

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

LUANA ALE BERTONCELLO PAEL

**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS CARDIOPROTETORES DO EXTRATO AQUOSO
DE *Petiveria alliacea* L. EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

DOURADOS-MS

2024

LUANA ALE BERTONCELLO PAEL

**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS CARDIOPROTETORES DO EXTRATO AQUOSO
DE *Petiveria alliacea* L. EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**

**Dissertação apresentado ao Programa de Pós
Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade
Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção
do título de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde
Área de concentração: Alimentos, Nutrição e Saúde
Linha de Pesquisa: Alimentos e Saúde
Orientador: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior**

DOURADOS-MS

2024

P126i Pael, Luana Ale Bertoncello
INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS CARDIOPROTETORES DO EXTRATO AQUOSO DE
Petiveria alliacea L. EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS [recurso eletrônico] /
Luana Ale Bertoncello Pael. -- 2024.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Arquimedes Gasparotto Junior.
Dissertação (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde)-Universidade Federal da Grande
Dourados, 2024.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Doenças cardiovasculares. 2. Fitoterapia. 3. Hipertensão. 4. Phytolaccaceae. I. Gasparotto
Junior, Arquimedes . II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



Ministério da Educação
Universidade Federal da Grande Dourados
PROPP - Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR LUANA ALE BERTONCELLO PAEL, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE".

Aos seis dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e quatro, às oito horas, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "**INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS CARDIOPROTETORES DO EXTRATO AQUOSO DE *Petiveria alliacea* L. EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS**", apresentada pela mestrand Luana Ale Bertoncello Pael, do Programa de Pós-graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior/UFGD (presidente/orientador), Prof. Dr. Emerson Luiz Botelho Lourenço/UNIPAR (membro titular externo), Prof.^a Dr.^a Danielle Ayr Tavares de Almeida (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada Aprovada. A Presidente da Banca atesta a participação dos membros que estiveram presentes de forma remota, conforme declarações anexas. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Documento assinado digitalmente
gov.br ARQUIMEDES GASPAROTTO JUNIOR
Data: 06/03/2024 13:58:57-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

gov.br

Documento assinado digitalmente
gov.br EMERSON LUIZ BOTELHO LOURENCO
Data: 07/03/2024 17:14:32-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

gov.br

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELLE AYS TAVARES DE ALMEIDA
Data: 06/03/2024 14:43:58-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior
Presidente/orientador
(Participação Remota)

Prof. Dr. Emerson Luiz Botelho Lourenço
Membro Titular Externo
(Participação Remota)

Prof.^a Dr.^a Danielle Ayr Tavares de Almeida
Membro Titular Externo
(Participação Remota)

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

ATA HOMOLOGADA EM: ___/___/____, PELA PROPP/ UFGD.

ATA HOMOLOGADA PELA PROPP/ UFGD

É justo que muito custe o que muito

vale Santa Teresa

D'ávila

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação tem como propósito demonstrar o potencial anti-hipertensivo do extrato aquoso obtido da planta medicinal *Petiveria alliacea* L. aproveitando a parte aérea da planta que incluem folhas, caule e inflorescências. Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos, com 3 meses de idade, com o intuito de assimilar as condições fisiológicas humana. A pesquisa se encontra concluída e o artigo oriundo da pesquisa será submetido após a defesa.

Este documento está estruturado de acordo com as normas estabelecidas pela Resolução nº. 239, de 21 de novembro de 2019 que dispõe sobre o Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados. O arquivo é constituído de elementos pré-textuais, introdução, revisão da literatura, objetivo geral, objetivos específicos, metodologia e o artigo científico, o qual apresenta dados sobre os resultados, discussão e a conclusão da pesquisa. O artigo está de acordo com as

normas da revista na qual será submetido.

RESUMO

As doenças cardiovasculares são as principais causas de hospitalizações e mortes em todo o mundo. A prevenção é viável ao abordar fatores de risco comportamentais, no qual a presença desses fatores de risco pode se manifestar na forma de hipertensão arterial. O uso de terapias alternativas e complementares, como as plantas medicinais, são cada vez mais comum entre as opções de tratamentos por possuírem princípios ativos que podem oferecer ação profilática ou terapêutica no tratamento de doenças ou no controle de seus sintomas. A *Petiveria alliacea* popularmente conhecida com guiné possui compostos fitoquímicos ligados a propriedade diurética. O objetivo do presente estudo é investigar os efeitos cardioprotetores da fração solúvel em etanol obtida das partes aéreas de *P. alliacea* em ratos hipertensos tratados com isoprenalina. As partes aéreas de *P. alliacea* foram coletadas e o extrato aquoso foi obtido por infusão. A infusão foi então tratada com etanol, resultando na fração solúvel em etanol da *P. alliacea* (ESPA). Os ratos Wistar-Kyoto e espontaneamente hipertensos foram divididos em diferentes grupos experimentais, incluindo naïve, controle negativo (veículo 1mL/100g do peso corporal), metoprolol (10 mg/kg) e ESPA (30, 100 e 300 mg/kg). Todos os grupos hipertensos receberam isoprenalina (4,5 mg/kg) por via subcutânea uma vez por dia durante os 4 primeiros dias do tratamento. O tratamento durou 28 dias e foi avaliado quanto à função renal, ao perfil eletrocardiográfico, à pressão arterial, à reatividade do leito vascular mesentérico, aos marcadores bioquímicos e à histopatologia. O tratamento com ESPA induziu uma resposta natriurética aguda significativa. Após 28 dias, os animais tratados com ESPA 100 e 300 mg/kg apresentaram níveis reduzidos de pressão arterial e peroxidação lipídica, resultando na reversão das alterações eletrocardiográficas e da disfunção endotelial induzidas pela hipertensão. O tratamento de 28 dias com ESPA induziu efeitos cardioprotetores significativos em ratos hipertensos tratados com isoprenalina. Esse efeito parece ser dependente de uma resposta antioxidante associada ao efeito inibitório sobre a enzima conversora de angiotensina.

Palavras-chaves: Doenças cardiovasculares; Fitoterapia. Hipertensão; Phytolaccaceae.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the primary cause of hospitalizations and deaths globally. Prevention is achievable by addressing behavioral risk factors. The presence of these risk factors can result in high blood pressure. The use of alternative and complementary therapies, such as medicinal plants, is becoming increasingly common as a treatment option due to their active ingredients that can offer prophylactic or therapeutic action in the treatment of diseases or the control of their symptoms. *Petiveria alliacea*, commonly known as guiné, contains phytochemical compounds that are linked to diuretic properties. The objective of this study was to examine the cardioprotective effects of the ethanol-soluble fraction obtained from the aerial parts of *P. alliacea* in hypertensive rats treated with isoprenaline. The aerial parts of *P. alliacea* were collected and infused to obtain the aqueous extract, which was then treated with

ethanol to produce the ethanol-soluble fraction of *P. alliacea* (ESPA). Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats were divided into different experimental groups, including naïve, negative control (vehicle 1mL/100g body weight), metoprolol (10 mg/kg), and ESPA (30, 100, and 300 mg/kg). All hypertensive groups received isoprenaline (4.5 mg/kg) subcutaneously once a day for the first 4 days of treatment. Treatment lasted 28 days and was evaluated in terms of renal function, electrocardiographic profile, blood pressure, mesenteric vascular bed reactivity, biochemical markers and histopathology. Treatment with ESPA induced a significant acute natriuretic response. After 28 days of treatment with ESPA at doses of 100 and 300 mg/kg, the animals showed reduced blood pressure and lipid peroxidation levels. This resulted in a reversal of the electrocardiographic alterations and endothelial dysfunction induced by hypertension in the rats. The treatment with ESPA for 28 days induced significant cardioprotective effects in hypertensive rats treated with isoprenaline. These effects appear to be dependent on an antioxidant response associated with the inhibitory effect on angiotensin-converting enzyme.

Key words: Cardiovascular diseases; Herbal medicine; Hypertension; Phytolaccaceae
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ach Acetilcolina
 ALT Alanina Aminotransferase
 AST Aspartato Aminotransferase
 DCNT Doença Crônica Não Transmissível
 DCV Doenças Cardiovasculares
 ESPA Sobrenadante Etanólico de *Petiveria alliacea* L.
 HAS Hipertensão Arterial Sistêmica
 ISO Isoprenalina
 MEC Matriz Extracelular
 NPS Nitroprussiato de Sódio
 PA Pressão Arterial
 PAD Pressão Arterial Diastólica
 PAS Pressão Arterial Sistólica
 Phe Fenilefrina
 SHR Ratos Espontaneamente Hipertensos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7 2
REVISÃO DE LITERATURA.....	9 2.1
Doenças cardiovasculares.....	9 2.1.1
Fibrose cardíaca.....	9 2.2
Hipertensão arterial sistêmica.....	10
2.2.1 Tratamento.....	11

2.3 Plantas medicinais.....	12
2.3.1 <i>Petiveria alliacea</i> L.....	13
2.4 Modelo SHR.....	15
2.5 Cardiotoxicidade induzida por Isoprenalina.....	15 3.
Objetivos.....	17 3.1
Objetivo geral	17 3.2
Objetivo específico.....	17 4.
Materiais e Método.....	18 4.1
Material vegetal.....	18 4.2
Procedimento extrativo do sobrenadante etanólico do infuso de <i>Petiveria alliacea</i> L.....	18 4.3
Animais.....	18 4.4
Desenho experimental e avaliação da atividade diurética prolongada.....	19
4.4.1 Eletrocardiograma.....	20
4.4.2 Medida das pressões arteriais.....	21
4.4.3 Reatividade vascular em leito mesentérico.....	21
4.4.4 Coleta de sangue e análise bioquímica.....	21
4.4.5 Peso relativo do coração e análises histopatológicas do ventrículo esquerdo, arco aórtico e rim direito.....	22
4.6 Análises estatísticas.....	22
5. Artigo.....	23
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
REFERÊNCIAS.....	43
ANEXO A. Parecer/CP/FCS nº 136/2022	50

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são as principais causas de óbitos, atendimento ambulatoriais e hospitalizações no mundo todo (Barroso *et al.*, 2021). Só no Brasil, cerca de 14 milhões de pessoas têm alguma doença cardiovascular e, pelo menos, 400 mil mortes ocorrem por ano, em consequência dessas enfermidades (Oliveira *et al.*, 2022). A prevenção em sua maioria é viável ao abordar fatores de risco comportamentais e a presença desses fatores de risco pode se manifestar em indivíduos na forma de sobrepeso e obesidade, hiperglicemia, hiperlipidemia, e hipertensão arterial (Précoma *et al.*, 2019; Barroso *et al.*, 2021).

Existem diferentes tipos de DCV e em sua maioria envolve a remodelação miocárdica

caracterizada por fibrose cardíaca. Atualmente a fibrose cardíaca é reconhecida como um dos principais cooperadores para morbidade e mortalidade relacionadas a DCV (Hinderer; Schenke-Layland, 2019; Scridon; Balan, 2022). Embora existam complementos e medicamentos aprovados no mercado, a necessidade de desenvolver novos compostos para prevenir e tratar as doenças cardiovasculares (DCV) ainda é grande (Allawadhi *et al.*, 2018).

O uso de terapias alternativas e complementares, como as plantas medicinais, tem se tornado cada vez mais comum entre as opções de tratamento, especialmente nos países em desenvolvimento. A utilização tradicional de plantas baseia-se em crenças e saberes populares que se acumulam ao longo do tempo, refletindo uma combinação de práticas e saberes culturalmente transmitidos entre diferentes populações (Menetrier *et al.*, 2020). Possuem princípios ativos que podem oferecer ação profilática ou terapêutica no tratamento de doenças ou no controle de seus sintomas (Leitão *et al.*, 2014; Saraiva *et al.*, 2015).

O gênero *Petiveria* L. (Phytolaccaceae) é monotípico e está distribuído em regiões tropicais do continente Americano e África Subsaariana, no Brasil, a *P. alliacea* é encontrada em quase todos os estados e popularmente conhecida com guiné ou anamú (Udulutsch *et al.*, 2002; Luz *et al.*, 2016). Com relação ao seu uso na medicina tradicional, um estudo realizado com curandeiros da região da Grande Dourados, no estado brasileiro do Mato Grosso do Sul, identificou o uso da espécie para o tratamento de várias doenças que afetam o sistema cardiovascular (Blainski *et al.*, 2010; Coelho *et al.*, 2019).

Os compostos fitoquímicos presentes na planta incluem alcaloides, flavonoides, esteroides, triterpenos, taninos, saponinas, compostos fenólicos, cumarinas e glicosídeos. Além disso, já foram demonstradas propriedades medicinais, incluindo ações diuréticas, anti inflamatórias, analgésicas, ansiolíticas, antiespasmódicas, antirreumáticas, antitumorais, antimicrobianas, anti-helmínticas, imunomoduladoras e neuroprotetoras (Luz *et al.*, 2016;

8

Ballesteros-ram *et al.*, 2020). Considerando o uso tradicional de *P. alliacea* para o tratamento de distúrbios cardiovasculares e a falta de estudos que comprovem sua eficácia, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil da atividade cardioprotetora do extrato aquoso semipurificado obtido das partes aéreas de *P. alliacea* usando ratos hipertensos sob estresse de isoprenalina.

9

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares (DCV) abrangem diversas condições que afetam o coração e vasos sanguíneos São as principais causas de óbitos, atendimento ambulatoriais e hospitalizações no mundo todo (Barroso *et al.*, 2021). No Brasil, cerca de 14 milhões de

peessoas têm alguma doença cardiovascular e, pelo menos, 400 mil mortes ocorrem por ano, em consequência dessas enfermidades, correspondendo a 30% de todos os óbitos no país (de Oliveira *et al.*, 2022).

A prevenção da maioria das DCV é viável ao abordar fatores de risco comportamentais, como dietas não saudáveis, excesso de peso, inatividade física, tabagismo e consumo excessivo de álcool (Précoma *et al.*, 2019). A presença desses comportamentos de riscos pode se manifestar em indivíduos na forma de sobrepeso e obesidade, hiperglicemia, hiperlipidemia, e hipertensão arterial (Barroso *et al.*, 2021).

Embora esses fatores sejam modificáveis e sua remoção possa diminuir a prevalência de DCV, outros, como raça, idade, sexo ou histórico familiar, continuam a ter um impacto expressivo na evolução da prevalência de DCV. Em 2019, o total de anos de vida ajustado por incapacidade ocasionados por DCV foi maior em homens do que em mulheres antes dos 80 a 84 anos, após essa idade, o padrão se inverte (Roth *et al.*, 2020).

Existem diferentes tipos de DCV e em sua maioria envolve a remodelação miocárdica caracterizada por fibrose cardíaca como o infarto agudo do miocárdio, doença cardíaca hipertensiva, cardiomiopatia diabética, dilatada e hipertrófica, insuficiência cardíaca, doença cardíaca isquêmica crônica ou arritmias cardíacas. Atualmente a fibrose miocárdica é reconhecida como um dos principais cooperadores para morbidade e mortalidade relacionadas a DCV (Hinderer; Schenke-Layland, 2019; Scridon; Balan, 2022)

2.1.1 Fibrose cardíaca

A fibrose miocárdica é a expansão do interstício cardíaco que acompanha a maioria das condições patológicas cardíacas. O termo fibrose é usado para descrever a deposição excessiva de proteínas da MEC nos tecidos parenquimatosos e normalmente reflete a ativação inadequada ou desenfreada de um programa reparador. (Dees; Chakraborty; Distler, 2021; Frangogiannis, 2021). Embora contribua para diversas patologias, a fibrose miocárdica também é uma condição reparadora e não uma patologia única. Sendo uma resposta patológica ela pode ser apropriada ou inadequada, dependendo do contexto fisiopatológico (Frangogiannis, 2021)

10

Independente da causa subjacente, a fibrose cardíaca está associada ao aumento da síntese de colágeno fibrilar tipo I e III. O colágeno fibrilar tipo I é o principal responsável pelo aumento da fibrose cardíaca. Ele se apresenta como fibras espessas com resistência à tração e o colágeno fibrilar tipo III são mais finas e complacentes.(Krenning; Zeisberg; Kalluri, 2010; Frangogiannis, 2019).

