

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Dor

A dor é um fenômeno estudado desde a antiguidade. Foi e continua sendo uma das grandes preocupações na busca de esclarecimento sobre suas razões e elaboração de técnicas de controle (MADIGAN; RAJ, 2000). Segundo o protocolo de terminologia para dor da *International Association for the Study of Pain – IASP*, a dor se apresenta como uma experiência sensorial e/ou emocional desagradável que pode está associada ou não a uma lesão (LOESER, 2008), podendo ser vivenciada pela quase totalidade dos seres humanos. É antes de tudo uma alerta para o organismo, e na maioria das vezes está associada a afecções, queimaduras, infecções e processos inflamatórios, entre outras (JONES, 2000).

A dor também pode ser denominada, segundo o tipo de lesão e/ou os mediadores envolvidos, como: nociceptiva, quando ocorre por estimulação excessiva dos nociceptores; neurogênica, quando ocorre lesão do tecido neuronal; neuropática, quando ocorre a disfunção de um nervo; ou psicogênica, que ocorre por fatores psicológicos (MILLAN, 1999).

Pode ser ainda, diferenciada entre dor aguda e crônica. A dor aguda é fundamental para a preservação da integridade do indivíduo, esta alerta para a ocorrência de lesões no organismo. Antagonista a ela, está a dor crônica que por não apresentar este valor biológico é uma importante causa de incapacidade (TEIXEIRA, 1990).

Os nociceptores são terminações nervosas livres, não-especializadas, que respondem a estímulos dolorosos, detectando, desse modo, lesão nos tecidos, onde os estímulos desencadeantes podem ser mecânicos, térmicos ou químicos (MILLAN, 2002).

Então, pode-se afirmar que a dor por nocicepção caracteriza-se pela presença de receptores nociceptivos que a modificam lentamente gerando um prolongamento e alteração nas estruturas funcionais dos organismos afetados. E pode ser caracterizada pela forma como o organismo exhibe parâmetros comportamentais e subjetivos (LAPA, 2008).

A incapacidade de comunicar verbalmente não descarta a possibilidade de um indivíduo estar sentindo dor ou que esteja precisando de tratamento. Isso enfatiza a necessidade de uma avaliação adequada, assim como do controle da dor quando se cuida de

pacientes inconscientes, que ainda não falam, com desenvolvimento e comunicação deficientes, por algum motivo ou barreira de idioma (WALDICEU, 2006).

Embora os animais submetidos a um estímulo nociceptivo não tenham capacidade de se comunicar verbalmente quando da ocorrência da dor, são capazes de exibir respostas comportamentais, motoras e fisiológicas semelhantes às observadas em humanos. Por isso, utiliza-se o termo “resposta nociceptiva” em vez de dor em se tratando de animais (LAPA, 2003).

Assim, o potencial antinociceptivo de um composto pode ser medido pelo seu poder de aumentar o limiar de excitação dessas terminações nervosas ao estímulo doloroso, ou então, fazer com que os nociceptores não percebam ou não respondam ao estímulo doloroso (MILLAN, 2002).

Dessa maneira o funcionamento adequado do sistema nociceptivo é essencial para proteger o organismo de danos teciduais. Pois em condições patológicas esse sistema entra em desequilíbrio e a dor transforma-se em doença (ZEILHOFER, 2005).

Nesse contexto, alterações patológicas caracterizam-se como fatores que interferem na qualidade de vida e nos processos fisiológicos do organismo. Sendo foco, portanto de pesquisas farmacológicas. Também, pesquisas etnofarmacológicas no uso de plantas para o alívio da dor são vistas como estratégia produtiva e lógica na procura por novas drogas analgésicas (ELISABETSKY, 1995). O sítio de ação no qual essas drogas podem atuar está representado na Figura 01.

