHNSON, R. J.; LANASPA, M. A.; SÁNCHEZ-LOZADA, G.; RODRIGUEZ-ITURBE, B. (2015). The discovery of hypertension: evolving views on the role of the kidneys, and current hot topics. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 308, n. 3, p. F167-F178.
- KASAL, D. A. B.; NEVES, M. F. (2011). Inflamação como mecanismo patogênico na hipertensão arterial. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 10, n. 3, p. 12-19.
- KEARNEY, P. M.; WHELTON, M.; REYNOLDS, K.; MUNTNER, P.; WHELTON, P. K.; HE, J. (2005). Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. **The lancet**, v. 365, n. 9455, p. 217-223.
- KHALEEL, C.; TABANCA, N.; BUCHBAUER, G. (2018).  $\alpha$ -Terpineol, a natural monoterpene: A review of its biological properties. **Open Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 349-361.
- KUMAR, A. S.; JEYAPRAKASH, K.; CHELLAPPAN, D. R.; MURUGAN, R. (2017). Vasorelaxant and cardiovascular properties of the essential oil of *Pogostemon elsholtzioides*. **Journal of ethnopharmacology**, v.199, p. 86-90.
- KUMAR, P.; NAGARAJAN, A.; UCHIL, P. D. (2018). Analysis of cell viability by the lactate dehydrogenase assay. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2018, n. 6, p. pdb. prot095497.
- LAUDER, L.; EWEN, S.; KUNZ, M., RICHTER, L. H. J.; JACONS, C. M.; KINDERMANN, I.; ... MAHFOUD, F. (2020). Adherence to Antihypertensive Drugs Assessed by Hyphenated High-Resolution Mass Spectrometry Analysis of Oral Fluids. **Journal of the American Heart Association**, v. 9, n. 14, p. e014180.
- LERMAN, B. B.; BELARDINELLI, L. (1991). Cardiac electrophysiology of adenosine. Basic and clinical concepts. **Circulation**, v. 83, n. 5, p. 1499-1509.
- LI, L., CHAOFENG, S.; ZHONGQIONG, Y.; RENYONG, J.; LIANCI, P.; SHUAI, K.; ZHENGWEN, L. (2014). Antibacterial activity of  $\alpha$ -terpineol may induce morphostructural alterations in *Escherichia coli*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 1409-1413.
- LI, R.; YANG, J. J.; SONG, X. Z.; WANG, Y. F.; CORLETT, R. T.; XU, Y. K.; HU, H. B. (2020). Chemical composition and the cytotoxic, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of the fruit peel essential oil from *Spondias pinnata* (Anacardiaceae) in Xishuangbanna, Southwest China. **Molecules**, v. 25, n. 2, p. 343.
- LOBO, M. D.; SOBOTKA, P. A.; PATHAK, A. (2017). Interventional procedures and future drug therapy for hypertension. **European heart journal**, v. 38, n. 15, p. 1101-1111.
- LUFT, F. C. (2001). Twins in cardiovascular genetic research. **Hypertension**, v. 37, n. 2, p. 350-356.
- MA, W.; WANG, Y.; YAO, X.; XU, Z.; AN, L.; YIN, M. (2016). The role of Exo70 in vascular smooth muscle cell migration. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 21, n. 1, p. 1-12.

- MAGALHÃES, P. J. C.; LAHLOU, S.; JUCÁ, D. M.; COELHO-DE-SOUZA, L. N.; DA FROTA, P. T. T.; DA COSTA, A. M. G.; LEAL-CARDOSO, J. H. (2008). Vasorelaxation induced by the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents in rat aorta are partially mediated by the endothelium. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 22, n. 2, p. 169-177.
- MANOSROI, W.; WILLIAMS, G. H. (2019). Genetics of human primary hypertension: focus on hormonal mechanisms. **Endocrine reviews**, v. 40, n. 3, p. 825-856.