A preservação da arquitetura miocárdica é essencial para a função normal de sístole e

diástole ventricular. Alterações na rede intersticial de colágeno no coração fibrótico podem levar à disfunção sistólica por meio de vários mecanismos distintos. A fibrose pode alterar a coordenação do acoplamento excitação-contração miocárdica, desencadear disfunção microvascular, perturbando a perfusão dos cardiomiócitos (Allawadhi *et al.*, 2018; Frangogiannis, 2019).

A deposição de colágeno intersticial em áreas fibróticas pode ativar vias que levam à decomposição dos colágenos fibrilares, rompendo assim a conexão entre a matriz e o aparelho contrátil, sarcômero (Iwanaga *et al.*, 2002; Frangogiannis, 2019) A fragmentação da MEC pode privar os cardiomiócitos de conectar com os principais sinais moleculares resultando em uma forma de morte celular pela ausência de interação célula-matriz, referida por “anoikis” (Michel, 2003).

Até o momento não se conhece nenhuma terapia que atinge diretamente a fibrose cardíaca ainda que a condição patológica seja um grande fardo para a população (Fan; Guan, 2016). Diversos desafios têm restringido o avanço de terapias antifibróticas para pacientes com doença cardiovascular. Embora os fibroblastos cardíacos sejam os principais responsáveis pela fibrose cardíaca, ainda é necessário realizar mais pesquisas para entender a regulação dessas células (Hinderer and Schenke-Layland, 2019).

2.2. Hipertensão arterial sistêmica

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença crônica não transmissível (DCNT) no qual os benefícios do tratamento (não medicamentoso e/ ou medicamentoso) superam os riscos associados. É uma condição multifatorial, influenciada por fatores genéticos/ epigenéticos, sociais e ambientais, caracterizada por uma elevação persistente da pressão arterial (PA). Sendo a PA sistólica (PAS) maior ou igual a 140 mmHg e/ou PA diastólica (PAD) maior ou igual a 90 mmHg, medida em pelo menos duas ocasiões diferentes (Précoma *et al.*, 2019; Arnett *et al.*, 2020; Roth *et al.*, 2020).

11

A Pressão Arterial Média (PAM) resulta da interação entre o Débito Cardíaco (DC) e a Resistência Vascular Periférica (RVP), sendo considerada um dos mecanismos mais complexos do organismo. O DC pode variar conforme o volume sanguíneo, a contratilidade do miocárdio, a frequência cardíaca, entre outros fatores, enquanto a RVP é influenciada por mecanismos endoteliais, como vasoconstrição e vasodilatação, além do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) (Sanjuliani, 2002; Barroso *et al.*, 2021)

O aumento sustentado da PA desencadeia o desenvolvimento da hipertrofia da camada média da parede arterial. Isso resulta em mudanças quantitativas e qualitativas nos componentes da parede arterial, como colágeno, elastina e células musculares lisas (Fridez *et al.*, 2002; Laurent; Boutouyrie; Lacolley, 2005; Safar *et al.*, 2018). Essas descobertas foram

observadas tanto em estudos com modelos animais quanto em experimentos *in vitro* e culturas de órgãos *ex vivo*. As células mecanossensíveis reagem ao aumento do estresse produzindo matriz extracelular (MEC) (Bardy *et al.*, 1996; Humphrey; Schwartz, 2021; Ganizada *et al.*, 2023).

Devido sua condição frequentemente assintomática, a HAS tende a evoluir com alterações estruturais e/ou funcionais em órgãos-alvo, como os rins, cérebro e coração, impactando significativamente nos custos médicos e socioeconômicos. Dentre os órgãos alvos as complicações no coração podem ocasionar a doença arterial coronária, insuficiência cardíaca, fibrilação atrial e morte súbita (Whelton *et al.*, 2018; Précoma *et al.*, 2019; Arnett *et al.*, 2020)

A HAS antecipa o processo de envelhecimento vascular através da resposta local mecanobiológica. A deposição progressiva de proteínas da MEC nas regiões perivascular e intersticial aumentam a rigidez miocárdica e ocasiona disfunção diastólica (Humphrey *et al.*, 2016; Safar *et al.*, 2018; Frangogiannis, 2021). Visando o tratamento a primeira meta é a redução da PA (Williams *et al.*, 2018).

2.2.1 Tratamento

O principal objetivo do tratamento anti-hipertensivo, que inclui abordagens farmacológicas e não farmacológicas, é minimizar a morbidade e a mortalidade resultantes de níveis elevados da PA (Whelton *et al.*, 2018; Williams *et al.*, 2018) No entanto, apesar da eficácia comprovada do tratamento, o controle da hipertensão arterial permanece insatisfatório na maioria dos países, incluindo o Brasil. Existem várias razões para o controle inadequado da hipertensão, mas a falta de adesão ao tratamento é certamente um dos fatores mais significativo (Barroso *et al.*, 2021).

12

Embora existam complementos e medicamentos aprovados no mercado, a necessidade de desenvolver novos compostos para prevenir e tratar as doenças cardiovasculares (DCV) ainda é grande (Allawadhi *et al.*, 2018). O uso de terapias alternativas e complementares, como as plantas medicinais, tem se tornado cada vez mais comum entre as opções de tratamento, especialmente nos países em desenvolvimento. A adoção dessas terapias é influenciada por uma variedade de fatores, incluindo aspectos culturais, facilidade de acesso e falsas percepções de segurança (Menetrier *et al.*, 2020).

2.3 Plantas medicinais

A utilização de plantas medicinais é considerada uma prática remota. Cada comunidade tem suas próprias técnicas de uso, em sua maioria baseadas no conhecimento

popular. Assim, a população tende a utilizar produtos naturais sem uma compreensão completa dos riscos e da eficácia de cada espécie (Tribess *et al.*, 2015; Chrysant, S.; Chrysant, G., 2017) A utilização tradicional de plantas baseia-se em crenças e saberes populares que se acumulam ao longo do tempo, refletindo uma combinação de práticas e saberes culturalmente transmitidos entre diferentes populações (Menetrier *et al.*, 2020).

As plantas medicinais possuem princípios ativos que podem oferecer ação profilática ou terapêutica no tratamento de doenças ou no controle de seus sintomas. E diante disso, na área da pesquisa, as plantas medicinais são consideradas alvo de interesse no setor tecnológico e científico, devido ao potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos sintéticos ou fitoterápicos (Leitão *et al.*, 2014; Saraiva *et al.*, 2015).

Nesse contexto, preparações ou substâncias derivadas de plantas, tais como extratos e óleos essenciais, são aplicados na área alimentícia e farmacêutica, por expressarem suas atividades medicinais (Ríos; Recio, 2005; Martins *et al.*, 2014). De maneira geral, diferentes preparações obtidas dos produtos naturais estão em destaque na área científica, e revelaram importantes atividades biológicas, incluindo efeitos antimicrobianos, antifúngicos, citotóxicos, antioxidantes, inseticidas e antiparasitários (Machado *et al.*, 2021).

No contexto brasileiro, a Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, lançada em 2006, é uma iniciativa significativa para garantir o acesso seguro e orientado às terapias com plantas medicinais e produtos fitoterápicos. Além de promover o acesso, essa política também valoriza a cultura e o conhecimento tradicional, melhora a atenção à saúde básica e impulsiona o desenvolvimento de profissionais, tecnologias e inovação nessa área (BRASIL, 2016).

13

Apesar do incentivo à pesquisa de plantas medicinais e ao desenvolvimento de fitoterápicos, a quantidade de estudos científicos que comprovam sua eficácia ainda é escassa, considerando a riqueza da biodiversidade nacional e o vasto conhecimento tradicional (Silva; Hahn, 2011). Na Universidade Federal da Grande Dourados, têm sido realizados estudos frequentemente com o intuito de elucidar as propriedades anti-hipertensivas de plantas populares, como evidenciado por Tolouei *et al.*, 2019, Lorençone *et al.*, 2021, Marques *et al.*, 2021 e outros.

Além das pesquisas voltadas para a etnofarmacologia, estudos etnobotânicos também são conduzidos, como o realizado por Coelho *et al.*, 2019, que compilou informações da medicina tradicional compartilhadas por curandeiros da região da Grande Dourados e catalogou plantas medicinais utilizadas e suas ações terapêuticas, muitas das quais ainda não possuem comprovação científica. É essencial reconhecer o vasto potencial da biodiversidade

brasileira, que oferece uma riqueza de recursos naturais ainda pouco explorados (Menetrier *et al.*, 2020; Conceição *et al.*, 2023). Nesse contexto, destaca-se o estudo da *Petiveria alliacea*, cujas propriedades anti-hipertensivas ainda não foram totalmente elucidadas.

2.3 1 *Petiveria alliacea* L.

O gênero *Petiveria* L. (Phytolaccaceae) é monotípico e está distribuído em regiões tropicais do continente Americano e África Subsaariana (Udulutsch *et al.*, 2002; Duarte; Lopes, 2005). No Brasil a *P. alliacea* é encontrada em quase todos os estados, sendo reconhecida por duas variedades distintas em número de ovários e cerdas. A *P. alliacea* var. *alliacea* com 4 cerdas apicais e folhas elípticas, e a *P. alliacea* var. *tetrandra* com 6 cerdas apicais e folhas lanceoladas (Udulutsch *et al.*, 2002).

Desenvolve-se, preferencialmente, em locais sombreados e subúmidos. Possui leve aroma aliáceo e apresenta-se como um arbusto perene como na Figura 1, que pode atingir a altura de até 5-150 cm (Luz *et al.*, 2016). Conforme o local de origem, a planta é reconhecida por diferentes nomes populares, entre eles estão a guiné, tipi, apacin, mucuracaá, anamú, zorrillo, bochecha, caá, embayayendo e ouoembo (Luz *et al.*, 2016; García-Pérez *et al.*, 2018; Kujawska; Schmeda-Hirschmann, 2022).

As formas de utilização são tanto internas, por infusão ou decocção das folhas ou raiz, e externas, na forma de emplastos ou banhos. Para o uso interno, as finalidades medicinais popularmente conhecidas são para tratamento de inflamações, diabetes, reumatismo, diurética, antirreumática, anti-helmíntica, antiespasmódica, antiemética, abortiva, analgésica,

14

antipirética, antitumoral, hipoglicemiante e anticancerígena, dentre outras (Luz *et al.*, 2016; Menetrier *et al.*, 2020; Kujawska; Schmeda-Hirschmann, 2022; Olajubutu *et al.*, 2022). Sua composição química evidencia alguns compostos sulfurados, como dibenzil e tribenzil sulfeto, esteróis, alcalóides, triterpenos e flavonoides. Os polissulfetos são compostos de grande relevância farmacológica, especialmente o trissulfeto de dibenzila (DTS), encontrado em todas as partes da planta (Blainski *et al.*, 2010; Luz *et al.*, 2016; Ballesteros ram *et al.*, 2020).



Figura 1. *Petiveria alliacea* L. popularmente conhecida como Guiné. Fonte: Fotografada pelo autor no Horto de Plantas medicinais da Universidade Federal da Grande Dourados - MS

É importante notar que a composição química da planta pode variar dependendo de vários fatores, como a região geográfica em que é cultivada e as condições de crescimento. As divergências nos resultados, dependendo do modo de preparação e da parte da planta utilizada, podem ser consequência da alteração nas concentrações de compostos bioativos da planta (García-Pérez *et al.*, 2018).

García-González *et al.*, 2006 realizou um estudo toxicológico (agudo e subcrônico) das folhas de *P. alliacea*, os autores relataram que nenhuma mortalidade nem sinais de toxicidade foram observados. Um outro estudo avaliou o efeito comportamental e oxidativo da parte inteira da planta a uma dose de 900 mg/kg em ratos machos e os resultados foram positivos para efeitos antidepressivo, ansiolítico, e pró-oxidativo. Os autores também sugerem que os polifenóis encontrados em *P. alliacea* podem ter mecanismos neuronais que potencialmente regulam a ansiedade, bem como o estresse oxidativo (De Andrade *et al.*, 2012).

15

Um estudo realizado por Blainski *et al.*, 2010 determinou o conteúdo de flavonoides presentes no extrato aquoso obtido das partes aéreas de *P. alliacea*. Os dados mostraram um teor de 1,34%, que é quase três vezes maior do que o teor de flavonoides presente no extrato obtido da planta inteira (0,52%). É amplamente reconhecido que as espécies medicinais que são ricas em compostos polifenólicos, inclusive flavonoides, são fortes candidatas a agentes diuréticos e hipotensivos (Livero *et al.*, 2016). Portanto, em nosso estudo, usamos a parte aérea de *P. alliacea*, que, de acordo com o uso tradicional, é descrita como diurética e anti hipertensiva (Coelho *et al.*, 2019).

2.4 Modelo SHR

Em 1963, um novo modelo experimental de hipertensão foi introduzido por Okamoto e Aoki, sem a necessidade de qualquer intervenção fisiológica, farmacológica ou cirúrgica. Através de uma reprodução genética cuidadosa, eles desenvolveram os ratos espontaneamente hipertensos (SHR), acasalando irmãos e irmãs que consistentemente produzem descendentes que eram naturalmente portadores de hipertensão, em 100% dos casos (Okamoto *et al.*, 1966). Desde então, o SHR tem sido amplamente reconhecido como um excelente modelo para a hipertensão experimental e pode ser usado como um modelo para estudos clínicos da hipertensão essencial humana.

A semelhança entre a hipertensão observada no SHR e na população humana é predisposição genética para a hipertensão sem uma causa específica identificada. Ambas também apresentam um aumento na resistência periférica total sem um aumento correspondente no volume sanguíneo ejetado. Além disso, as duas respondem positivamente ao tratamento com medicamentos (Udenfriend; Sidney, 1972; Trippodo; Frohlich, 1981; Gasparotto Junior *et al.*, 2011). O SHR apresenta a vantagem de utilização em pesquisa por ter uma vida útil relativamente curta, é pequeno, tem custos de manutenção relativamente baixos e é fácil de manter em biotérios. Essas características tornam o SHR uma escolha ideal para estudar a história natural da doença, os determinantes genéticos e as alterações fisiopatológicas da hipertensão essencial.

2.5 Cardiotoxicidade induzida por Isoprenalina

O Isoprenalina (cloridrato de álcool 3,4-di-hidroxi- α -[(isopropilamino)metil] benzílico) é um composto sintético que atua como um agonista β -adrenérgico simpatomimético. Este composto é comumente utilizado no tratamento de condições como

16

bradicardia, bloqueio cardíaco e torsade de pointes induzida por tioridazina (McMahon *et al.*, 2011; Lima *et al.*, 2022). A principal desvantagem em utilizar a terapia com o Isoprenalina (ISO) é a tendência em produzir radicais livres. Esses radicais causam estresse oxidativo resultando em danos progressivos às mitocôndrias e alterações nos parâmetros bioquímicos do coração, o que pode levar a lesões cardíacas (Kahn; Rona; Chappel, 1969; Wong; Thanikachalam; Ramamurthy, 2017; Allawadhi *et al.*, 2018).