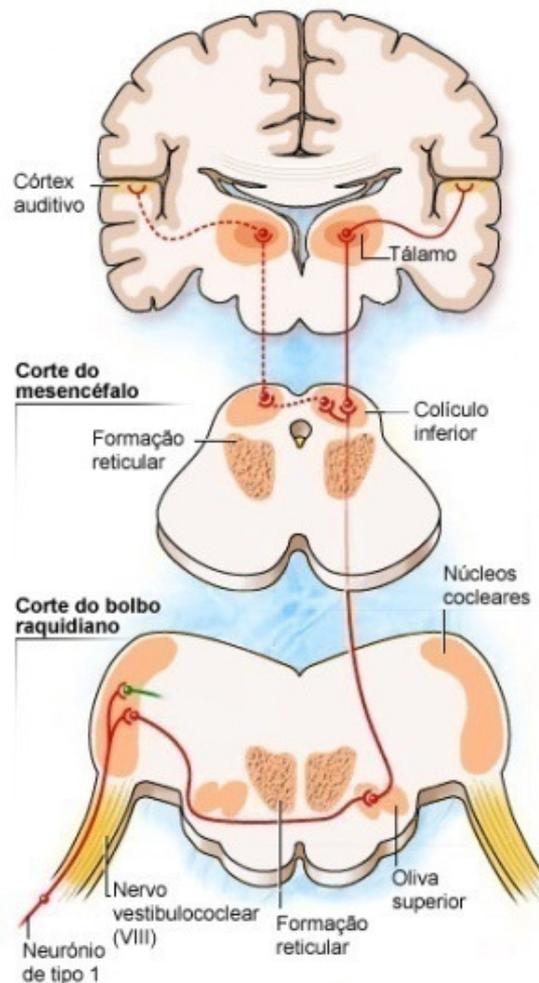


FIGURA 01: Controle descendente da dor e sítios de ação dos opióides. Fonte: RANG & DALE, 7ªEd. Pag. 506, fig. 41.

1.2 Sensações evocadas por diferentes estímulos

A pele, o maior órgão do corpo humano, é responsável por dar início às diferentes sensações, como toque, tato, frio, dor e prurido. Diferentemente do toque ou tato, que são geralmente prazerosos, e do calor ou frio que dependendo da intensidade podem causar lesão, a dor e a o prurido são consideradas sensações desagradáveis na maioria dos casos (MILLER *et al.*, 2002).

O prurido, ou coceira, foi definido há mais de trezentos e sessenta anos pelo médico alemão Samuel Hafenreffer como uma “sensação desagradável que evoca imediatamente o desejo ou reflexo de coçar” (PEREIRA E MISERY, 2006).

Apesar de serem sensações distintas, a dor e o prurido podem ser interpretadas como parte de um mecanismo de defesa do organismo contra estímulos nocivos. A dor pode ser

classificada com transitória e está associada a inúmeras patologias (LOESER E MAELZACK, 1999). O prurido, dentro do mesmo contexto, é classificado como agudo ou crônico, sendo que o prurido crônico, segundo o *International Forum for the Study of Itch (IFSI)*, é aquele que persiste por mais de seis semanas (STÄNDER *et al.*, 2007).

Além disso, o prurido crônico é um sintoma comum em pacientes que apresentam doença renal crônica, colestase e linfoma, perfazendo também a sintomatologia de doenças inflamatórias de pele, como dermatite atópica, psoríase, urticária, entre outras (para revisão ver: (IKOMA *et al.*, 2006; STEINNHOF *et al.*, 2006; WANG E YOSIPOVICH, 2009). Ademais, ambas as sensações, de acordo com sua etiologia podem ser classificadas ainda como pruritoceptivas ou nociceptivas, neuropáticas, neurogênicas ou psicogênicas (METZ E STÄNDER, 2010).

Dor e prurido não compartilham somente o mesmo adjetivo “desagradável” no que diz respeito à qualidade dessas sensações. Além deste aspecto em comum, as mesmas têm a pele como o tecido que recebe tanto a maior parte dos estímulos nociceptivos quanto pruritoceptivas e ainda fornece estas informações ao sistema nervoso central (PEREIRA E MISERY, 2006).

De fato, tanto o prurido como a dor são considerados resultantes da ativação de terminações nervosas livres, presentes na junção entre a derme e a epiderme, ou seja, estas sensações também dividem uma mesma rede de fibras sensoriais para sua transmissão (STANTE *et al.*, 2005).

1.3 Nociceção como sinal da inflamação

O processo inflamatório possui uma grande interação com a dor. Uma vez que diversos mediadores do processo inflamatório apresentam uma atividade diferenciada e complexa nos nociceptores (MOTA, 2008).