- MARTÍNEZ-SÁMANO, J.; DE OCA, A. T. M.; LUQUENÕ-BOCARD, O. I.; TORRES-DURÁN, P. V.; JUÁREZ-OROPEZA, M. A. (2018). Spirulina maxima decreases endothelial damage and oxidative stress indicators in patients with systemic arterial hypertension: Results from exploratory controlled clinical trial. **Marine drugs**, v. 16, n. 12, p. 496.
- MAYET, J.; HUGHES, A. (2003). Cardiac and vascular pathophysiology in hypertension. **Heart**, v. 89, n. 9, p. 1104-9.
- MCCARTHY, C. G.; GOULOPOULOU, S.; WEBB, R. C. (2019). Paying the toll for inflammation: Immunoreceptor-mediated vascular dysfunction in hypertension. **Hypertension**, v. 73, n. 3, p. 514-521.
- MCINTOSH, V. J.; LASLEY, R. D. (2012). Adenosine receptor-mediated cardioprotection: are all 4 subtypes required or redundant?. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, v. 17, n. 1, p. 21-33.
- MEIBOM, D.; ALBRECHT-KUPPER, B.; DIEDRICH, N.; HUBSCH, W.; KAST, R.; KRAMER, T.; ... ZIMMERMANN, K. (2017). Neladenoson bialanate hydrochloride: a prodrug of a partial adenosine A1 receptor agonist for the chronic treatment of heart diseases. **ChemMedChem**, v. 12, n. 10, p. 728-737.
- METHNER, C.; SCHMIDT, K.; COHEN, M. V.; DOWNEY, J. M.; KRIEG, T. (2010). Both A2a and A2b adenosine receptors at reperfusion are necessary to reduce infarct size in mouse hearts. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 299, n. 4, p. H1262-H1264.
- MOHAMED, F. A. (1874). The etiology of Bright's disease and the prealbuminuric state. **Med Chir Trans**, v. 39, p. 197-228.
- MORGAN, K. G.; PAPAGEORGIOU, P.; JIANG, M. J. (1989). Pathophysiologic role of calcium in the development of vascular smooth muscle tone. **The American Journal of Cardiology**, v. 64, n. 11, p. F 35-F40.
- MUXEL, S.M.; LARANJEIRA-SILVA, M.F.; ZAMPIERI, R.A.; AOK, J.I.; ACUÑA, S.M.; FLOETER-WINTER, L.M. Functional validation of miRNA-mRNA interactions in macrophages by inhibition/competition assays based in transient transfection. **Protocol Exchange**. 34. 1-14. 2017.
- NEUMAR, R. W.; OTTO, C. W.; LINK, M. S.; KRONICK, S. L.; SHUSTER, M.; CALLAWAY, C. W.; ... MORRISON, L. J. (2010). Part 8: adult advanced cardiovascular life support: 2010 American Heart Association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care. **Circulation**, v. 122, n. 18\_suppl\_3, p. S729-S767.

- NILES, A. L.; MORAVEC, R. A.; WORZELLA, T. J.; EVANS, N. J.; RISS, T. L. (2013). High-Throughput Screening Assays for the Assessment of Cytotoxicity. **High-Throughput Screening Methods in Toxicity Testing**, p. 107-127.
- NISHAT, S.; SHABIR, H.; AZMI, A. S.; ANSARI, H. R. (2012). A3 adenosine receptor: a plausible therapeutic target for cardio-protection in diabetes. **Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery (Discontinued)**, v. 7, n. 1, p. 59-70.
- NOGUEIRA, M. N. M., AQUINO, S. G.; ROSSA JUNIOR, C.; SPOLIDÓRIO, D. M. P. (2014). Terpinen-4-ol and alpha-terpineol (tea tree oil components) inhibit the production of IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10 on human macrophages. **Inflammation research**, v. 63, n. 9, p. 769-778.
- OPARIL, S.; ACELAJADO, M. C.; BAKRIS, L. G.; BERLOWITZ, D. R.; CÍFKOVÁ, R.; DOMINICZAK, A. F.; ... WHELTON, P. K. (2018) Hipertensão. **Hypertension**, v. 4, p. 18014.
- OSTERBERG, L.; BLASCHKE, T. (2005). Adherence to medication. **New England journal of medicine**, v. 353, n. 5, p. 487-497.