Curiosamente, essa desvantagem tem sido explorada em pesquisas, usando o ISP como um modelo para estudar a proteção do coração por várias substâncias testadas. Assim, o ISP é frequentemente utilizado como um agente indutor padrão em estudos sobre os efeitos protetores e preventivos contra isquemia miocárdica, infarto do miocárdio (IM) e fibrose

cardíaca (Benjamin *et al.*, 1989; Jiang; Downing, 1990; Jia *et al.*, 2006; Jiang *et al.*, 2023)

O mecanismo de cardiotoxicidade não é claramente conhecido. Presume-se que gera radicais livres altamente tóxicos nos cardiomiócitos, que induzem apoptose e necrose após auto-oxidação (Benjamin *et al.*, 1989). Além da produção exógena de radicais livres também ocorre geração interna desses radicais quando há um acúmulo excessivo de catecolaminas em nosso corpo. Os radicais livres que são gerados desencadeiam a peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), levando a danos estruturais e funcionais no miocárdio (Kondo *et al.*, 1987).

17

3 OBJETIVO(S)

3.1 Geral

Avaliar o perfil da atividade cardioprotetora do extrato aquoso semipurificado obtido das partes aéreas de *P. alliacea* usando ratos hipertensos sob estresse de isoprenalina.

3.2 Específico

- Produzir e caracterizar o sobrenadante etanólico do infuso obtido das partes aéreas de *P. alliacea* (ESPA);
- Realizar o tratamento oral prolongado (28 dias) com o ESPA em ratos SHR tratados nos primeiros 4 dias com o Isoprenalina;
- Determinar a atividade diurética e hipotensora após o tratamento prolongado com diferentes doses do ESPA;
- Avaliar o padrão eletrocardiográfico e a reatividade vascular mesentérica; ● Mensurar os níveis de diferentes marcadores séricos que podem estar alterados durante a hipertensão;
 - Determinar o peso relativo do coração, rim, aorta e realizar análises histopatológicas;

18

4 MATERIAIS E MÉTODOS ARTIGO

4.1 Material vegetal

Partes áreas de *Petiveria alliacea* L. foram coletadas em junho de 2022 no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil (22°11'43.8"S 54°56'06.4"W). A um exemplar voucher sob o número 1651 foi autenticado e depositado no Herbário DDMS da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). O nome da planta foi confirmado na base de dados online “World Flora Online (WFO)” acessada em junho de 2022.

.4.2 Procedimento extrativo do sobrenadante etanólico do infuso de *Petiveria alliacea* L.

Partes aéreas de *P. alliacea* foram coletadas, limpas e secas em estufa com circulação forçada de ar a 35 °C por 3 dias. A partir do material seco e pulverizado, o extrato aquoso foi preparado através da infusão. O método de infusão foi produzida como o recomendado pelo uso popular (Coelho *et al.*, 2019). O infuso foi preparado com 100 g de planta seca e pulverizada para 1 L de água clorada em ebulição. A extração ocorreu por um período de 5 a 6 h, até atingir a temperatura ambiente (25 °C).

Em seguida, a infusão foi tratada com 3 volumes de etanol, que separou o precipitado do sobrenadante etanólico do infuso de *P. alliacea* (ESPA). O precipitado foi filtrado e o etanol foi removido por rotaevaporação e na sequência o ESPA foi liofilizado e mantido em armazenamento sob congelamento (- 20 °C.) com o rendimento final de 9,31%.

4.3 Animais

Ratos machos da variedade SHR e Wistar-Kyoto, com 3 meses de idade, pesando entre 300-350 g, foram obtidos do Biotério da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Os animais foram mantidos no biotério de pesquisa da FCS/UFGD, em ambiente com luz e temperatura controlados (ciclo claro/escuro de 12 horas; 22±2°C) com livre acesso água e comida. Para os diferentes protocolos experimentais o número de animais por grupos foi de 8 indivíduos. Todos os procedimentos executados apresentam GRAU DE INVASIVIDADE = 2 e estão de acordo com as Diretrizes Brasileiras Para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), e foram submetidos e aprovados previamente pela Comissão de Ética para Uso de Animais da UFGD segundo o Parecer/CP/FCS nº 136/2022 (Anexo 1).

19

4.4 Desenho experimental e avaliação da atividade diurética prolongada

Diferentes grupos de ratos Wistar-Kyoto e SHR foram randomizados e divididos em grupos de 8 indivíduos como na figura 2. O grupo naïve consistiu de animais Wistar-Kyoto que foram tratados oralmente com o veículo (água filtrada 1 mL/kg). O grupo de controle negativo foi composto por ratos SHR que foram tratados oralmente com o veículo. Três grupos diferentes de animais SHR receberam ESPA por gavagem em doses de 30, 100 e 300 mg/kg. O grupo de controle positivo consistiu de animais SHR tratados com metoprolol (10 mg/kg) por gavagem. Todos os tratamentos foram administrados uma vez por dia durante 28 dias. Além disso, todos os animais hipertensos (SHR) foram tratados com Isoprenalina (4,5 mg/kg) por via subcutânea uma vez ao dia durante 4 dias no início do tratamento, seguindo a

metodologia adaptada de Jiang *et al.*, 2023.

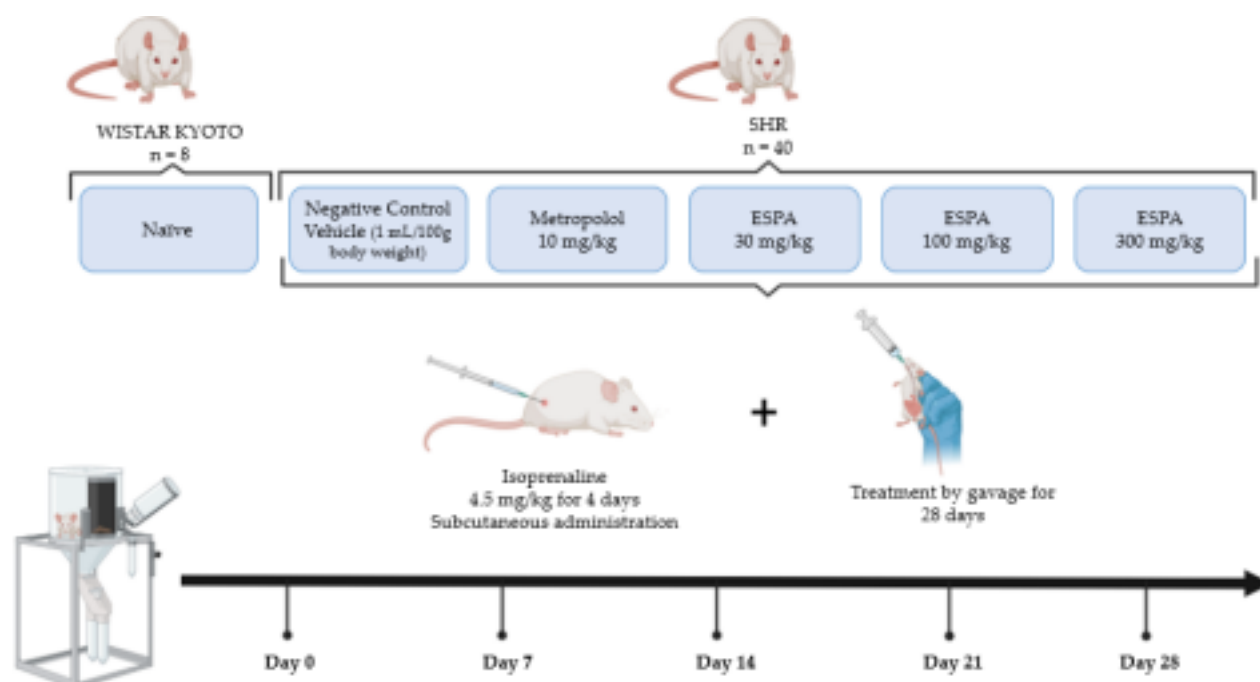


Figura 2. Ilustração do desenho experimental. Fonte: autor, 2024.

Semanalmente, a fim de promover a uniformidade corporal de sal e água, todos os animais receberam uma solução de cloreto de sódio (NaCl) à 0,9% (5 mL/100 g) uma hora antes do início dos experimentos. Para cada rato, a urina produzida após 8 horas (nos dias 0, 7, 14, 21 e 28) foi coletada (com auxílio de gaiolas metabólicas) em cilindros graduados. Do volume total de urina excretada, o pH, a densidade e as concentrações urinárias de sódio (Na^+), potássio (K^+), cloreto (Cl^-) e bicarbonato (HCO_3^-) foram mensuradas. Além disso, as

20

taxas de mortalidade foram monitoradas diariamente e o peso corporal foi registrado por uma balança analítica semanalmente.

Ao final do período experimental (dia 29), todos os animais foram submetidos ao aprofundamento anestésico com isoflurano (50-60%) administrado por via inalatória (pulmonar) em câmara de saturação. Posteriormente, todos os animais foram submetidos aos experimentos descritos abaixo.

4.4.1 Eletrocardiograma

Após a anestesia, todos os animais foram mantidos em decúbito dorsal. Quatro eletrodos (RL, RA, LL e LA) foram posicionados em ambos os pulsos e tornozelos. Uma pequena quantidade de gel condutor foi aplicada em cada interface dos eletrodos para melhor condutância elétrica. Um período de aclimatização de 5 minutos foi aguardado e, em seguida, as ondas eletrocardiográficas foram registradas por 5 minutos através de um eletrocardiógrafo. Os traços eletrocardiográficos (segmentos PR, QRS, QT e QTC; ondas P, Q, R e S) foram

registrados durante 5 minutos com um eletrocardiógrafo (WinCardio, Micromed, Brasília, Brasil). (WinCardio, Micromed, Brasília, Brasil).

4.4.2 Medida das pressões arterial

Após a eletrocardiografia, uma injeção subcutânea de heparina (20 UI) foi administrada em bolus em todos os animais. Posteriormente, a artéria carótida esquerda foi isolada, canulada e conectada a um transdutor de pressão acoplado a um sistema de gravação computadorizado (Chart v7.00 ADI Instruments, Austrália) onde os dados de pressão arterial sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca foram mensurados e gravados. Após 15 minutos necessários para a estabilização da pressão arterial, os valores das pressões sistólica, diastólica, média e da frequência cardíaca foram registrados por 5 minutos.

4.4.3 Reatividade vascular em leito mesentérico

Os leitos vasculares mesentéricos foram rapidamente isolados e preparados para a perfusão como descrito previamente (Kawasaki *et al.*, 1988, 1991). A artéria mesentérica superior foi canulada e lavada delicadamente uma solução de PSS (119 mM de NaCl; 4,7 mM de KCl; 2,4 mM de CaCl₂; 1,2 mM de MgSO₄; 25,0 mM de NaHCO₃; 1,2 mM de KH₂PO₄; 11,1 mM de dextrose e 0,03 mM EDTA) para eliminar o sangue de seu interior. Após a remoção do intestino inteiro e do leito vascular associado, o leito mesentérico foi

21

delicadamente separado. Somente quatro filiais arteriais principais do tronco mesentérico superior colocalizada próximo ao íleo terminal foram utilizadas.

Os leitos mesentéricos isolados foram acondicionados em cubas de vidro, mantidos a 37 °C, aerados com carbogênio (O₂ 95% e CO₂ 5%) e perfundidos a um fluxo constante de 4 mL/min com uma solução de PSS com auxílio de uma bomba peristáltica. O registro da pressão de perfusão foi feito através de um transdutor de pressão acoplado ao sistema de perfusão, interligado a um polígrafo computadorizado (Chart v7.00 ADI Instruments, Austrália).

Após um período de 30 minutos para estabilização, a integridade da preparação foi verificada por uma administração em bolus de 120 mmol de KCl. Em seguida, uma curva dose-resposta de fenilefrina (Phe; 1, 3, 10 e 30 nmol; 10-30 µL) foi realizada. Após um novo período de estabilização (30 minutos), as preparações foram continuamente profundidas com PSS associado com 3 µM de Phe para induzir um aumento prolongado na pressão de perfusão. Nestas condições, foram investigadas as alterações da reatividade vascular induzidas pela administração de acetilcolina (ACh; 0,1, 0,3, 1 e 3 nmol; 10-30 µL) e nitroprussiato de

sódio (NPS; 3, 10, 30 e 100 nmol; 10-30 µL). Os resultados obtidos foram comparados entre os diferentes grupos experimentais.

4.4.4 Coleta de sangue e análise bioquímica

Após a remoção dos leito vascular mesentérico foram obtidas amostras de sangue (4-5 mL) da artéria carótida previamente canulada. O soro foi obtido por centrifugação (1500 x g por 10 minutos). Em seguida, todos os animais foram submetidos à eutanásia por overdose de isoflurano, de acordo com as Diretrizes Práticas de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Os níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), ureia, creatinina, troponina T (cTNT), sódio e potássio foram medidos com um analisador bioquímico automatizado (Roche Cobas Integra 400 Plus). Os níveis de nitrotirosina (NT) foram determinados com um ensaio de imunoabsorção enzimática (MyBioSource, San Diego, CA, EUA).

Os níveis de malondialdeído (MDA) foram medidos com o uso de um kit de ensaio de MDA (Cavman Chemical, Ann Arbor, MI, EUA). Os níveis plasmáticos de nitrito foram

22

determinados pela redução enzimática do nitrato, de acordo com a técnica descrita por Schmidt *et al.*, 1989. A atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) no soro foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Santos *et al.*, 1985. Os níveis séricos de aldosterona foram determinados por radioimunoensaio.

4.4.5 Peso relativo do coração e análises histopatológicas do ventrículo esquerdo, arco aórtico e rim direito

Após a eutanásia, o coração foi retirado, seccionado longitudinalmente e limpo. Em seguida, o peso relativo do coração foi determinado (% em peso = peso absoluto do órgão x 100/peso corporal do animal). Parte do tecido cardíaco, rim direito e o arco aórtico foram colocados em formalina tamponada a 10%. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em álcool, limpas com xileno e embebidas em parafina. As amostras foram então seccionadas (5 µm), coradas com hematoxilina e eosina, e examinadas sob microscopia binocular Nikon Eclipse Si.

4.6 Análises estatísticas

Os dados foram analisados quanto à homogeneidade de variância e normalidade. As diferenças entre as médias foram determinadas usando análise de variância (ANOVA) de uma

ou duas vias seguidas pelo teste de Tukey. Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão (DP) e os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Os gráficos e as análises estatísticas irão ser realizados com auxílio do software GraphPad Prism versão 9.3.1. for macOS (GraphPad® Software, San Diego, CA, USA).

5. ARTIGO

Manuscrito formatado segundo regras de submissão do periódico científico.

Article

Cardioprotective effects of aqueous extract of *Petiveria alliacea* L. in hypertensive rats under isoprenaline stress

Luana Ale Bertoncello Pael¹, Luciane Barbosa Pessoa¹, Maria Luiza da Silva Fidelis¹, Aline Aparecida Macedo Marques¹, Karyne Garcia Tafarelo Moreno¹, Katiana Simões Lopes¹, Bianca Viana Silva¹, João Pedro Vilella Neto¹, Gabriela Pereira da Silva¹; Ariany Carvalho dos Santos², Roosevelt Isaías Carvalho Souza² e Arquimedes Gasparotto Junior^{1*}

¹Laboratório de Farmacologia Cardiovascular (LaFAC), Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados 79825-070, Brasil; luanaalee@hotmail.com (L.A.B.P.); lbpessoa02@gmail.com (L.B.P.); m.alufidelis@hotmail.com (M.L.S.d.F.); alinemarques_nutri@hotmail.com (A.A.M.M.); karynetafarelo@gmail.com (K.G.T.M.); bianca.viana.vs@gmail.com (B.V.S.); joavilella.site@gmail.com (J.P.V.N.); gabii.pereira6@gmail.com (G.P.d.S);

²Laboratório de Histopatologia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados 79825-070, Brasil; aryanisantos@ufgd.edu.br (A.C.d.S); rooseveltsouza@ufgd.edu.br (R.I.C.S.)

* Correspondence: arquimedesjunior@ufgd.edu.br; Tel.: +55-(67) -3410-2333; Fax: +55-(67) -3410-2321.