O processo doloroso é sinalizador da inflamação muitas vezes até mais que os próprios mediadores inflamatórios. O processamento da nociceção é caracterizado por uma série de mudanças no local acometido pela inflamação. Este sofre influência de mediadores químicos liberados, como a bradicinina, prostaglandinas, íons potássio, substância P, serotonina e histamina. (WALL, 1999; KANDEL, 2003). A maioria das fibras de pequeno diâmetro é

ativada na presença desses mediadores, determinando a sensibilização periférica e condução da nocicepção (FERREIRA *et al.*, 2004).

Esses mediadores promovem uma série de alterações como aumento da permeabilidade capilar e o extravasamento plasmático, além disso, excitam e sensibilizam os nociceptores aferentes primários, promovendo a irradiação da dor e a subsequente inflamação do tecido subjacente (LENT, 2001), como demonstrado na Figura 02.

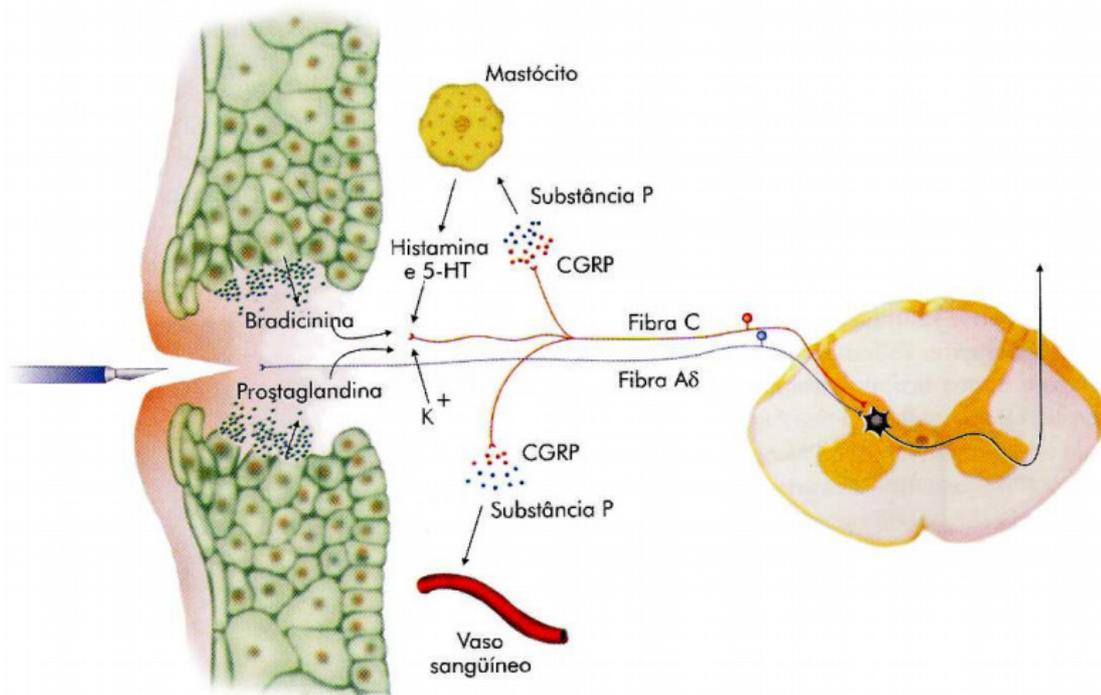


FIGURA 02: Resumo dos mecanismos modulatórios na via nociceptiva. 5-HT 5-hidroxitriptamina; BK Bradicینina; CGRP peptídeo relacionado ao gene da calcitonina; NE, norepinefrina; NGF; NO, óxido nítrico; PG, prostaglandina; SP, substância P. Reproduzida de RANG & DALE, 2004.

A dor decorrente do processo inflamatório é trazida a efeito pela sensibilização de nociceptores pela liberação de mediadores inflamatórios já descritos acima. Em consequência disso, potenciais de ação são desencadeados por estímulos previamente subliminares (hiperalgesia) ou estímulos supraliminares e passam a desencadear respostas maiores em intensidade e/ou duração (alodínia). A hiperalgesia e alodínia inflamatória resultam da liberação desses mediadores, conduzem a informação diretamente até o SNC, onde ocorrem mudanças que podem ampliar ou reduzir a dor. Por isso diz-se que a nocicepção é um processo de sinalização até maior que os próprios fatores participativos no processo

inflamatório (REN & DUBNER, 1999). Na Figura 03, está exposto um diagrama dos diferentes estímulos dolorosos.