- OYARZÚN, C.; GARRIDO, W.; ALARCÓN, S.; YÁÑEZ, A.; SOBREVIA, L.; QUEZADA, C.; MARTÍN, R. S. (2017). Adenosine contribution to normal renal physiology and chronic kidney disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 55, p. 75-89.
- PANZA, J. A.; GARCÍA, C. E.; KILCOYNE, C. M.; QUYYUMI, A. A.; CANNON III, R. O. (1995). Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension: evidence that nitric oxide abnormality is not localized to a single signal transduction pathway. **Circulation**, v. 91, n. 6, p. 1732-1738.
- PEIXOTO-NEVES, D.; SILVA-ALVES, K. S.; GOMES, M. D. M.; LIMA, F. C.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P. J. C.; ... LEAL-CARDOSO, J. H. (2010). Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 24, n. 3, p. 341-350.
- PELELI, M.; FREDHOLM, B. B.; SOBREVIA, L.; CARLSTROM, M. (2017). Pharmacological targeting of adenosine receptor signaling. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 55, p. 4-8.
- PÉREZ-ROSÉS, R.; RISCO, E.; VILA, R.; PEÑALVER, P.; CAÑIGUERAL, S. (2015). Antioxidant activity of Tween-20 and Tween-80 evaluated through different in-vitro tests. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, n. 5, p. 666-672.
- PETERMAN, C.; SANOSKI, C. A. (2005). Tecadenoson: A Novel, Selective A<sub>1</sub>: Adenosine Receptor Agonist. **Cardiology in Review**, v. 13, n. 6, p. 315-321.
- PETRAMALA, L.; OLMATI, F.; MANCOME, M.; CONCISTRÉ, A.; GALASSI, M.; MARINELLI, C.; ... LETIZIA, C. (2017). Plasma endothelin-1 levels in patients with resistant hypertension: effects of renal sympathetic denervation. **Annals of Medicine**, v. 49, n. 5, p. 396-403.
- PIMENTA, E.; CALHOUN, D. A.; OPARIL, S. (2007). Mecanismos e tratamento da hipertensão arterial refratária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. 683-692.

- PRECOMA, D. B.; DE OLIVEIRA, G. M. M.; SIMÃO, A. F.; DUTRA, O. P.; COELHO, O. R., IZAR, M. C. D. O.; ... MOURILHE-ROCHA, R. (2019) Updated cardiovascular prevention guideline of the Brazilian Society of Cardiology. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 113, p. 787-891, 2019.
- QUINTANS, J. S. S.; SHANMUGAM, S.; HEIMFARTH, L.; ARAUJO, A. A. S.; ALMEIDA, J. R. G. S.; PICOT, L.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. (2019). Monoterpenes modulating cytokines - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, p. 233–257.
- REISS, A. B.; GROSSFELD, D.; KASSELMAN, L.J.; RENNA, H. A.; VERNICE, N. A.; DREWES, W.; ... DELEON, J. (2019). Adenosine and the cardiovascular system. **American Journal of Cardiovascular Drugs**, v. 19, n. 5, p. 449-464.
- RIBEIRO, T. P; PORTO, D. L.; MENEZES, C. P.; ANTUNES, A. A.; SILVA, D, F.; DE SOUSA, D. P.; ... MEDEIROS, I. A. (2010). et al. Unravelling the cardiovascular effects induced by  $\alpha$ -terpineol: A role for the nitric oxide–cGMP pathway. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 811-816.
- RIMOLDI, S. F.; SCHERRER, U.; MESSERLI, F. H. (2014) Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen? **European Heart Journal**, v. 35, p. 1245–1254.
- SABINO, C. K. B.; FERREIRA-FILHO, E. S.; MENDES, M. B.; SILVA-FILHO, J. C.; PONTES, M. P. T. R.; MOURA, L. H. P.; ... DE OLIVEIRA, A. P. (2013). Cardiovascular effects induced by  $\alpha$ -terpineol in hypertensive rats. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 28, n. 5, p. 333-339.