Abstract: Cardiovascular diseases are the leading causes of hospitalizations and deaths worldwide. The aim of the present study is to investigate the cardioprotective effects of the ethanol-soluble fraction obtained from the aerial parts of *P. alliacea* in hypertensive rats treated with isoprenaline. Aerial parts of *P. alliacea* were collected and the aqueous extract was obtained through infusion.

The infusion was then treated with ethanol, resulting in the ethanol-soluble fraction of *P. alliacea* (ESPA). Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats were divided into different experimental groups, including naïve, negative

blood pressure, mesenteric vascular bed reactivity, biochemical markers, and histopathology. Treatment with ESPA induced a significant acute natriuretic response. After 28 days, animals treated with ESPA 100 and 300 mg/kg showed reduced blood pressure levels and lipid peroxidation, resulting in the reversal of electrocardiographic changes and endothelial dysfunction induced by hypertension. The 28-day treatment with ESPA induces significant cardioprotective effects in hypertensive rats treated with isoprenaline. This effect appears to be dependent on an antioxidant response associated with the inhibitory effect on the angiotensin-converting enzyme.

Key words: Cardiovascular diseases; Herbal medicine; Hypertension; Phytolaccaceae

Citation: To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: Firstname Lastname

Received: date

Revised: date

Accepted: date

Published: date



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

control (vehicle), metoprolol (10 mg/kg), and ESPA (30, 100, and 300 mg/kg). All hypertensive groups received isoprenaline (4.5 mg/kg) subcutaneously once a day for 4 days. The treatment lasted for 28 days and was assessed for renal function, electrocardiographic profile,

1. Introduction

Cardiovascular diseases (CVD) are the leading causes of deaths and hospitalizations worldwide (Barroso *et al.*, 2021). In most cases, their prevention aims to mitigate the presence of behavioral and pathological risk factors, including overweight, obesity, hyperglycemia, hyperlipidemia, and hypertension [1, 2]. The most prevalent of CVD is hypertension, being the main catalyst of strokes, heart attacks, heart failure, and kidney failure [3, 4]. Despite the existence of effective therapies and medications, low adherence to treatments and the occurrence of side effects, stimulate the development of alternative or complementary therapies (Allawadhi *et al.*, 2018).

The use of complementary therapies, such as medicinal plants, has become increasingly common among treatment options, especially in developing countries. The traditional use of plants is based on popular beliefs and knowledge that have accumulated over time, reflecting a combination of culturally transmitted practices among different populations (Menetrier *et al.*, 2020). However, it is known that medicinal plants contain active principles that can offer prophylactic or therapeutic action in the treatment of various diseases or in the control of their symptoms [7, 8].

The *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) is an important plant species found in all states of Brazil, where it is popularly known as 'guiné' or 'anamu' [9, 10]. Regarding its use in traditional medicine, a study conducted with healers from the 'Grande Dourados' region, in the Brazilian state of Mato Grosso do Sul, identified the use of the species for the treatment of various diseases affecting the cardiovascular system [11, 12]

Phytochemical analysis showed the presence of alkaloids, flavonoids, steroids, triterpenes, tannins, saponins, phenolic compounds, coumarins, and glycosides in different preparations obtained from the species. In addition, medicinal properties including diuretic, anti-inflammatory, analgesic, anxiolytic, antispasmodic, antirheumatic, antitumor, antimicrobial, anti-helminthic, immunomodulatory, and neuroprotective actions have already been demonstrated [10, 13]. Considering the traditional use of *P. alliacea* for the treatment of cardiovascular disorders, and the lack of studies proving its effectiveness, the objective of this study was to evaluate the profile of the cardioprotective activity of the semi-purified aqueous extract obtained from the aerial parts of *P. alliacea* using hypertensive rats under isoprenaline stress.

2. Results

2.1 Renal function

On the first day of treatment, all hypertensive animals showed a significant increase in urine volume when compared to the animals in the naïve group (Table 1). It is worth noting that the group treated with ESPA (30 mg/kg) had a significantly higher urine volume compared to the animals in the NC. In the first 24 hours after treatment, the urine density of all SHR animals, regardless of treatment, was significantly

reduced compared to the rats in the naïve group. At the end of the experimental period (28th day), no statistically significant changes were observed in urine volume, pH, and density compared to the different experimental groups.

The data regarding the urinary excretion of sodium, potassium, chloride, and bicarbonate on days 1 and 28 are presented in **Table 2**. On the first day of treatment, all animals treated with ESPA (30, 100, and 300 mg/kg) showed a significant increase in renal sodium excretion compared to animals in the naïve or negative control groups. Urinary levels of potassium, chloride, and magnesium were not altered by any of the treatments. At the end of the experimental period (day 28), none of the treatments were able to alter the levels of urinary electrolytes compared to animals in the naïve group.

Table 1. Urine volume (mL/100g body weight), pH and density in the different experimental groups on days 1 and 28.

	Parameter	Naïve	NC	METO	ESPA 30 mg	ESPA 100 mg	ESPA 300 mg
Day 1							
24-hour urine/100g		6,30 ± 1,52	10,28 ± 4,18 ^a	11,99 ± 2,87 ^a	14,43 ± 1,84 ^{ab}	12,84 ± 2,42 ^a	12,03 ± 1,97 ^a
	pH	7.23 ± 0.38	7.29 ± 0.46	7.17 ± 0.47	7.33 ± 0.49	7.46 ± 0.43	7.29 ± 0.51
	Density	1033 ± 5.63	1014 ± 2.61 ^a	1014 ± 1.66 ^a	1013 ± 2.23 ^a	1017 ± 6.93 ^a	1015 ± 1.00 ^a
Day 28							
24-hour urine/100g		7,46 ± 2,24	8,54 ± 1,61	7,98 ± 1,65	10,05 ± 3,69	8,83 ± 2,79	7,24 ± 0,80
	pH	7.47 ± 0.19	8.31 ± 0.53	8.36 ± 0.58	8.10 ± 0.70	7.84 ± 0.85	8.39 ± 0.59
	Density	1032 ± 7.96	1030 ± 8.05	1031 ± 7.69	1029 ± 6.85	1027 ± 8.89	1032 ± 8.09

The statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's test. The data are presented as mean ± standard deviation. a $p \leq 0.05$ when compared to the naïve group; b $p \leq 0.05$ when compared to the negative control group; ESPA: Ethanol soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; METO: metoprolol; NC: negative control.

26

Tabela 2. Urinary levels of sodium (Na⁺), potassium (K⁺), chloride (Cl⁻), and bicarbonate (HCO₃⁻) in the different experimental groups on days 1 and 28.

	Parameter	Naïve	NC	METO	ESPA 30 mg	ESPA 100 mg	ESPA 300 mg
Day 1							
Na ⁺ (mmol/L)		103.1 ± 7.71	112.2 ± 8.11	110.2 ± 7.71	134.2 ± 7.14 ^{ab}	129.5 ± 8.21 ^{ab}	131,1 ± 7,53 ^{ab}
K ⁺ (mmol/L)		32.1 ± 3.21	33.6 ± 4.01	29.1 ± 3.56	27.3 ± 4.12	30.1 ± 3.41	32.9 ± 3.55
Cl ⁻ (mmol/L)		142.1 ± 11.62	140.2 ± 11.83	139.1 ± 12.41	140.7 ± 11.60	135.1 ± 13.25	137.3 ± 12.14
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)		210.1 ± 22.74	213.1 ± 19.16	221.3 ± 19.12	217.3 ± 21.59	222.7 ± 19.35	216.5 ± 19.72
Day 28							
Na ⁺ (mmol/L)		109.3 ± 8.2	100.7 ± 7.13	105.5 ± 8.66	108.2 ± 8.71	114.5 ± 9.24	104.5 ± 8.08
K ⁺ (mmol/L)		29.3 ± 4.01	30.1 ± 3.53	27.3 ± 4.11	30.4 ± 4.42	30.6 ± 3.99	27.6 ± 4.22
Cl ⁻ (mmol/L)		135.3 ± 12.75	134.1 ± 8.89	140.4 ± 13.55	137.6 ± 10.88	147.1 ± 12.72	146.8 ± 11.91
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)		221.3 ± 25.1	233.4 ± 21.58	227.7 ± 22.46	228.6 ± 19.44	236.5 ± 23.11	217.5 ± 19.77

The statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's test. The data are presented as mean ± standard deviation. a $p \leq 0.05$ when compared to the naïve group; b $p \leq 0.05$ when compared to the negative control group; ESPA: Ethanol soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; METO: metoprolol; NC: negative control.

The quantitative data obtained in the electrocardiogram for normotensive (naïve) and hypertensive rats treated with vehicle, metoprolol or ESPA (30, 100 and 300 mg/kg) are shown in Table 3. The animals in the NC group showed a significant increase in the PR segment compared to the naïve group. The animals treated with metoprolol and ESPA at a dose of 300 mg/kg were able to reduce the values for the PR segment, with similar data to those obtained in the naïve animals. Another alteration observed was a significant increase in the QT and QTc segments induced by the higher dose of ESPA (300 mg/kg), showing an important prolongation of ventricular repolarization. The other parameters evaluated were not altered by any of the treatments performed.

27

Tabela 3. Electrocardiographic profile of naïve or hypertensive rats that were treated with the vehicle, ESPA (30, 100, and 300 mg/kg) or metoprolol.

Parameter Naïve NC METO ESPA 30 mg ESPA 100 mg ESPA 300 mg Segment PR (ms) 32.63 ± 5.78 41.25 ± 4.52^a 38.60 ± 8.73 41.50 ± 3.93^a 41.63 ± 2.77^a 38.57 ± 3.79 Segment QRS (ms) 39.00 ± 4.34 40.75 ± 4.80 37.60 ± 4.33 43.29 ± 6.70 41.50 ± 3.16 41.29 ± 1.97 Segment QT (ms) 63.17 ± 8.42 74.00 ± 7.68 70.40 ± 10.16 73.13 ± 9.12 73.86 ± 1.46 77.50 ± 7.66^a Segment QTc (ms) 146.00 ± 31.23 178.10 ± 17.53 155.60 ± 34.20 184.5 ± 18.53 174.9 ± 13.22 197.5 ± 16.00^{a,b} Wave P (mV) 0.05 ± 0.02 0.05 ± 0.00 0.04 ± 0.01 0.06 ± 0.02 0.05 ± 0.01 0.05 ± 0.02 Wave Q (mV) -0.02 ± 0.01 -0.01 ± 0.00 -0.02 ± 0.01 -0.01 ± 0.01 -0.01 ± 0.01 -0.01 ± 0.00 Wave R (mV) 0.17 ± 0.07 0.17 ± 0.04 0.17 ± 0.06 0.16 ± 0.52 0.21 ± 0.05 0.21 ± 0.06 Wave S (mV) -0.02 ± 0.05 -0.02 ± 0.03 -0.04 ± 0.02 0.02 ± 0.04 -0.05 ± 0.03 0.08 ± 0.03

The statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's test. The data are presented as mean ± standard deviation. a $p \leq 0.05$ when compared to the naïve group; b $p \leq 0.05$ when compared to the negative control group; ESPA: Ethanol soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; METO: metoprolol; NC: negative control.

2.3 Blood pressure (BP) and heart rate (HR)

The values obtained for BP and HR levels for the naïve and hypertensive rats in the NC, metoprolol, or ESPA (30, 100, and 300 mg/kg) treated groups are presented in Table 4. Hypertensive animals treated only with the vehicle showed a significant increase in SBP and DBP levels compared to naïve group animals. Animals treated with metoprolol or ESPA at doses of 100 and 300 mg/kg had statistically lower SBP and DBP values than NC group animals. Additionally, all animals treated with metoprolol or ESPA (100 and 300 mg/kg) showed a significant reduction in HR when compared to the naïve rats.

Tabela 4. Hemodynamic data from naïve or hypertensive rats that were treated with either the vehicle, ESPA (at doses of 30, 100, and 300 mg/kg), or metoprolol.

Parameter Naïve NC METO ESPA 30 mg ESPA 100 mg ESPA 300 mg SBP (mmHg) 128.2 ± 14.21 164.2 ± 16.23^a 141.1 ± 14.21^b 143.0 ± 24.38 120.4 ± 24.12^b 137.5 ± 14.21^b DBP (mmHg) 78.91 ± 7.37 109.3 ± 10.03^a 69.66 ± 16.88^b 81.31 ± 15.08 68.48 ± 18.13^b 75.59 ± 22.69^b MAP (mmHg) 101.7 ± 16.41 124.5 ± 30.69 111.0 ± 24.96 111.8 ± 21.11 112.7 ± 21.43 111.0 ± 23.51 HR (bpm) 392.60 ± 74.81 336.50 ± 17.89 316.5 ± 18.88^a 332.21 ± 21.33 304.50 ± 26.68^a 326.10 ± 17.85^a

The statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's test. The data are presented as mean ± standard deviation. a $p \leq 0.05$ when compared to the naïve group; b $p \leq 0.05$ when compared to the negative control group; ESPA: Ethanol-soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; DBP: diastolic blood pressure; HR: heart rate; MAP: mean arterial pressure; METO: metoprolol; NC: negative control; SBP: systolic blood pressure.

2.4 Reactivity of the mesenteric vascular bed (MVB)

The values obtained for the reactivity of the mesenteric vascular bed for normotensive (naïve) and hypertensive rats treated with vehicle, 28

metoprolol, or ESPA (30, 100, and 300 mg/kg) are shown in **Table 5**. After the administration of Phe 3 and 10 nmol, the groups treated with metoprolol and ESPA (30, 100, and 300 mg/kg) showed a significant reduction in the contractile capacity of the mesenteric arteries compared to the naïve group. Only animals treated with metoprolol were able to show a significant reduction in the contractile response induced by Phe at the 30 nmol dose. The vasodilatory response to ACh 0.1 nmol was statistically superior in the groups treated with ESPA 100 and 300 mg/kg compared to the naïve rats. All other evaluated parameters did not show significant changes.

Tabela 5. Reactivity of the mesenteric vascular bed of naïve or hypertensive rats that were treated with vehicle, ESPA or metoprolol after administration of Phe, ACh and NPS.

	Drugs	Naïve	NC	METO	ESPA 30 mg	ESPA 100 mg	ESPA 300 mg
Phe (nmol)							
1		3.29 ± 2.65	1.03 ± 2.29	1.39 ± 1.61	0.94 ± 1.28	2.58 ± 3.24	1.85 ± 1.91
3		26.4 ± 25.53	33.4 ± 12.12	2.3 ± 2.09 ^{ab}	4.49 ± 2.53 ^{ab}	4.29 ± 3.25 ^{ab}	8.43 ± 3.21 ^{ab}
10		55.0 ± 23.81	59.2 ± 13.21	14.7 ± 17.50 ^{ab}	24.9 ± 8.55 ^{ab}	22.0 ± 3.93 ^{ab}	23.4 ± 8.12 ^{ab}
30		105.1 ± 31.75	86.6 ± 33.87	35.7 ± 26.63 ^a	53.6 ± 23.91	61.2 ± 35.26	66.4 ± 31.48
ACh (nmol)							
0.1		-9.81 ± 9.46	-28.9 ± 14.87	-31.4 ± 26.20	-27.3 ± 14.90	-37.6 ± 13.71 ^a	-35.1 ± 14.11 ^a
0.3		-17.07 ± 10.19	-39.3 ± 21.69	-33.6 ± 32.91	-32.0 ± 19.71	-38.9 ± 21.08	-32.6 ± 19.22
1		-32.12 ± 9.69	-50.1 ± 25.60	-44.7 ± 35.37	-35.9 ± 17.80	-30.1 ± 24.88	-31.4 ± 18.46
3		-34.38 ± 16.83	-43.7 ± 22.68	-38.2 ± 33.37	-44.6 ± 10.26	-36.8 ± 17.29	-27.7 ± 18.46
NPS (nmol)							
3		-24.22 ± 14.12	-26.4 ± 18.01	-35.1 ± 11.07	-23.0 ± 11.64	-35.4 ± 17.69	-33.6 ± 13.33
10		-25.24 ± 17.24	-33.4 ± 12.59	-18.9 ± 13.50	-25.7 ± 16.16	-29.6 ± 11.82	-23.5 ± 13.92
30		-15.5 ± 9.86	-28.5 ± 16.19	-10.7 ± 13.48	-24.4 ± 13.60	-24.1 ± 8.96	-23.7 ± 17.50
100		-7.44 ± 8.05	-18.9 ± 9.95	-9.05 ± 8.75	-13.1 ± 10.40	-19.7 ± 14.51	-15.72 ± 11.40

The statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's test. The data are presented as mean ± standard deviation. a p ≤ 0.05 when compared to the naïve group; b p ≤ 0.05 when compared to the negative control group; ESPA: Ethanol-soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; ACh: acetylcholine; METO: metoprolol; NC: negative control; Phe: phenylephrine; NPS: sodium nitroprusside.