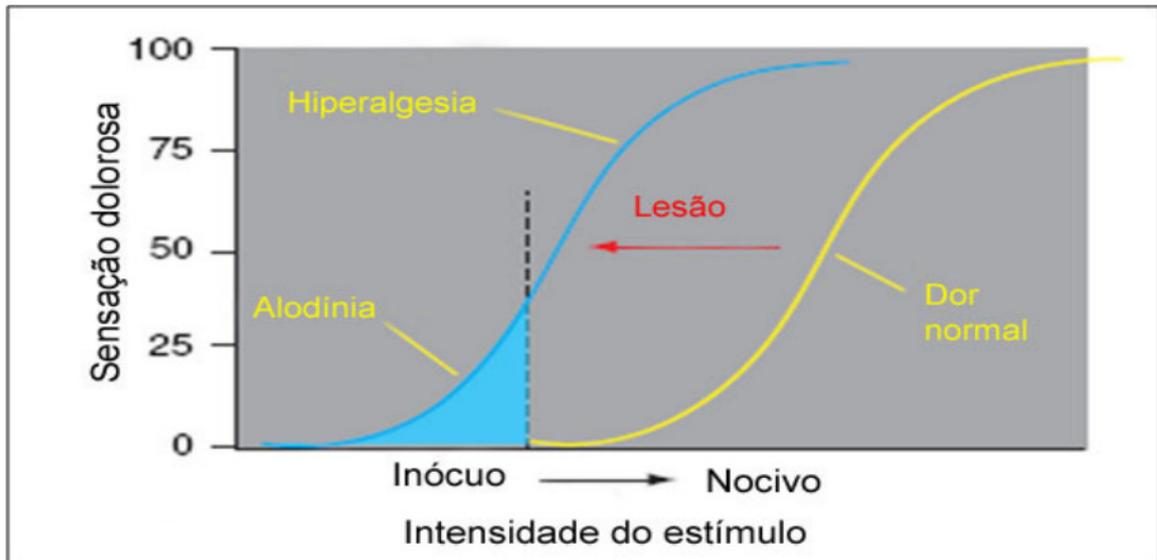


FIGURA 03: Diagrama ilustrando as alterações na sensação dolorosa induzida por lesão. A relação normal entre estímulo e a magnitude da sensação dolorosa é representada pela curva do lado esquerdo da figura. A sensação dolorosa é evocada apenas por estímulos com intensidade na área correspondente a estímulos nocivos. A lesão tecidual provoca um desvio da curva para esquerda. Sob esta condição, estímulos inócuos passam a evocar sensação dolorosa (sensibilização). Adaptado de CAVERO; LAIRD, 1996).

Os nociceptores podem ser distinguidos quanto aos tipos principais: nociceptores térmicos (ativados por temperaturas extremas $> 45^{\circ}\text{C}$ ou $< 15^{\circ}\text{C}$), mecânicos (ativados por pressão intensa aplicada na pele) e polimodais (ativados por estímulos mecânicos químicos ou térmicos de alta intensidade). A sensibilização dos nociceptores causa uma redução do seu limiar de ativação e, em alguns casos, atividade espontânea. (LIMA, 2002; ALMEIDA, 2001; COUTAUX *et al.*, 2005).

Já os mediadores inflamatórios podem induzir hiperalgésia pela sensibilização do nociceptor. Isso é resultado da ativação de quinases celulares e alteração na excitabilidade da membrana ou, de forma indireta, via síntese e liberação de outros reguladores celulares como os prostanóides, citocinas e fator de crescimento do nervo – NGF) (SALTER, 2004).

Com isso, pode-se afirmar que a esses fatores deflagram a liberação de estímulos que facilitam o processo de modulação neural da nocicepção e a torna um sinal do processo inflamatório.

1.4 Transdução dos sinais

Algumas substâncias podem provocar dor aguda pela ativação direta dos nociceptores, como a bradicinina, ATP e a capsaicina. Para reconhecer os eventos que acometem o organismo quando na transdução de sinais nociceptivos, é necessário entender os eventos para possibilitar modificações seletivas nos seus mecanismos de ação, e assim, levar ao desenvolvimento de novos fármacos com ação analgésica (LIPSCOMBE; RAINGO, 2006).