- SABUNCU, T., SONMEZ, A., EREN, M. A., SAHIN, I., ÇORAPÇIOĞLU, D., ÜÇLER, R., ... ARAZ, M. (2021). Characteristics of patients with hypertension in a population with type 2 diabetes mellitus. Results from the Turkish Nationwide SurVEy of Glycemic and Other Metabolic Parameters of Patients with Diabetes Mellitus (TEMD Hypertension Study). **Primary Care Diabetes**, v. 15, n. 2, p. 332-339.
- SAFARIPOUR, S.; NEMATİ, Y.; PARVADEH, S.; GHAFGHAZI, S.; FOULADZADEH, A.; MOGHIMI, M. (2018). Role of l-arginine/SNAP/NO/cGMP/KATP channel signalling pathway in antinociceptive effect of  $\alpha$ -terpineol in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 4, p. 507-515.
- SAFRAN, N.; SHNEYVAYS, V.; BALAS, N.; JACOBSON, K. A.; NAWRATH, H.; SHAINBERG, A. (2001). Cardioprotective effects of adenosine A1 and A3 receptor activation during hypoxia in isolated rat cardiac myocytes. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 217, n. 1, p. 143-152.
- SAKS, V. A.; ROSENSHTRAUKH, L. V.; SMIRNOV, V. N.; CHAZOV, E. I. (1978). Role of creatine phosphokinase in cellular function and metabolism. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, n. 5, p. 691-706.
- SANTOS, M. E. P. Avaliação citotóxica em células A7r5 e anti-hipertensiva em ratos SHR induzido pela 6-metil-5-hipten-2-ona (Sulcatona). 2020. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Tecnologia, Teresina, 2019.

- SANTOS, M. R. V.; MOREIRA, F. V.; FRAGA, B. P.; DE SOUSA, D. P.; BONJARDIM, L. R.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. (2011). Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 4, p. 764-771.
- SCHNERMANN, J. (2011). Maintained tubuloglomerular feedback responses during acute inhibition of P2 purinergic receptors in mice. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 300, n. 2, p. F339-F344.
- SCHULZE-BAUER, C. A.; REGITNIG, P.; HOLZAPFEL, G. A. (2002). Mechanics of the human femoral adventitia including the high-pressure response. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 282, n. 6, p. H2427-H2440.
- SCUDIERO, D. A.; SHOEMAKER, R. H.; PAULL, K. D.; MONKS, A.; TIERNEY, S.; NOFZIGER, T. H.; ... BOYD, M. R. (1988). Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. **Cancer research**, v. 48, n. 17, p. 4827-4833.
- SEBASTIÃO, A. M.; RIBEIRO, J. A. (2009). Tuning and fine-tuning of synapses with adenosine. **Current Neuropharmacology**, v. 7, n. 3, p. 180-194.
- SOBREVIA, L.; FREDHOLM, B. B. (2017). Adenosine-from molecular mechanisms to pathophysiology. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 55, p. 1-3.
- SOLEIMANI, M.; SHEIKHOLESLAMI, M. A.; GHAFGHAZI, S.; POURIRAN, R.; PARVARDEH, S. (2019). Analgesic effect of  $\alpha$ -terpineol on neuropathic pain induced by chronic constriction injury in rat sciatic nerve: Involvement of spinal microglial cells and inflammatory cytokines. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 22, n. 12, p. 1445.
- SOUSA-OLIVEIRA, A.; BRANDÃO, A.; VOJTEK, M.; GONÇALVES-MONTEIRO, S.; SOUSA, J. B.; DINIZ, C. (2019). Vascular impairment of adenosinergic system in hypertension: increased adenosine bioavailability and differential distribution of adenosine receptors and nucleoside transporters. **Histochemistry and Cell Biology**, v. 151, n. 5, p. 407-418.
- SOUZA, R. H. L.; CARDOSO, M. S. P.; MENEZES, C. T.; SILVA, J. P.; DE SOUZA, D. P.; BATISTA, J. S. (2011). Gastroprotective activity of  $\alpha$ -terpineol in two experimental models of gastric ulcer in rats. **DARU: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences**, v. 19, n. 4, p. 277.