2.5 Serum biochemical parameters

The values for the different serum biochemical parameters obtained from normotensive (naïve) and hypertensive rats treated with vehicle, metoprolol or ESPA (30, 100 and 300 mg/kg) are shown in **Table 6**. Hypertensive animals treated only with the vehicle (NC) showed a significant reduction in serum nitrite levels, accompanied by a significant increase in ACE activity and elevation in aldosterone and MDA levels. Treatments with ESPA at doses of 100 and 300 mg/kg were able to significantly increase nitrite and NT levels, maintaining NT values above those found in naïve animals. In addition, both doses of ESPA were also able to significantly reduce serum levels of MDA, aldosterone, and ACE activity, with values similar to those found in naïve animals. Treatment with metoprolol was also able to reduce ACE activity and serum aldosterone levels. On the other hand, in animals treated with metoprolol, MDA, NT, and nitrite levels were not different 29

from those observed in the NC group animals. All other parameters evaluated did not undergo significant changes.

Table 6. Serum biochemical parameters of the different experimental groups at the end of 28 days of treatment with vehicle, metoprolol, ESPA 300, 100, and 300 mg/kg.

Parameter	Naïve	NC	METO	ESPA 30 mg	ESPA 100 mg	ESPA 300 mg	AST (U/L)	39.4 ± 5.33	35.2 ± 4.77	36.3 ± 5.21	32.1 ± 6.01	30.5 ± 5.21	33.9 ± 5.99	ALT (U/L)	32.2 ± 4.11	32.2 ± 4.11	32.2 ± 4.11	32.2 ± 4.11	32.2 ± 4.11	32.2 ± 4.11	32.2 ± 4.11	cTNT (µg/L)																																															
	0.11 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.11 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.12 ± 0.02	Nitrite (µM)	4.84 ± 0.83	2.62 ± 0.77 ^a	2.77 ± 0.67 ^a	3.51 ± 0.77	4.92 ± 0.86 ^b	5.34 ± 1.03 ^b	NT (µmol/L)	0.010 ± 0.004	0.013 ± 0.003	0.014 ± 0.004	0.016 ± 0.004	0.023 ± 0.005 ^{ab}	0.029 ± 0.006 ^{abc}	MDA (µmol/L)	1.43 ± 0.29	2.52 ± 0.43 ^a	2.40 ± 0.50 ^a	1.92 ± 0.54	1.37 ± 0.15 ^{bc}	1.28 ± 0.19 ^{bc}	Na ⁺ (mg/dL)	125.1 ± 8.3	129.3 ± 6.4	127.3 ± 7.1	123.8 ± 7.2	124.7 ± 6.4	123.3 ± 8.5	K ⁺ (mg/dL)	5.5 ± 1.4	5.4 ± 1.2	5.3 ± 1.3	5.0 ± 1.0	5.2 ± 1.3	5.9 ± 1.1	Urea (mg/dL)	27.1 ± 3.66	30.3 ± 2.21	28.4 ± 3.11	29.7 ± 3.89	26.6 ± 3.42	25.7 ± 3.17	Creatinine (mg/dL)	0.75 ± 0.12	1.02 ± 0.22	0.85 ± 0.18	0.92 ± 0.16	0.90 ± 0.19	0.81 ± 0.18	Aldosterone (pg/mL)	122.4 ± 7.61	150.3 ± 9.21 ^a	117.6 ± 8.21 ^b	135.5 ± 10.91	120.4 ± 9.77 ^b	117.2 ± 8.45 ^b	ACE-activity (mmol/min/mL)	90.3 ± 7.21	115.3 ± 8.65 ^a	87.3 ± 8.87 ^b	99.2 ± 9.99	85.1 ± 9.12 ^b	82.2 ± 8.80 ^b

The statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's test. The data are presented as mean ± standard deviation. a p ≤ 0.05 when compared to the naïve group; b p ≤ 0.05 when compared to the negative control group; c p ≤ 0.05 when compared to the METO group; d p ≤ 0.05 when compared to the ESPA 30 mg/kg; ESPA: Ethanol-soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; ACE: angiotensin-I-converting enzyme; ALT: alanine transaminase; AST: aspartate aminotransferase; cTNT: cardiac troponin T; MDA: malondialdehyde; METO: metoprolol; NC: negative control; NT: nitrotyrosine.

2.6 Body weight gain and relative organ weight

The body weight gain and relative heart weight of the different experimental groups are presented in **Table 7**. A significant increase in the relative weight of the heart was observed in all hypertensive animals, regardless of the treatments, when compared to the animals in the naïve group.

Similarly, the body weight gain of all hypertensive groups was statistically higher than what was observed in naïve animals.

30

Table 7. Body weight gain (BWG) and relative heart weight (RHW) of the different experimental groups at the end of 28 days of treatment with vehicle, metoprolol, ESPA 300, 100, and 300 mg/kg.

Parameter	Naïve	NC	METO	ESPA 30 mg	ESPA 100 mg	ESPA 300 mg	BWG	35.25 ± 6.45	53.75 ± 10.17 ^a	50.13 ± 12.98 ^a	52.33 ± 13.44 ^a	59.11 ± 11.30 ^a	44.44 ± 9.97 ^a	RHW	0.247 ± 0.027	0.380 ± 0.016 ^a	0.366 ± 0.009 ^a	0.409 ± 0.081 ^a	0.373 ± 0.034 ^a	0.386 ± 0.019 ^a

The statistical analyses were conducted using one-way ANOVA followed by Tukey's test. The data are presented as mean ± standard deviation. a p ≤ 0.05 when compared to the naïve group; ESPA: Ethanol-soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; METO: metoprolol; NC: negative control.

2.7 Histopathological analysis

The representative histological images of the left ventricle, aortic arch, and right kidney of the naïve group, and of the animals treated with the vehicle (NC), metoprolol, and ESPA (at its highest dose) are presented in **Figure 1**. None of the experimental groups showed any signs of cellular infiltration, inflammation, fibrosis, hypoplasia, hyperplasia, hypertrophy, ischemia, apoptosis, or necrosis in the evaluated tissues.

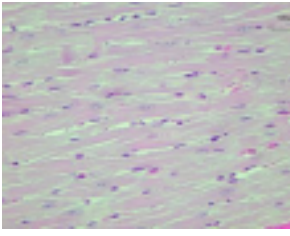
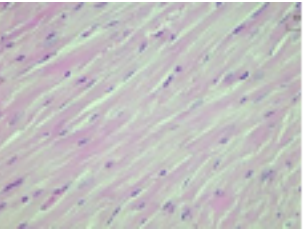
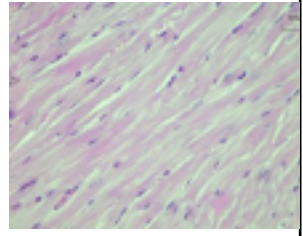
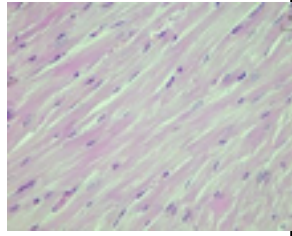
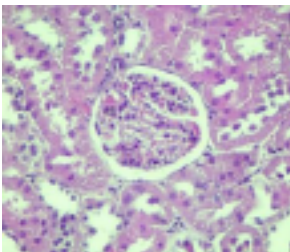
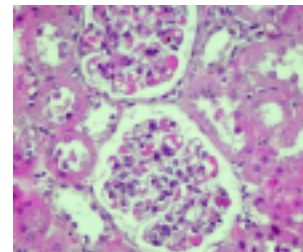
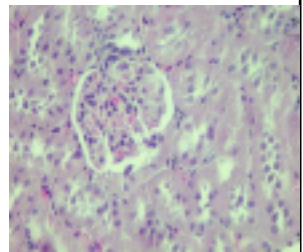
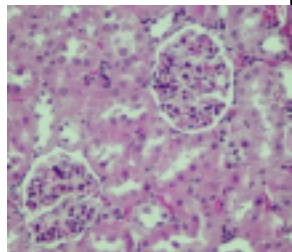
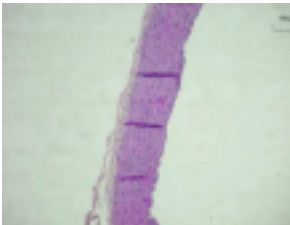
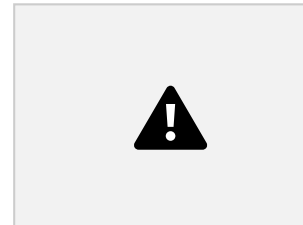
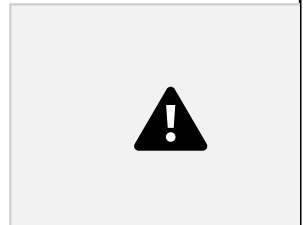

			
Heart, HE 40X (naïve)	Heart, HE 40X (NC)	Heart, HE 40X (METO)	Heart, HE 40X (ESPA 300)
			
Kidney, HE 40X (naïve)	Kidney, HE 40X (NC)	Kidney, HE 40X (METO)	Kidney, HE 40X (ESPA 300)
			
Aorta, HE 40X (naïve)	Aorta, HE 40X (NC)	Aorta, HE 40X (METO)	Aorta, HE 40X (ESPA 300)

Figura 1. Representative histological sections of the heart, kidney, and aortic arch at the end of 28 days of treatment with vehicle, metoprolol, and ESPA 300 mg/kg. ESPA: Ethanol-soluble fraction of *Petiveria alliacea* L; METO: metoprolol; NC: negative control.

31

3. Discussion

Cardiovascular diseases (CVD) have a high prevalence and are the leading cause of deaths worldwide. Among them, hypertension is the main contributor to the development and worsening of different clinical conditions, including strokes, heart attacks, heart failure, and kidney failure [2, 4]. Despite the availability of treatment, disease control is not always adequate and access to synthetic medications is irregular in most underdeveloped countries, leading to the search for alternative or complementary therapies. In this sense, the use of medicinal plants is highlighted worldwide, becoming the main therapeutic means for some population groups.

Although the use of natural products is an undeniable practice, in many cases, there is a lack of adequate data on the efficacy and safety of the preparations used. Therefore, preclinical trials are essential to provide the

necessary scientific basis for the development of new drugs. In this study we propose the use of a model using SHR associated with a beta adrenergic agonist, with the objective of accelerating the appearance of cardiovascular complications. The SHR has been used as a well established model of genetic hypertension and age-dependent left ventricular dysfunction. It is expected that more than 50% of the animals will show clinical signs of heart failure at the age of 18-24 months [14, 15] As these functional changes take significant time, we opted to use isoprenaline as a catalyst. It is known that isoprenaline increases oxidative stress and lipid peroxidation in cardiac muscle cells (Benjamin *et al.*, 1989). It is also responsible for increasing intracellular calcium (Mann *et al.*, 1992) and activating the renin-angiotensin system (Grimm *et al.*, 1998), which can lead to inflammation (Murray, Prabhu and Chandrasekar, 2000) and myocardial necrosis. In our study, all SHR treated with isoprenaline and not receiving any treatment, showed significant elevation in blood pressure, electrocardiographic alterations, and increase in relative heart weight. Additionally, we observed a significant increase in oxidative stress and plasma ACE activity, resulting in elevated levels of serum aldosterone. So, under these conditions, we evaluated the efficacy of *Petiveria alliacea*, a medicinal species widely used in Brazil.

Available data show that the main secondary metabolites found in *P. alliacea* extracts are polyphenolic compounds. Cal *et al.* (Cal *et al.*, 2022) investigated the phytochemical compounds found in the aqueous extract obtained from the aerial parts of the species, and demonstrated the presence of protocatechuic acid, cinnamic acids, catechin, and epicatechin, which are related to their antioxidant activities. A study conducted by Blainsky *et al.* (Blainski *et al.*, 2010) determined the content of flavonoids present in the aqueous extract obtained from the aerial parts of *P. alliacea*. The data showed a content of 1.34%, which is almost three times higher than the flavonoid content present in the extract obtained from the whole plant (0.52%). It is widely recognized that medicinal species that are rich in polyphenolic compounds, including flavonoids, are strong candidates for diuretic and hypotensive agents (Livero *et al.*, 2016). Therefore, in our study, we used the aerial part of *P. alliacea*, which, according to traditional use, is described as a diuretic and antihypertensive (Coelho *et al.*, 2019). Furthermore, García-González

32

et al. (García-González *et al.*, 2006) demonstrated that the species does not induce any signs of toxicity following acute and prolonged administration in rodents.

The first observation regarding treatment with ESPA refers to renal function. Hypertension is closely related to cardiac hypertrophy and progressive renal disease (Braun *et al.*, 2014). Urinary volume and renal electrolyte excretion are also closely related to renal function (Wirz, Geigy and Basel, 1961). It is worth noting that, on the first day of treatment, all hypertensive animals showed an increase in urine excretion, possibly due to the increase in blood pressure and glomerular filtration rate. However, renal sodium excretion was significantly elevated only in SHR treated with ESPA, indicating a possible acute natriuretic activity. Despite the acute diuretic effects, on the twenty eighth day of treatment, the volume and urinary sodium concentration were reduced in all hypertensive animals. Based on serum levels of urea and creatinine, as well as the absence of renal histopathological lesions, it is likely that the reduction in diuretic effects is due to compensatory hemodynamic changes, as observed with other clinically used diuretics (Blowey, 2016).

It is widely recognized that the increased cardiac workload and oxidative stress induced by hypertension play a significant role in inducing ventricular hypertrophy, and directly contribute to endothelial dysfunction (Li *et al.*, 2020). Furthermore, antihypertensive drugs that inhibit the renin-angiotensin system (such as ACE inhibitors) have pleiotropic effects based on their antioxidant properties, exerting cardioprotective effects in addition to their antihypertensive response (Wzgarda *et al.*, 2017). The treatment with ESPA (100 and 300 mg/kg) for 28 days resulted in a significant antihypertensive and antioxidant response, reducing Phe's vasoconstrictor response and increasing vascular endothelium-mediated vasodilation. Although biochemical data suggest that the antihypertensive effect of ESPA is caused by inhibiting ACE activity, leading to a decrease in serum aldosterone levels, we believe that the antioxidant effect is not directly linked to ACE inhibition but rather to the main action of polyphenolic secondary metabolites. In our study, the antioxidant activity was demonstrated by a decrease in lipid peroxidation and an increase in serum nitrite levels, which is an indirect measure of NO availability. One of the byproducts of NO metabolism is peroxynitrite anion, responsible for tyrosine nitration and an increase in NT levels. Therefore, NT levels can be considered as an indicator of NO production (Möller *et al.*, 2019). Thus, we hypothesize that the polyphenolic compounds present in *P. alliacea* can increase the activity/expression of endothelial nitric oxide synthase, leading to an enhancement of NO generation in the cardiovascular system (Pechanova, Dayar and Cebova, 2020).