Alguns mediadores químicos, como metabólitos do ácido araquidônico, peptídeos, serotonina, acetilcolina, citocinas, fator de crescimento neuronal, glutamato, óxido nítrico, ATP, ADP, adenosina e prótons, agem direta ou indiretamente após serem liberados por injúria tecidual. Outros como formalina, ácido acético, capsaicina, alguns venenos, etc; podem através de aplicação exógena, causar irritação. Esses precursores exógenos e endógenos são responsáveis por uma série de eventos que ocorrem durante a transmissão da dor, podendo agir diretamente em ambos os sistemas nervoso central e periférico (COLLIS e HOURANI, 1993). Segundo Dray *et al.*, 2000, todos os tecidos do SNC são inervados por fibras aferentes embora suas propriedades diferem marcadamente dependendo se a inervação é somática.

A estimulação dos nociceptores gera potenciais de ação que são conduzidos pelas fibras dos neurônios sensoriais primários aos neurônios de segunda ordem no corno da medula espinhal, ascendendo para o córtex (CHENG, 2008).

O Corno posterior da medula espinhal (CPME) localiza-se atrás do canal central da medula espinhal e pode ser dividido em lâminas, de acordo com a morfologia celular, bioquímicas e atividade celular frente a diferentes estímulos. O princípio mais aceito, foi proposto por Rexed 1952, que dividiu o CPME em 6 lâminas. Sendo que a lâmina I e II corresponde às áreas responsáveis pela detecção da nocicepção (VENANCIO, 2006).

Os corpos celulares dos nociceptores se inserem na rota do gânglio dorsal adjacente com neurônios de segunda ordem predominantemente na lâmina 2 do cordão espinhal. Os neurônios de segunda ordem atravessam o cordão espinhal para ascender no trato espinotalâmico com suas fibras terminais predominantemente localizadas no tálamo. No tálamo neurônios de terceira ordem enviam axônios para o giro congulado anterior o qual está envolvido nos componentes emocionais da dor. Esta representa a rota clássica, porém,

existem outras rotas possíveis envolvendo diferentes estruturas (BESSION, 1999). Na Figura 04, está representada de forma adaptada a rota descrita acima, adaptada de FEIN, 2012.

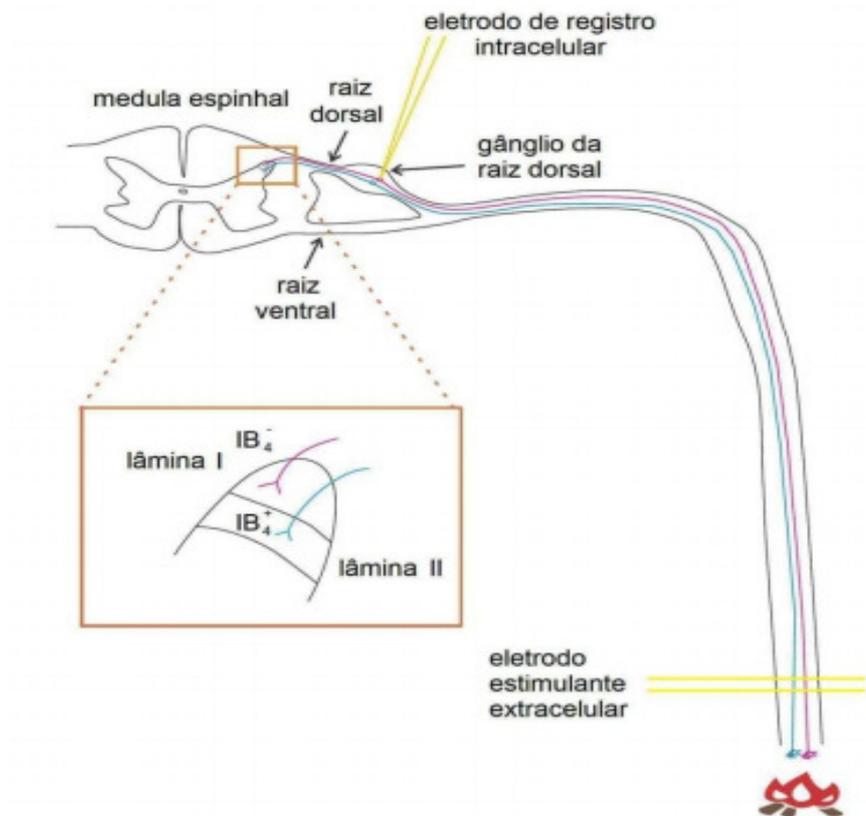


FIGURA 04: Representação da ativação de nociceptores por calor intenso. Os potenciais de ação são propagados ao longo dos axônios dos nociceptores a medula espinhal e um eletrodo intracelular, espetado no corpo celular que se encontra no gânglio da raiz dorsal, monitora a atividade de um dos nociceptores. A sensação dolorosa é captada pela lâmina II do cordão espinhal como descrito acima.