- STOCKERT, J. C.; HOROBIN, R. W.; COLOMBO, L. L.; BLÁZQUEZ-CASTRO, A. (2018). Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 3, p. 159-167.
- SU, J.; LAI, H.; CHEN, J.; WONG, Y. S.; CHEN, T.; LI, X. (2013). et al. Natural borneol, a monoterpene compound, potentiates selenocystine-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells by enhancement of cellular uptake and activation of ROS-mediated DNA damage. **PLoS One**, v. 8, n. 5, p. e63502.
- SUN, C.; WU, M. H.; LEE, E. S.; YUAN, S. Y. (2012). A disintegrin and metalloproteinase 15 contributes to atherosclerosis by mediating endothelial

barrier dysfunction via Src family kinase activity. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 32, n. 10, p. 2444-2451.

- TABRIZCHI, R.; BEDI, S. (2011). Pharmacology of adenosine receptors in the vasculature. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 91, n. 2, p. 133-147.
- TAHA, A. S. M.; ELDAHSHAN, O. A. (2017). Chemical characteristics, antimicrobial, and cytotoxic activities of the essential oil of Egyptian *Cinnamomum glanduliferum* bark. **Chemistry & Biodiversity**, v. 14, n. 5, p. e1600443.
- TAN, X. C.; CHUA, K. H.; RAM, R.; KUPPUSAMY, U. R. (2016). Monoterpenes: Novel insights into their biological effects and roles on glucose uptake and lipid metabolism in 3T3-L1 adipocytes. **Food Chemistry**, v. 196, p. 242-250.
- TAWFIK, H. E.; SCHNERMANN, J.; OLDENBURG, P. J.; MUSTAFA, S. J. (2005). Role of A1 adenosine receptors in regulation of vascular tone. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 3, p. H1411-H1416.
- TOFOVIC, S. P.; JACKSON, E. K.; RAFIKOVA, O. (2009). Adenosine deaminase–adenosine pathway in hemolysis-associated pulmonary hypertension. **Medical Hypotheses**, v. 72, n. 6, p. 713-719.
- TOYOSHIMA, H., TAKAHASHI, K., AKERA, T. (1997). The impact of side effects on hypertension management: a Japanese survey. **Clinical therapeutics**, v. 19, n. 6, p. 1458-1469.
- URIBE, D.; TORRES, Á.; ROCHA, J. D.; NIECHI, I.; OYARZÚN, C.; SOBREVIA, L., ... & QUEZADA, C. (2017). Multidrug resistance in glioblastoma stem-like cells: Role of the hypoxic microenvironment and adenosine signaling. **Molecular aspects of medicine**, v. 55, p. 140-151.
- VANDRESEN, F.; FALZIROLLI, H.; BATISTA, S. A. A.; SILVA-GIARDINI, A. B.; DE OLIVEIRA, D. N.; CATHARINO, R. R.; ... SILVA, C. C. (2014). Novel R-(+)-limonene-based thiosemicarbazones and their antitumor activity against human tumor cell lines. **European journal of medicinal chemistry**, v. 79, p. 110-116.
- VIEIRA, G., CAVALLI, J.; GONÇALVES, E. C. D.; BRAGA, S. F. P.; FERREIRA, R. S.; SANTOS, A. R. S.; ... DUTRA, R. C. (2020). Antidepressant-like effect of terpineol in an inflammatory model of depression: involvement of the cannabinoid system and D2 dopamine receptor. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 792.
- WANG, Y.; HOU, R.; LI, P.; LI, J.; YAN, J.; YIN, F.; ... ZHANG, Y. (2004). Gene expression profiles in response to the activation of adrenoceptors in A7r5 aortic smooth muscle cells. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, v. 31, n. 9, p. 602-607.
- WANG, F.; CHEN, H. Z. (2020). Histone deacetylase SIRT1, smooth muscle cell function, and vascular diseases. **Frontiers in Pharmacology**, p. 1634.