Despite the promising data, an electrocardiographic alteration caught our attention. Although the prolongation of the QR interval is a marker for diastolic dysfunction in early hypertension (Boles *et al.*, 2010), which was reversed with the reduction of blood pressure levels, the data on the QT and QTc intervals are concerning. The prolonged treatment with the highest dose of ESPA (300 mg/kg) induced a significant prolongation effect on the QT and QTc intervals. QT interval prolongation indicates an

33

increased risk of life-threatening arrhythmia called torsade's de pointes (TdP). Torsade's de pointes is a subtype of polymorphic ventricular tachycardia, which typically occurs in patients with prolonged QT interval. Many drugs available on the market, including cardiovascular drugs, may cause QT interval prolongation and TdP, potentially leading to ventricular fibrillation and sudden death (Tisdale, 2016). Despite the alarming results, we cannot yet confirm whether this effect is solely due to treatment with ESPA or if it is influenced by the increase in heart size (evidenced by relative weight) that persisted in all hypertensive animals regardless of treatment. Perhaps a reduction in blood pressure levels for a longer period could reverse this alteration and help us understand the true role of ESPA. Therefore, new electrophysiological studies should be conducted in pre-clinical models using non-rodents to evaluate the cardiovascular risks associated with prolonged use of *P. alliacea* extracts.

This study presents two important limitations. Firstly, it remains unknown which secondary metabolites are primarily responsible for the observed cardioprotective activity. In this case, we hypothesize that the effect may result from a synergistic and coordinated action of different secondary metabolites. Lastly, the possible synergistic or additive effects of ESPA associated with metoprolol were not evaluated. Future studies should address whether the cardioprotective effects of ESPA can be enhanced by simultaneous administration of a conventional cardioprotective medication.

4. Materials and methods

4.1 Drugs and salts

The drugs, salts, and solutions used were heparin (Hipolabor, Belo Horizonte, MG, Brazil), and isoflurane (BioChimico, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Phenylephrine (Phe), sodium nitroprusside (SNP), acetylcholine (ACh), metoprolol, potassium chloride (KCl), calcium chloride (CaCl₂), sodium chloride (NaCl), sodium bicarbonate (NaHCO₃), magnesium sulfate (MgSO₄), potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄), ethylenediaminetetraacetic acid, and dextrose were purchased from Sigma-Aldrich. All other reagents were of analytical grade.

4.1 Plant material

Aerial parts of *Petiveria alliacea* L. were collected in the municipality of Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil (22°11'43.8"S 54°56'06.4"W). A voucher specimen under the number 1651 was authenticated and deposited at the DDMS Herbarium of the Federal University of Grande Dourados (UFGD).

4.2 Obtaining the purified aqueous extract

The aerial parts of *P. alliacea* were cleaned and dried in an oven with forced air circulation at 35 °C for 3 days. From the dried and pulverized material, the aqueous extract was prepared through infusion. The infusion method was produced as recommended by popular use

34

(Coelho *et al.*, 2019). The infusion was prepared with 100 g of dried and pulverized plant for 1 L of boiling chlorinated water. Extraction took place for a period of 5 to 6 hours, until reaching room temperature (25 °C).

Then, the infusion was treated with 3 volumes of ethanol, which separated the precipitate from ethanol-soluble fraction of the *P. alliacea* (ESPA). The precipitate was filtered, and the ethanol was removed by rotary evaporation, and then the ESPA was lyophilized and stored (-20 °C) (yield of 9.31%).

4.3 Animals

Male SHR and Wistar-Kyoto rats, 3 months old, weighing between 300-350 g, were obtained from the Animal Facility of the Federal University of Grande Dourados (UFGD). The animals were kept in an environment with controlled light and temperature (12-hour light/dark cycle; 22 ± 2°C) with free access to water and food. For the different experimental protocols, the number of animals per group was 8 individuals. All procedures performed were submitted and approved in advance by the Ethical Committee for Animal Use of UFGD (Authorization No. 136/2022).

4.4 Experimental design

Different groups of Wistar-Kyoto and SHR rats were randomized and divided into groups of 8 individuals. The naive group consisted of Wistar-Kyoto animals that were treated orally with the vehicle (filtered water 1 mL/kg). The negative control group comprised of SHR rats that

were treated orally with the vehicle. Three different groups of SHR animals received ESPA by gavage at doses of 30, 100, and 300 mg/kg. The positive control group consisted of SHR animals treated with metoprolol (10 mg/kg) by gavage. All treatments were administered once a day for 28 days. Additionally, all hypertensive animals (SHR) were treated with Isoprenaline (4.5 mg/kg) subcutaneously once a day for 4 days, following the methodology adapted from Jiang *et al.*, 2023.

4.4.1 Renal function

After a fasting period of 6 hours, aimed at promoting body fluid and salt uniformity, all animals were orally administered a 0.9% sodium chloride (NaCl) solution (5 mL/100 g) one hour before the experiments. For each rat, the urine produced after 24 hours (on days 1 and 28) was collected (using metabolic cages) in graduated cylinders. From the total volume of urine excreted, the pH, density, and urinary concentrations of sodium (Na⁺), potassium (K⁺), chloride (Cl⁻), and bicarbonate (HCO₃⁻) were measured.

4.4.2 Electrocardiography

On the morning of the 29th, all animals were anesthetized with 1.5 to 3% isoflurane using a system for inhalation anesthesia for rodents. Subsequently, all animals were placed in the dorsal decubitus position and four electrodes (RL, RA, LL, and LA) were positioned on both wrists and ankles. A small amount of conductive gel was applied to each

35

electrode interface for better electrical conductivity. The electrocardiographic traces (PR, QRS, QT, and QTC segments; P, Q, R, and S waves) were recorded for 5 minutes using an electrocardiograph (WinCardio, Micromed, Brasília, Brazil).

4.4.3 Blood pressure measurement

After electrocardiography, a subcutaneous injection of heparin (20 IU) was administered in bolus to all animals. Subsequently, the left carotid artery was isolated, cannulated, and connected to a pressure transducer coupled to a computerized recording system (Chart v7.00 ADI Instruments, Australia). After 15 minutes for blood pressure stabilization, the systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), mean arterial pressure (MAP), and heart rate (HR) were recorded for 5 minutes.

4.4.4 Mesenteric vascular bed (MVB) reactivity

After the blood pressure measurement, and still under anesthesia, the MVBs were isolated and prepared for perfusion. The superior mesenteric artery was cannulated and gently washed with a solution of physiological saline solution (PSS: 119 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.4 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 25.0 mM NaHCO₃, 1.2 mM KH₂PO₄, 11.1 mM dextrose, and 0.03 mM EDTA). After removing the intestines, the MVBs were carefully separated. The MVBs were placed in a glass organ bath system, maintained at 37 °C, aerated with carbogen (O₂ 95% and CO₂ 5%), and perfused at a constant flow rate of 4 mL/min with a PSS solution using a peristaltic pump. The perfusion pressure was recorded using a pressure transducer connected to a perfusion system, linked to a computerized polygraph (LabChart 8 for macOS; ADI Instruments, Australia).

After a 30-minute stabilization period, the preparation integrity was verified by bolus administration of 120 mmol KCl. Subsequently, a dose

response curve of phenylephrine (Phe; 1, 3, 10, and 30 nmol; 10-30 μ L) was carried out. Following another stabilization period (30 minutes), the preparations were continuously perfused with PSS supplemented with 3 μ M Phe to induce a prolonged increase in perfusion pressure. Under these conditions, vascular reactivity changes induced by the administration of acetylcholine (ACh; 1, 3, 10, and 30 nmol 10-30 μ L) and sodium nitroprusside (SNP; 3, 10, 30, and 100 nmol 10-30 μ L) were investigated.

4.4.5 Blood collection and biochemical analysis

After the removal of the MVBs, blood samples (4-5 mL) were obtained from the previously cannulated carotid artery. Serum was obtained by centrifugation (1500 \times g for 10 minutes). Subsequently, all animals were euthanized by overdose of isoflurane in accordance with the Euthanasia Practice Guidelines of the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), urea, creatinine, troponin T (cTNT), sodium, and potassium were measured using an automated biochemical analyzer

36

(Roche Cobas Integra 400 Plus). Nitrotyrosine (NT) levels were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay (MyBioSource, San Diego, CA, USA). Malondialdehyde (MDA) levels were measured using an MDA assay kit (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). Plasma nitrite levels were determined by enzymatic reduction of nitrate, according to the technique described by Schmidt *et al.* (1989). The activity of angiotensin-converting enzyme (ACE) in serum was determined following the methodology proposed by Santos *et al.* (1985). Serum aldosterone levels were determined by radioimmunoassay.

4.4.6 Relative heart weight and histopathological analysis of the left ventricle, aortic arch, and right kidney.

After euthanasia, the heart was removed, longitudinally sectioned and cleaned. Subsequently, the relative weight of the heart was determined (% by weight = absolute weight of the organ \times 100/body weight of the animal). Part of the cardiac tissue, right kidney, and aortic arch were placed in 10% buffered formalin. Afterwards, the samples were dehydrated in alcohol, cleared with xylene, and embedded in paraffin. The samples were then sectioned (5 μ m), stained with hematoxylin and eosin, and examined under a Nikon ECLIPSE Si binocular microscope.

4.5 Statistical analysis

The data was analyzed for homogeneity of variances and normal distribution. The differences between the groups were determined using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey HSD (honestly significant difference) *post hoc* test. The results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) and values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. The graphs and statistical analyses were performed using Prism 10 for macOS (GraphPad® Software Inc, San Diego, CA, USA).

5. Conclusion

The 28-day treatment with ESPA induces significant cardioprotective effects in hypertensive rats treated with isoprenaline. This effect appears to be dependent on an antioxidant response associated with the inhibitory effect on the angiotensin-converting enzyme.

Authors' contributions: Conceptualization, acquisition of funding, and project administration, A.G.J.; methodology, investigation, and data curation, L.A.B.P., L.B.P., M.L.S.d.F., K.G.T.M., A.A.M.M., G.P.d.S., B.V.S., J.P.V.N., A.C.d.S., R.I.C.S. Writing and original draft preparation, L.A.B.P.; supervision, review, and editing, A.G.J. All authors have read and agreed with the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Foundation for Support to the Development of Education, Science and Technology of the State of Mato Grosso do Sul (FUNDECT, Brazil; grant numbers 71/700.135/2018 and 83/013.186/2023), the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq,

37

Brazil; grant number 407685/2018-9), and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil).

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Institutional Ethics Committee of the Federal University of Grande Dourados (License/CP/FCS No. 136/2022).

Informed consent statement: Not applicable.

Data availability statement: The data presented in this study are available upon request to the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

38

Referências

- Allawadhi, P. *et al.* (2018) 'Isoproterenol-induced cardiac ischemia and fibrosis: Plant-based approaches for intervention', *Phytotherapy Research*, 32(10), pp. 1908–1932. doi:10.1002/ptr.6152.
- De Andrade, T.M. *et al.* (2012) 'Potential behavioral and pro-oxidant effects of *Petiveria alliacea* L. extract in adult rats', *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), pp. 604–610. doi:10.1016/j.jep.2012.07.020.
- Arnett, D.K. *et al.* (2020) *Health Research Alliance*. doi:10.1161/CIR.0000000000000678.2019. Ballesteros-ram, R. *et al.* (2020) 'Preferential Activity of *Petiveria alliacea* Extract on Primary Myeloid Leukemic Blast', 2020.
- Bardy, N. *et al.* (1996) 'Pressure and Angiotensin II Synergistically Induce Aortic Fibronectin Expression in Organ Culture Model of Rabbit Aorta: Evidence for a Pressure-Induced Tissue Renin-Angiotensin System', *Circulation Research*, 79(1), pp. 70–78. doi:10.1161/01.RES.79.1.70.
- Barroso, W.K.S. *et al.* (2021) 'Brazilian guidelines of hypertension - 2020', *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 116(3), pp. 516–658. doi:10.36660/abc.20201238.
- Benjamin, I.J. *et al.* (1989) 'Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis', *Circulation Research*, 65(3), pp. 657–670. doi:10.1161/01.RES.65.3.657.
- Blainski, A. *et al.* (2010) 'Dual effects of crude extracts obtained from *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae) on experimental anxiety in mice', *Journal of Ethnopharmacology*, 128(2), pp. 541–544. doi:10.1016/j.jep.2010.01.012.
- Blowey, D.L. (2016) 'Diuretics in the treatment of hypertension', *Pediatric Nephrology*, 31(12), pp. 2223–2233. doi:10.1007/s00467-016-3334-4.
- Boles, U. *et al.* (2010) 'Ventricular activation time as a marker for diastolic dysfunction in early hypertension', *American Journal of Hypertension*, 23(7), pp. 781–785. doi:10.1038/ajh.2010.58.
- BRASIL (2016) *Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos*. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Ministério. Brasília. Braun, M.C. *et al.* (2014) 'Hypertensive renal injury is associated with gene variation affecting immune signaling', *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 7(6), pp. 903–910. doi:10.1161/CIRCGENETICS.114.000533. Cal, B.B.F. *et al.* (2022) 'Cytotoxicity of Extracts from *Petiveria alliacea* Leaves on Yeast', *Plants*, 11(23). doi:10.3390/plants11233263.
- Chrysant, S.G. and Chrysant, G.S. (2017) 'Herbs Used for the Treatment of Hypertension and their Mechanism of Action', *Current Hypertension Reports*, 19(9). doi:10.1007/s11906-017-0775-5.
- Coelho, F.C. *et al.* (2019) 'Traditional Plants Used by Remaining Healers from the Region of Grande Dourados,

Mato Grosso do Sul, Brazil', *Journal of Religion and Health*, 58(2), pp. 572–588. doi:10.1007/s10943-018-0713-0.

Conceição, B.C. da et al. (2023) *Amazonian Plants: A Global Bibliometric Approach to Petiveria alliacea L. Pharmacological and Toxicological Properties, Plants*. doi:10.3390/plants12183343.

Dees, C., Chakraborty, D. and Distler, J.H.W. (2021) 'Cellular and molecular mechanisms in fibrosis', *Experimental Dermatology*, 30(1), pp. 121–131. doi:10.1111/exd.14193.

Duarte, M.R. and Lopes, J.F. (2005) 'Leaf and stem morphoanatomy of Petiveria alliacea', *Fitoterapia*, 76(7–8), pp. 599–607. doi:10.1016/j.fitote.2005.05.004.

Fan, Z. and Guan, J. (2016) 'Antifibrotic therapies to control cardiac fibrosis', *Biomaterials Research*, 20(1), pp. 1–13. doi:10.1186/s40824-016-0060-8.

Frangogiannis, N.G. (2019) 'Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities', *Molecular Aspects of Medicine*, 65, pp. 70–99. doi:10.1016/j.mam.2018.07.001. Frangogiannis, N.G. (2021) 'Cardiac fibrosis', *Cardiovascular Research*, 117(6), pp. 1450–1488. doi:10.1093/cvr/cvaa324.

Fridez, P. et al. (2002) 'Adaptation of conduit artery vascular smooth muscle tone to induced hypertension', *Annals of Biomedical Engineering*, 30(7), pp. 905–916. doi:10.1114/1.1507326.

Ganizada, B.H. et al. (2023) 'The Maastricht Acquisition Platform for Studying Mechanisms of Cell–Matrix Crosstalk (MAPEX): An Interdisciplinary and Systems Approach towards Understanding Thoracic Aortic Disease', *Biomedicines*, 11(8). doi:10.3390/biomedicines11082095.