Os estudos acerca das bases neurofisiológicas do prurido tiveram início no começo do século XX. Foi neste período que surgiram às primeiras indagações sobre como um estímulo é capaz de sensibilizar receptores sensoriais periféricos, gerando nelas informação a ser transmitida por fibras aferentes, á medula espinhal, que é repassada ao cérebro onde é, percebida como uma sensação distinta da dor (PATEL, 2010).

A primeira hipótese adotada para explicar o prurido, chamada de teoria da intensidade, foi formulada acreditando-se que o prurido era uma sub-modalidade de dor, e que a transição de prurido para dor dependia da frequência de descargas elétricas dos nociceptores, de modo que, a baixa frequência de ativação dessas fibras induziria prurido e a alta frequência geraria

dor. Segundo esta hipótese, o prurido, seria uma sub-modalidade menos intensa de dor (SCHMELZ, 2010). No entanto, posteriormente, alguns estudos mostraram que a aplicação de baixas concentrações de substâncias algogênicas causava apenas dor menos intensa e não prurido.

Além disso, estudos com microestimulação elétrica intraneural de fibras aferentes humanas, revelam que estes estímulos induziam dor, e menos comumente, prurido. Assim, um sistema específico para codificação do prurido passou a ser sugerido (WILSON, 2011).

Em 1995, Schimidt e colaboradores mostraram a existência de um novo subtipo de neurônios irresponsivos à estimulação mecânica. Estudos subseqüentes descreveram melhor estas fibras, as quais correspondem a 20% das fibras C aferentes, sendo caracterizadas por baixa velocidade de condução (0,5 m/s), grandes territórios de inervação, alto limiar elétrico cutâneo, ausência de atividade espontânea, sendo que 20% deste sub tipo, possui resposta sustentada à aplicação de histamina e capacidade de gerar eritema reflexo quando ativadas. Este subtipo de fibras corresponde a 5 % de todas as fibras C (SCHMELZ *et al.*, 1997). Essas fibras foram chamadas de fibras C insensíveis a 4estímulos mecânicos (também denominadas fibras silenciosas).

Posteriormente, foi demonstrado que a aplicação de histamina, por iontoforese, na pele de voluntários sadios é capaz de ativar, seletivamente e de modo dependente da dose uma população de fibras não-mielinizadas, insensíveis a estímulos mecânicos, cuja ativação está associada paralelamente com o desencadeamento da sensação de prurido (SCHMELZ *et al.*, 2001). Na Figura 05, podem ser verificados os diferentes mecanismos do prurido e dor, identificando ainda, que as vias envolvidas nos dois processos são as mesmas.