- WEIR, M. R.; BURGESS, E. D.; COOPER, J. E.; FENVES, A. Z.; GOLDSMITH, D.; MCKAY, D.; ... TALER, S. J. (2015). Assessment and management of hypertension in transplant patients. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 26, n. 6, p. 1248-1260.



- WHELTON, P. K.; KUMANYIKA, S. K.; COOK, N. R.; CUTLER, J. A.; BORHANI, N. O.; HENNEKENS, C. H., ... COHEN, J. D. (1997). Efficacy of nonpharmacologic interventions in adults with high-normal blood pressure: results from phase 1 of the Trials of Hypertension Prevention. Trials of Hypertension Prevention Collaborative Research Group. **The American journal of clinical nutrition**, v. 65, n. 2, p. 652S-660S.
- WIERUSZEWSKI, P. M., WITTWER, E. D., KASHANI, K. B., BROWN, D. R., BUTLER, S. O., CLARK, A. M., ... BARRETO, E. F. (2021). Angiotensin II infusion for shock: A multicenter study of postmarketing use. **Chest**, v.159, n. 2, p. 596-605.
- WINKLEWSKI, P. J.; RADKOWSKI, M.; WSZEDYBYL-WINKLEWSKA, M.; DEMKOW, U. (2015). Brain inflammation and hypertension: the chicken or the egg? **Journal of neuroinflammation**, v. 12, n. 1, p. 1-7.
- WU, J. Y., LI, Y. J., YANG, L., HU, Y. Y., HU, X. B., TANG, T. T., ... XIANG, D. X. (2018). Borneol and A-asarone as adjuvant agents for improving blood–brain barrier permeability of puerarin and tetramethylpyrazine by activating adenosine receptors. **Drug delivery**, v. 25, n. 1, p. 1858-1864.
- XIA, H.; LIANG, W.; SONG, Q.; CHEN, X.; CHEN, X.; HONG, J. (2013). The in vitro study of apoptosis in NB4 cell induced by citral. **Cytotechnology**, v. 65, n. 1, p. 49-57.
- YAMADA, K.; KOBAYASHI, M.; KANDA, T. (2014). Involvement of adenosine A2A receptors in depression and anxiety. **International Review of Neurobiology**, v. 119, p. 373-393.
- YASUE, H.; MATSUYAMA, K.; MATSUYAMA, K.; OKUMURA, K.; MORIKAMI, Y.; OGAWA, H. (1990). Responses of angiographically normal human coronary arteries to intracoronary injection of acetylcholine by age and segment. Possible role of early coronary atherosclerosis. **Circulation**, v. 81, n. 2, p. 482-490.
- YORUK, A.; BISOGNANO, J. D.; GASSLER, J. P. (2016). Baroreceptor stimulation for resistant hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 29, n. 12, p. 1319-1324.
- YU, X.; LIN, H.; WANG, Y.; LV, W.; ZHANG, S.; QIAN, Y.; DENG, X.; ... H.; QIAN, B. (2018). D-limonene exhibits antitumor activity by inducing autophagy and apoptosis in lung cancer. **OncoTargets and therapy**, v. 11, p. 1833.
- YUGAR-TOLEDO, J. C.; YUGAR, L. B. T.; TÁCITO, L. H. B.; VILELA-MARTINS, J. F. (2015). Disfunção Endotelial e Hipertensão Arterial. **Rev Bras Hipertens vol**, v. 22, n. 3, p. 84-92.
- ZHAO, Z., FRANCIS, C. E., RAVID, K. (1997). An A3-subtype adenosine receptor is highly expressed in rat vascular smooth muscle cells: its role in attenuating adenosine-induced increase in cAMP. **Microvasc Res**, v, 54, p. 243 – 252.
- ZENGIN, H.; BAYSAL, A. H. (2014). Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. **Molecules**, v. 19, n. 11, p. 17773-17798.

ZUCCHI, R., YU, G., GHELARDONI, S., RONCA, F., RONCA-TESTONI, S. (2001).  
A3 adenosine receptor stimulation modulates sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>  
release in rat heart. **Cardiovascular research**, v. 50, n. 1, p. 56-64.