García-González, M. et al. (2006) 'Subchronic and acute preclinic toxicity and some pharmacological effects of the water extract from leaves of Petiveria alliacea (Phytolaccaceae)', *Revista de Biología Tropical*, 54(4), pp. 1323–1326. doi:10.15517/rbt.v54i4.3108.

García-Pérez, M.E. et al. (2018) 'Toxicological evaluation of an aqueous suspension from leaves and stems of Petiveria alliacea L. (Phytolaccaceae)', *Journal of Ethnopharmacology*, 211(September 2017), pp. 29–37. doi:10.1016/j.jep.2017.09.022.

Gasparotto, A. et al. (2011) 'Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from Tropaeolum majus L.: Evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme', *Journal of Ethnopharmacology*, 134(2), pp. 363–372. doi:10.1016/j.jep.2010.12.026.

39

Grimm, D. et al. (1998) 'Development of heart failure following isoproterenol administration in the rat: Role of the renin-angiotensin system', *Cardiovascular Research*, 37(1), pp. 91–100. doi:10.1016/S0008-6363(97)00212-5. Hinderer, S. and Schenke-Layland, K. (2019) 'Cardiac fibrosis – A short review of causes and therapeutic strategies', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 146, pp. 77–82. doi:10.1016/j.addr.2019.05.011. Humphrey, J.D. et al. (2016) 'Central Artery stiffness in hypertension and aging a problem with cause and consequence', *Circulation Research*, 118(3), pp. 379–381. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.307722. Humphrey, J.D. and Schwartz, M.A. (2021) 'Vascular Mechanobiology: Homeostasis, Adaptation, and Disease', *Annual Review of Biomedical Engineering*, 23, pp. 1–27. doi:10.1146/annurev-bioeng-092419-060810. Iwanaga, Y. et al. (2002) 'Excessive activation of matrix metalloproteinases coincides with left ventricular remodeling during transition from hypertrophy to heart failure in hypertensive rats', *Journal of the American College of Cardiology*, 39(8), pp. 1384–1391. doi:10.1016/S0735-1097(02)01756-4.

Jia, Y.X. et al. (2006) 'Intermedin1-53 protects the heart against isoproterenol-induced ischemic injury in rats', *European Journal of Pharmacology*, 549(1–3), pp. 117–123. doi:10.1016/j.ejphar.2006.07.054. Jiang, J.P. and Downing, S.E. (1990) 'Catecholamine cardiomyopathy: Review and analysis of pathogenetic mechanisms', *Yale Journal of Biology and Medicine*, 63(6), pp. 581–591.

Jiang, X.Y. et al. (2023) 'Cardiac-specific Trim44 knockout in rat attenuates isoproterenol-induced cardiac remodeling via inhibition of AKT/mTOR pathway', *DMM Disease Models and Mechanisms*, 16(5). doi:10.1242/dmm.049444.

Kahn, D.S., Rona, G. and Chappel, C.I. (1969) 'Isoproterenol-Induced Cardiac Necrosis', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 156(1), pp. 285–293. doi:10.1111/j.1749-6632.1969.tb16735.x.

Kawasaki, H. et al. (1988) 'Calcitonin gene-related peptide acts as a novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of the rat', *Nature*, 335(6186), pp. 164–67. Available at: <https://www.infodesign.org.br/infodesign/article/view/355%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/731%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/269%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/106>.

Kawasaki, H. et al. (1991) 'NPY modulates neurotransmission of CGRP-containing vasodilator nerves in rat mesenteric arteries', *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 261(3 30-3). doi:10.1152/ajpheart.1991.261.3.h683.

Kondo, T. et al. (1987) 'Mechanism of isoproterenol induced myocardial damage', *Cardiovascular Research*, 21(4), pp. 248–254. doi:10.1093/cvr/21.4.248.

Krenning, G., Zeisberg, E.M. and Kalluri, R. (2010) 'The origin of fibroblasts and mechanism of cardiac fibrosis', *Journal of Cellular Physiology*, 225(3), pp. 631–637. doi:10.1002/jcp.22322.

Kujawska, M. and Schmeda-Hirschmann, G. (2022) 'The use of medicinal plants by Paraguayan migrants in the Atlantic Forest of Misiones, Argentina, is based on Guaraní tradition, colonial and current plant knowledge', *Journal of Ethnopharmacology*, 283, p. 114702. doi:10.1016/j.jep.2021.114702.

Laurent, S., Boutouyrie, P. and Lacolley, P. (2005) 'Structural and genetic bases of arterial stiffness', *Hypertension*, 45(6), pp. 1050–1055. doi:10.1161/01.HYP.0000164580.39991.3d.

Leitão, F. *et al.* (2014) 'Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: An overview on their botanical diversity and toxicological potential', *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(2), pp. 225–247. doi:10.1016/j.bjp.2014.04.005.

Li, Y. *et al.* (2020) 'The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants', *Plant Physiology and Biochemistry*, 148(January), pp. 80–89. doi:10.1016/j.plaphy.2020.01.006.

Lima, M.F. *et al.* (2022) 'Untargeted Metabolomics Studies of H9c2 Cardiac Cells Submitted to Oxidative Stress, β Adrenergic Stimulation and Doxorubicin Treatment: Investigation of Cardiac Biomarkers', *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9(June), pp. 1–13. doi:10.3389/fmolb.2022.898742.

Livero, F.A. *et al.* (2016) 'Cellular and Molecular Mechanisms of Diuretic Plants: An Overview', *Current Pharmaceutical Design*, 23(8), pp. 1247–1252. doi:10.2174/1381612822666161014114437.

Lorençone, B.R. *et al.* (2021) 'Atheroprotective properties of *costus spicatus* (Jacq.) sw. in female rats', *Life*, 11(3), pp. 1–21. doi:10.3390/life11030212.

Luz, D.A. *et al.* (2016) 'Ethnobotany, phytochemistry and neuropharmacological effects of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae): A review', *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier, pp. 182–201. doi:10.1016/j.jep.2016.02.053.

Machado, E.G. *et al.* (2021) 'Cecropia hololeuca: A new source of compounds with potential anti-inflammatory action', *Natural Product Research*, 35(16), pp. 2772–2777. doi:10.1080/14786419.2019.1663512.

Mann, D.L. *et al.* (1992) 'Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte', *Circulation*, 85(2), pp. 790–804. doi:10.1161/01.CIR.85.2.790.

Marques, A.A.M. *et al.* (2021) 'Ethnopharmacological investigation of the cardiovascular effects of the ethanol soluble fraction of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke leaves in spontaneously hypertensive rats', *Journal of*

40

Ethnopharmacology, 274(February). doi:10.1016/j.jep.2021.114077.

Martins, M.D.R. *et al.* (2014) 'Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils', *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), pp. 485–492. doi:10.1016/j.jep.2013.10.063.

McMahon, A.W. *et al.* (2011) 'Age and risks of FDA-approved long-acting β 2-adrenergic receptor agonists', *Pediatrics*, 128(5). doi:10.1542/peds.2010-1720.

Menetrier, J.V. *et al.* (2020) *Ethnomedicinal Plants Used for the Treatment of Cardiovascular Diseases by Healers in the Southwestern State of Paraná, Brazil, and Their Validation Based on Scientific Pharmacological Data*, *Journal of Religion and Health*. doi:10.1007/s10943-019-00960-1.

Michel, J.B. (2003) 'Añoikis in the Cardiovascular System: Known and Unknown Extracellular Mediators', *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23(12), pp. 2146–2154. doi:10.1161/01.ATV.0000099882.52647.E4.

Möller, M.N. *et al.* (2019) 'Detection and quantification of nitric oxide-derived oxidants in biological systems', *Journal of Biological Chemistry*, 294(40), pp. 14776–14802. doi:10.1074/jbc.REV119.006136.

Murray, D.R., Prabhu, S.D. and Chandrasekar, B. (2000) 'Chronic β -adrenergic stimulation induces myocardial proinflammatory cytokine expression', *Circulation*, 101(20), pp. 2338–2341. doi:10.1161/01.CIR.101.20.2338.

Okamoto, Kozo, Tabei, Ryo, Fukushima, Masakazu, Nosaka, Shoichiro, Yamori, Yukio, Ichijima, Kunio, Haebara, Hideyuki, Matsuomoto, Masao, Maruyama, Toshiro, Suzuki, Yasuhiro, Tamegai, M. (1966) 'Further observations of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats', *Japanese Circulation Journal*, 30(06), pp. 703–716.

Okamoto, K. and Aoki, K. (1963) 'Development of a strain of spontaneously hypertensive rats.', *Japanese Circulation Journal*, 27, pp. 282–93. Available at: <http://www.mendeley.com/research/geology-volcanic-history-eruptive-style-yakedake-volcano-group-central-japan/>.

Olajubutu, O.G. *et al.* (2022) 'Topical Anti-Inflammatory Activity of *Petiveria alliacea*, Chemical Profiling and Computational Investigation of Phytoconstituents Identified from its Active Fraction', *Chemistry Africa*, 5(3), pp. 557–565. doi:10.1007/s42250-022-00339-y.

de Oliveira, G.M.M. *et al.* (2022) 'Cardiovascular Statistics - Brazil 2021', *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 118(1), p. 115. doi:10.36660/ABC.20211012.

Pechanova, O., Dayar, E. and Cebova, M. (2020) 'Therapeutic potential of polyphenols-loaded polymeric nanoparticles in cardiovascular system', *Molecules*, 25(15). doi:10.3390/molecules25153322.

Précoma, D.B. *et al.* (2019) 'Updated cardiovascular prevention guideline of the Brazilian society of cardiology – 2019', *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 113(4), pp. 787–891. doi:10.5935/abc.20190204.

Ríos, J.L. and Recio, M.C. (2005) 'Medicinal plants and antimicrobial activity', *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1–2), pp. 80–84. doi:10.1016/j.jep.2005.04.025.

Roth, G.A. *et al.* (2020) 'Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study', *Journal of the American College of Cardiology*, 76(25), pp. 2982–3021. doi:10.1016/j.jacc.2020.11.010.

Safar, M.E. *et al.* (2018) 'Interaction between hypertension and arterial stiffness an expert reappraisal', *Hypertension*, 72(4), pp. 796–805. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11212.

Sanjuliani, A.F. (2002) 'Fisiopatologia da hipertensão arterial: conceitos teóricos úteis para a prática clínica', *Revista da SOCERJ*, 15(4), pp. 210–218. Available at: http://www.rbconline.org.br/wp-content/uploads/a2002_v15_n04_art02.pdf.

Santos, R.A.S., Krieger, E.M. and Greene, L.J. (1985) 'An improved fluorometric assay of rat serum and plasma

converting enzyme', *Hypertension*, 7(2), pp. 244–252. doi:10.1161/01.HYP.7.2.244.

Saraiva, M.E. *et al.* (2015) 'Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil', *Journal of Ethnopharmacology*, 171, pp. 141–153. doi:10.1016/j.jep.2015.05.034.

Schmidt, H.H.H.W. *et al.* (1989) 'Enzymatic formation of nitrogen oxides from L-arginine in bovine brain cytosol', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 165(1), pp. 284–291. doi:10.1016/0006-291X(89)91067-X.

Scridon, A. and Balan, A.I. (2022) 'Targeting Myocardial Fibrosis – A Magic Pill in Cardiovascular Medicine?', *Pharmaceutics*, 14(8). doi:10.3390/pharmaceutics14081599.

Silva, B.Q. da and Hahn, S.R. (2011) 'Uso De Plantas Medicinais Por Indivíduos Com Hipertensão Arterial Sistêmica, Diabetes Mellitus Ou Dislipidemias', *Farm. Hosp. Serv.*, 2(3), pp. 1–5. Available at: http://www.sbrafh.org.br/rbfhss/public/artigos/RBFHSSV2N3_artigo07.pdf.

Tisdale, J.E. (2016) 'Drug-induced QT interval prolongation and torsades de pointes: Role of the pharmacist in risk assessment, prevention and management', *Canadian Pharmacists Journal*, 149(3), pp. 139–152. doi:10.1177/1715163516641136.

Tolouei, S.E.L. *et al.* (2019) 'Celosia argentea L. (Amaranthaceae) a vasodilator species from the Brazilian Cerrado – An ethnopharmacological report', *Journal of Ethnopharmacology*, 229(June 2018), pp. 115–126. doi:10.1016/j.jep.2018.09.027.

Tribess, B. *et al.* (2015) 'Ethnobotanical study of plants used for therapeutic purposes in the Atlantic Forest region, Southern Brazil', *Journal of Ethnopharmacology*, 164, pp. 136–146. doi:10.1016/j.jep.2015.02.005.

41

Trippodo, N.C. and Frohlich, E.D. (1981) 'Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat', *Circulation Research*, 48(3), pp. 309–319. doi:10.1161/01.RES.48.3.309.

Udenfriend, S. and Sidney, S. (1972) 'The Simple Tetrahydroisoquinolines', *Science*, 176, pp. 1155–6. doi:10.1016/b978-0-12-638250-1.50005-8.

Udulutsch, R.G. *et al.* (2002) 'Phytolaccaceae In: Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo', 5, pp. 237–246.

Whelton, P.K. *et al.* (2018) 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical pr, *Hypertension*. doi:10.1161/HYP.0000000000000065.

Williams, B. *et al.* (2018) '2018 Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC)', *Blood Pressure*, 27(6), pp. 314–340. doi:10.1080/08037051.2018.1527177.

Wirz, H., Geigy, J.R. and Basel, S.A. (1961) 'Kidney, water and electrolyte metabolism', *Annu. Rev. Physiol.*, 23, pp. 577–606. doi:https://doi.org/10.1146/annurev.ph.23.030161.003045.

Wong, Z.W., Thanikachalam, P.V. and Ramamurthy, S. (2017) 'Molecular understanding of the protective role of natural products on isoproterenol-induced myocardial infarction: A review', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 94, pp. 1145–1166. doi:10.1016/j.biopha.2017.08.009.

Wzgarda, A. *et al.* (2017) 'Unknown face of known drugs – what else can we expect from angiotensin converting enzyme inhibitors?', *European Journal of Pharmacology*, 797(January), pp. 9–19. doi:10.1016/j.ejphar.2016.12.031.

Ao longo do período do mestrado, tive a oportunidade de contribuir em diversos outros projetos de pesquisa, tanto na própria Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD como em outras Universidades. No entanto, apenas um pode ser publicado em tempo do término desta dissertação:

CESTARI, ANA PAULA.; GASPAROTTO, FRANCIELLY M.; KASSUYA, CÂNDIDA A. L.; LACERDA, TAUANY M. R.; DONADEL, GUILHERME; MOURA, CATIA S.; BOLETA, DANIELA C.; JACOMASSI, EZILDA; ALBERTON, ODAIR; TRAMONTINI, SALVIANO B.; **BERTONCELLO, LUANA A.**; GASPAROTTO JUNIOR, ARQUIMEDES; LOURENÇO, EMERSON L. B. Ateroprotective effects of *Plinia cauliflora* in New Zealand rabbits: beyond the lipid-lowering effect. *Front. Pharmacol*, v. 15, 2024. doi: 10.3389/fphar.2024.1244632

42

Demonstramos que o ESPA apresenta efeitos cardioprotetores significativos (nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg) em SHR após tratamento prolongado. Esse efeito parece ser dependente de uma resposta antioxidante associada ao efeito inibitório sobre a enzima conversora de angiotensina. Novos estudos são necessários para elucidar os mecanismos farmacológicos que o ESPA exerce nos efeitos na saúde cardiovascular. Estudos futuros devem abordar se os efeitos cardioprotetores do ESPA podem ser potencializados pela administração simultânea de um medicamento cardioprotetor convencional.