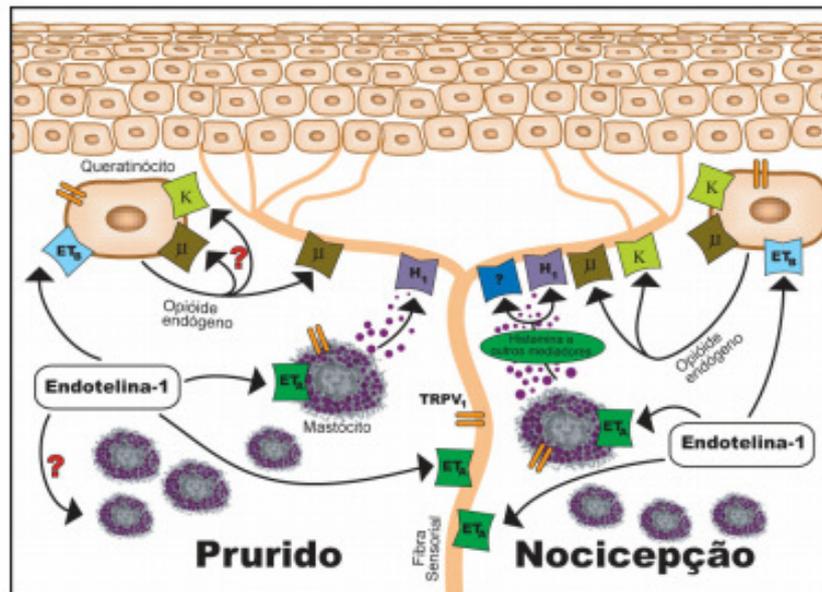


FIGURA 05: Representação esquemática do possível mecanismo de indução das respostas pruritoceptivas e nociceptivas pela ET-1 (endotelina) quando administrada por via intradérmica em camundongos. Adaptado de: GOMES, 2011.

1.5 Mecanismos neurais da dor

O termo nocicepção se distingue de dor. O primeiro refere-se às alterações neurofisiológicas que acometem o indivíduo quando este sofre um estímulo nocivo. O segundo termo refere-se à percepção desse estímulo e a forma como o organismo abstrai os impulsos sensoriais (ALMEIDA *et al.*, 2001).

Essa capacidade de detecção de um estímulo nocivo é sem dúvida um dos maiores mecanismos de proteção através do sistema somatosensorial e que envolve a interação de mecanismos periféricos e centrais. O que depende da ativação de nociceptores e da transmissão da informação ao SNC. Essa transmissão acontece pelos aferentes nociceptivos que se encontram distribuídos (pele, músculo, articulações, vísceras e meninges). Esses aferentes englobam tanto fibras A δ (mielinizadas de rápida condução) e C (não mielinizadas de lenta condução) (COHEN, 2002).

Os Sistemas Nervoso Central e Periférico (SNC e SNP) são dinâmicos, modulados e/ou ativados por estímulos provenientes dos tecidos. A dor nociceptiva que se caracteriza por um estímulo tecidual de alerta é um mecanismo crucial de defesa que protege os tecidos, e acontecem graças ao funcionamento normal tanto do SNC quanto do SNP. A ocorrência de

dores inflamatórias e/ou neuropáticas é uma alerta ou reflexo do funcionamento patologicamente modificado desse sistema (SALTER, 2005).

Os sistemas modulatórios são complexos e dinâmicos. Neurotransmissores, agonistas de receptores dopaminérgicos D2, de receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} e de receptores muscarínicos M₂ e M₄ também estão envolvidos na modulação inibitória das vias ascendentes da transmissão nociceptiva (GAO *et al.*, 2005)

O fenômeno de sensibilização central juntamente com o de sensibilização periférica medeia os processos de hiperalgesia e alodínia (TREEDE *et al.*, 1992).

1.5.1 Modulação central

A dor pode ser modulada por mecanismos centrais, uma vez que o sistema nervoso possui circuitos que modificam a percepção da dor. Essa modulação ocorre principalmente na medula espinhal, usando interconexões de vias nociceptivas e não-nociceptivas para os centros supra-espinhais e também estruturas encefálicas participam da analgesia (BASBAUM & JESSELL, 2000).

Os estímulos nocivos podem ter uma ação além do que já foi mencionado, agindo diretamente a nível genético. Essas evidências mostram que estes estímulos poderiam também produzir variações de longa duração por afetar diretamente processos celulares do SNC. Justificado pela modulação da expressão de genes de ativação imediata (PRADO; DEL BEL, 1998).

Geralmente, a sensibilização central persiste até o término do estímulo nociceptivo periférico, mais há casos em que esse processo pode se prolongar mesmo após o desaparecimento do estímulo (DWORKIN *et al.*, 2003). Na Figura 06, pode ser verificado o mecanismo central para alívio da dor.