43

REFERÊNCIAS

- ALLAWADHI, P. *et al.* Isoproterenol-induced cardiac ischemia and fibrosis: Plant-based approaches for intervention. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 32, n. 10, p. 1908–1932, 2018.
- ARNETT, D. K.; *et al.* **Health Research Alliance**. [S. l.: s. n.], 2020. 2020.v. 140.
- BALLESTEROS-RAM, R. *et al.* Preferential Activity of *Petiveria alliacea* Extract on Primary Myeloid Leukemic Blast. [s. l.], v. 2020, 2020.
- BARDY, N. *et al.* Pressure and Angiotensin II Synergistically Induce Aortic Fibronectin Expression in Organ Culture Model of Rabbit Aorta: Evidence for a Pressure-Induced Tissue Renin-Angiotensin System. **Circulation Research**, [s. l.], v. 79, n. 1, p. 70–78, 1996.
- BARROSO, W. K. S. *et al.* Brazilian guidelines of hypertension - 2020. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 116, n. 3, p. 516–658, 2021.
- BENJAMIN, I. J. *et al.* Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. **Circulation Research**, [s. l.], v. 65, n. 3, p. 657–670, 1989.
- BLAINSKI, A. *et al.* Dual effects of crude extracts obtained from *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae) on experimental anxiety in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 128, n. 2, p. 541–544, 2010.
- BLOWEY, D. L. Diuretics in the treatment of hypertension. **Pediatric Nephrology**, [s. l.], v. 31, n. 12, p. 2223–2233, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-016-3334-4>.
- BOLES, U.; *et al.* Ventricular activation time as a marker for diastolic dysfunction in early hypertension. **American Journal of Hypertension**, [s. l.], v. 23, n. 7, p. 781–785, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/ajh.2010.58>.
- BRASIL. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica**. Ministréried. Brasília: [s. n.], 2016. 2016.
- BRAUN, M. C. *et al.* Hypertensive renal injury is associated with gene variation affecting immune signaling. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, [s. l.], v. 7, n. 6, p. 903–910, 2014.
- CAL, B. B. F. *et al.* Cytotoxicity of Extracts from *Petiveria alliacea* Leaves on Yeast. **Plants**,

[s. l.], v. 11, n. 23, 2022.

CHRYSANT, S. G.; CHRYSANT, G. S. Herbs Used for the Treatment of Hypertension and their Mechanism of Action. **Current Hypertension Reports**, [s. l.], v. 19, n. 9, 2017.

COELHO, F. C. *et al.* Traditional Plants Used by Remaining Healers from the Region of Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Religion and Health**, [s. l.], v. 58,

44

n. 2, p. 572–588, 2019.

CONCEIÇÃO, B. C. da; SILVA, *et al.* Amazonian Plants: A Global Bibliometric Approach to *Petiveria alliacea* L. Pharmacological and Toxicological Properties. [S. l.: s. n.] 2023.v. 12.

DE ANDRADE, T. M. *et al.* Potential behavioral and pro-oxidant effects of *Petiveria alliacea* L. extract in adult rats. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 143, n. 2, p. 604–610, 2012.

DE OLIVEIRA, G. M. M. *et al.* Cardiovascular Statistics - Brazil 2021. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 118, n. 1, p. 115, 2022.

DEES, C.; CHAKRABORTY, D.; DISTLER, J. H. W. Cellular and molecular mechanisms in fibrosis. **Experimental Dermatology**, [s. l.], v. 30, n. 1, p. 121–131, 2021. DUARTE, M. R.;

LOPES, J. F. Leaf and stem morphoanatomy of *Petiveria alliacea*. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 76, n. 7–8, p. 599–607, 2005.

FAN, Z.; GUAN, J. Antifibrotic therapies to control cardiac fibrosis. **Biomaterials Research**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–13, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s40824-016-0060-8>.

FRANGOIANNIS, N. G. Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. **Molecular Aspects of Medicine**, [s. l.], v. 65, p. 70–99, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098299718300670>.

FRANGOIANNIS, N. G. Cardiac fibrosis. **Cardiovascular Research**, [s. l.], v. 117, n. 6, p. 1450–1488, 2021.

FRIDEZ, P. *et al.* Adaptation of conduit artery vascular smooth muscle tone to induced hypertension. **Annals of Biomedical Engineering**, [s. l.], v. 30, n. 7, p. 905–916, 2002.

GANIZADA, B. H. *et al.* The Maastricht Acquisition Platform for Studying Mechanisms of Cell–Matrix Crosstalk (MAPEX): An Interdisciplinary and Systems Approach towards Understanding Thoracic Aortic Disease. **Biomedicines**, [s. l.], v. 11, n. 8, 2023.

GARCÍA-GONZÁLEZ, M.; MORALES, T. C.; OCAMPO, R.; PAZOS, L. Subchronic and acute preclinic toxicity and some pharmacological effects of the water extract from leaves of *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae). **Revista de Biologia Tropical**, [s. l.], v. 54, n. 4, p. 1323–1326, 2006.

GARCÍA-PÉREZ, M. E. *et al.* Toxicological evaluation of an aqueous suspension from

leaves and stems of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 211, n. September 2017, p. 29–37, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2017.09.022>.

GASPAROTTO, A. *et al.* Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from

45

Tropaeolum majus L.: Evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 134, n. 2, p. 363–372, 2011.

GRIMM, D. *et al.* Development of heart failure following isoproterenol administration in the rat: Role of the renin-angiotensin system. **Cardiovascular Research**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 91–100, 1998.

HINDERER, S.; SCHENKE-LAYLAND, K. Cardiac fibrosis – A short review of causes and therapeutic strategies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 146, p. 77–82, 2019.

Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.05.011>.

HUMPHREY, J. D.; HARRISON, D. G.; FIGUEROA, C. A.; LACOLLEY, P.; LAURENT, S. Central Artery stiffness in hypertension and aging a problem with cause and consequence. **Circulation Research**, [s. l.], v. 118, n. 3, p. 379–381, 2016.

HUMPHREY, J. D.; SCHWARTZ, M. A. Vascular Mechanobiology: Homeostasis, Adaptation, and Disease. **Annual Review of Biomedical Engineering**, [s. l.], v. 23, p. 1–27, 2021.

IWANAGA, Y. *et al.* Excessive activation of matrix metalloproteinases coincides with left ventricular remodeling during transition from hypertrophy to heart failure in hypertensive rats. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 39, n. 8, p. 1384–1391, 2002.

Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(02\)01756-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(02)01756-4).

JIA, Y. X. *et al.* Intermedin1-53 protects the heart against isoproterenol-induced ischemic injury in rats. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 549, n. 1–3, p. 117–123, 2006.

JIANG, J. P.; DOWNING, S. E. Catecholamine cardiomyopathy: Review and analysis of pathogenetic mechanisms. **Yale Journal of Biology and Medicine**, [s. l.], v. 63, n. 6, p. 581–591, 1990.

JIANG, X. Y. *et al.* Cardiac-specific Trim44 knockout in rat attenuates isoproterenol-induced cardiac remodeling via inhibition of AKT/mTOR pathway. **DMM Disease Models and Mechanisms**, [s. l.], v. 16, n. 5, 2023.

KAHN, D. S.; RONA, G.; CHAPPEL, C. I. Isoproterenol-Induced Cardiac Necrosis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 156, n. 1, p. 285–293, 1969. KAWASAKI, H.; NUKI, C.; SAITO, A.; TAKASAKI, K. Calcitonin gene-related peptide acts as a novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of the rat. **Nature**, [s. l.], v. 335, n. 6186, p. 164–67, 1988. Disponível em:

<https://www.infodesign.org.br/infodesign/article/view/355%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/731%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/269%0Ahttp://www.abergo.org.br/revista/index.php/ae/article/view/106>.

46

KAWASAKI, H.; NUKI, C.; SAITO, A.; TAKASAKI, K. NPY modulates neurotransmission of CGRP-containing vasodilator nerves in rat mesenteric arteries. **American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology**, [s. l.], v. 261, n. 3 30-3, 1991. KONDO, T. *et al.* Mechanism of isoproterenol induced myocardial damage. **Cardiovascular Research**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 248–254, 1987.

KRENNING, G.; ZEISBERG, E. M.; KALLURI, R. The origin of fibroblasts and mechanism of cardiac fibrosis. **Journal of Cellular Physiology**, [s. l.], v. 225, n. 3, p. 631–637, 2010.

KUJAWSKA, M.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. The use of medicinal plants by Paraguayan migrants in the Atlantic Forest of Misiones, Argentina, is based on Guaraní tradition, colonial and current plant knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 283, p. 114702, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114702>. LAURENT, S.; BOUTOUYRIE, P.; LACOLLEY, P. Structural and genetic bases of arterial stiffness. **Hypertension**, [s. l.], v. 45, n. 6, p. 1050–1055, 2005.

LEITÃO, F. *et al.* Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: An overview on their botanical diversity and toxicological potential. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 225–247, 2014.

LI, Y.; KONG, D.; FU, Y.; SUSSMAN, M. R.; WU, H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 148, n. January, p. 80–89, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>.

LIMA, M. F. *et al.* Untargeted Metabolomics Studies of H9c2 Cardiac Cells Submitted to Oxidative Stress, β -Adrenergic Stimulation and Doxorubicin Treatment: Investigation of Cardiac Biomarkers. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [s. l.], v. 9, n. June, p. 1–13, 2022.

LIVERO, F. A. *et al.* Cellular and Molecular Mechanisms of Diuretic Plants: An Overview. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 1247–1252, 2016. LORENÇONE, B. R. *et al.* Atheroprotective properties of *costus spicatus* (Jacq.) sw. in female rats. **Life**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 1–21, 2021.

LUZ, D. A. *et al.* **Ethnobotany, phytochemistry and neuropharmacological effects of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae): A review.** [S. l.]: Elsevier, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.053>.

MACHADO, E. G. *et al.* *Cecropia hololeuca*: A new source of compounds with potential anti-inflammatory action. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 35, n. 16, p. 2772–2777,

2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1663512>. MANN, D. L. *et al.* Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte.

47

Circulation, [s. l.], v. 85, n. 2, p. 790–804, 1992.

MARQUES, A. A. M. *et al.* Ethnopharmacological investigation of the cardiovascular effects of the ethanol-soluble fraction of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke leaves in spontaneously hypertensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 274, n. February, 2021.

MARTINS, M. D. R. *et al.* Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 151, n. 1, p. 485–492, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.063>.

MCMAHON, A. W. *et al.* Age and risks of FDA-approved long-acting β 2-adrenergic receptor agonists. **Pediatrics**, [s. l.], v. 128, n. 5, 2011.

MENETRIER, J. V. *et al.* **Ethnomedicinal Plants Used for the Treatment of Cardiovascular Diseases by Healers in the Southwestern State of Paraná, Brazil, and Their Validation Based on Scientific Pharmacological Data**. [S. l.: s. n.] 2020.v. 59.

MICHEL, J. B. Anoikis in the Cardiovascular System: Known and Unknown Extracellular Mediators. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s. l.], v. 23, n. 12, p. 2146–2154, 2003.

MÖLLER, M. N. *et al.* Detection and quantification of nitric oxide-derived oxidants in biological systems. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 294, n. 40, p. 14776–14802, 2019.

MURRAY, D. R.; PRABHU, S. D.; CHANDRASEKAR, B. Chronic β -adrenergic stimulation induces myocardial proinflammatory cytokine expression. **Circulation**, [s. l.], v. 101, n. 20, p. 2338–2341, 2000.

OKAMOTO, K. *et al.* Further observations of the development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, [s. l.], v. 30, n. 06, p. 703–716, 1966.

OKAMOTO, K.; AOKI, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. **Japanese Circulation Journal**, [s. l.], v. 27, p. 282–93, 1963. Disponível em: <http://www.mendeley.com/research/geology-volcanic-history-eruptive-style-yakedake-volcano-group-central-japan/>.

OLAJUBUTU, O. G. *et al.* Topical Anti-Inflammatory Activity of *Petiveria alliacea*, Chemical Profiling and Computational Investigation of Phytoconstituents Identified from its Active Fraction. **Chemistry Africa**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 557–565, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42250-022-00339-y>.

PECHANOVA, O.; DAYAR, E.; CEBOVA, M. Therapeutic potential of polyphenols-loaded

PRÉCOMA, D. B. *et al.*. Updated cardiovascular prevention guideline of the Brazilian society of cardiology – 2019. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 113, n. 4, p. 787–891, 2019.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 100, n. 1–2, p. 80–84, 2005.

ROTH, G. A. *et al.* Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. **Journal of the American College of Cardiology**, [s. l.], v. 76, n. 25, p. 2982–3021, 2020.

SAFAR, M. E. *et al.* Interaction between hypertension and arterial stiffness an expert reappraisal. **Hypertension**, [s. l.], v. 72, n. 4, p. 796–805, 2018.

SANJULIANI, A. F. Fisiopatologia da hipertensão arterial: conceitos teóricos úteis para a prática clínica. **Revista da SOCERJ**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 210–218, 2002. Disponível em: http://www.rbconline.org.br/wp-content/uploads/a2002_v15_n04_art02.pdf. SANTOS, R. A. S.; KRIEGER, E. M.; GREENE, L. J. An improved fluorometric assay of rat serum and plasma converting enzyme. **Hypertension**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 244–252, 1985. SARAIVA, M. E. *et al.* Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 171, p. 141–153, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.05.034>. SCHMIDT, H. H. H. W. *et al.* Enzymatic formation of nitrogen oxides from L-arginine in bovine brain cytosol. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 165, n. 1, p. 284–291, 1989.

SCRIDON, A.; BALAN, A. I. Targeting Myocardial Fibrosis—A Magic Pill in Cardiovascular Medicine?. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, n. 8, 2022.

SILVA, B. Q. da; HAHN, S. R. Uso De Plantas Medicinais Por Indivíduos Com Hipertensão Arterial Sistêmica, Diabetes Mellitus Ou Dislipidemias. **Farm. Hosp. Serv**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 1–5, 2011. Disponível em: http://www.sbrafh.org.br/rbfhss/public/artigos/RBFHSSV2N3_artigo07.pdf.

TISDALE, J. E. Drug-induced QT interval prolongation and torsades de pointes: Role of the pharmacist in risk assessment, prevention and management. **Canadian Pharmacists Journal**, [s. l.], v. 149, n. 3, p. 139–152, 2016.

TOLOUEI, S. E. L. *et al.* *Celosia argentea* L. (Amaranthaceae) a vasodilator species from the Brazilian Cerrado – An ethnopharmacological report. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 229, n. June 2018, p. 115–126, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.027>.

TRIBESS, B. *et al.*. Ethnobotanical study of plants used for therapeutic purposes in the Atlantic Forest region, Southern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 164, p. 136–146, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.02.005>. TRIPPODO, N. C.; FROHLICH, E. D. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. **Circulation Research**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 309–319, 1981. UDENFRIEND, S.; SIDNEY, S. The Simple Tetrahydroisoquinolines. **Science**, [s. l.], v. 176, p. 1155–6, 1972. UDULUTSCH, R. G. *et al.* Phytolaccaceae In: Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. [s. l.], v. 5, p. 237–246, 2002. WHELTON, P. K. *et al.* 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical pr. [S. l.: s. n.] 2018.v. 71. WILLIAMS, B. *et al.* Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC). **Blood Pressure**, [s. l.], v. 27, n. 6, p. 314–340, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08037051.2018.1527177>. WIRZ, H.; GEIGY, J. R.; BASEL, S. A. Kidney, water and electrolyte metabolism. **Annu. Rev. Physiol.**, [s. l.], v. 23, p. 577–606, 1961. WONG, Z. W.; THANIKACHALAM, P. V.; RAMAMURTHY, S. Molecular understanding of the protective role of natural products on isoproterenol-induced myocardial infarction: A review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 94, p. 1145–1166, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.009>. WZGARDA, A. *et al.* Unknown face of known drugs – what else can we expect from angiotensin converting enzyme inhibitors?. **European Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 797, n. January, p. 9–19, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.12.031>.