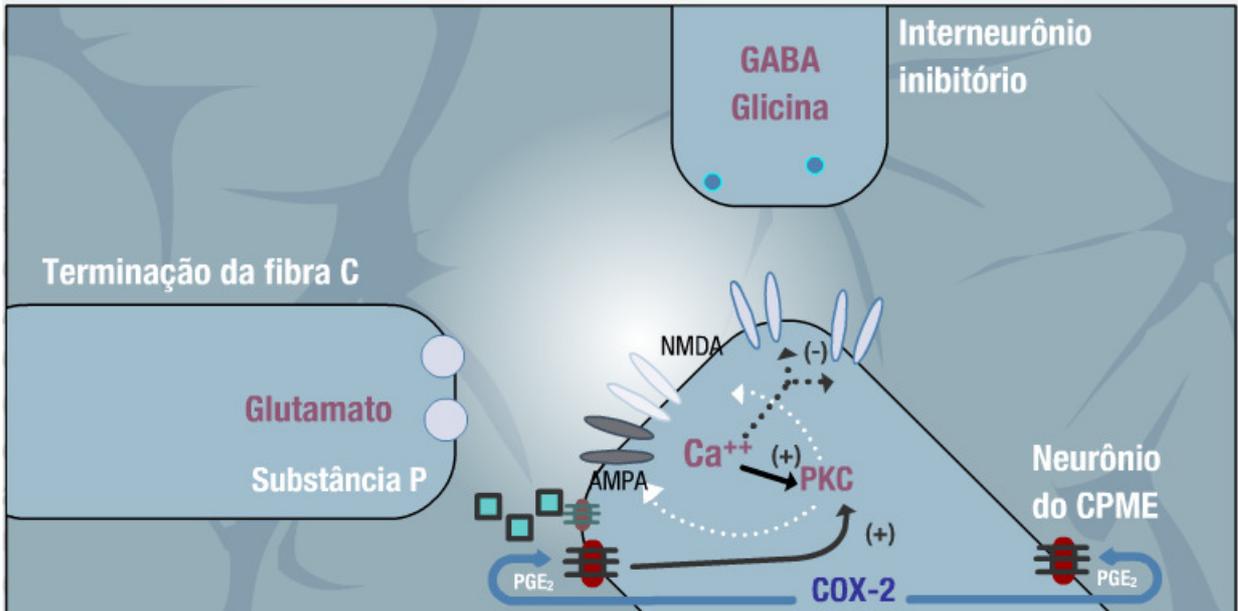


FIGURA 06: Mecanismo central para alívio da dor. Fonte: Fisiopatologia da dor, disponível em: <http://www.sba.com.br/imagens/ensino/cursos/3/curso.swf>

1.5.2 Modulação periférica

O conceito das distintas classes de fibras nervosas periféricas que conduzem os sinais dolorosos foi descrito por Sherrington em 1906. Após esse conceito inicial, as classes de fibras nervosas têm sido descritas com relação ao tipo de estímulo doloroso que está sendo vivenciado (RAJA *et al.*, 1999). Estímulos tais como calor, frio, compressão de substâncias potencialmente nocivas (HESS, 2002). Os sinais são gerados em fibras aferentes finas do tipo A δ e C, respondendo a esses estímulos.

Quando ativados, os nociceptores periféricos enviam a informação nociceptiva ao SNC através das fibras aferentes. Os longos axônios dessas fibras nociceptivas periféricas estendem-se de seus corpos celulares contidos no gânglio da raiz dorsal. Após emergir de seu corpo celular, o axônio aferente primário bifurcam-se para enviar prolongamentos à medula espinal e para inervar os tecidos corporais (MILLAN, 1999).

A transmissão sináptica entre neurônios aferentes primários e neurônios do corno dorsal da medula espinal é mediada, principalmente, por glutamato atuando em receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) e AMPA (α -amino-3-hidroxi-4-isoxazóil ácido propiônico), outras substâncias ainda podem modular a transmissão na medula (ATP, prostaglandinas,

substância P) (DOUBELL *et al.*, 1999). Na medula, a transmissão dos sinais dolorosos após a liberação dos neurotransmissores envolve a participação de canais iônicos. Os principais canais envolvidos nesses efeitos são os canais de sódio, os canais de cálcio operados por voltagem e os canais de potássio (LEE *et al.*, 2005).

A sensibilização central e a sensibilização periférica contribuem bastante para as alterações fisiológicas que acometem o organismo pós lesão tecidual. No entanto, o processo inflamatório é o principal responsável pela sensibilização periférica, isso acontece porque a liberação de diversos mediadores inflamatórios interfere na atividade das fibras sensoriais aferentes, por ativar diretamente o nociceptor ou reduzir o seu limiar de ativação (MILLAN, 1999). Na Figura 07, está representado o mecanismo de modulação periférica dos opióides.

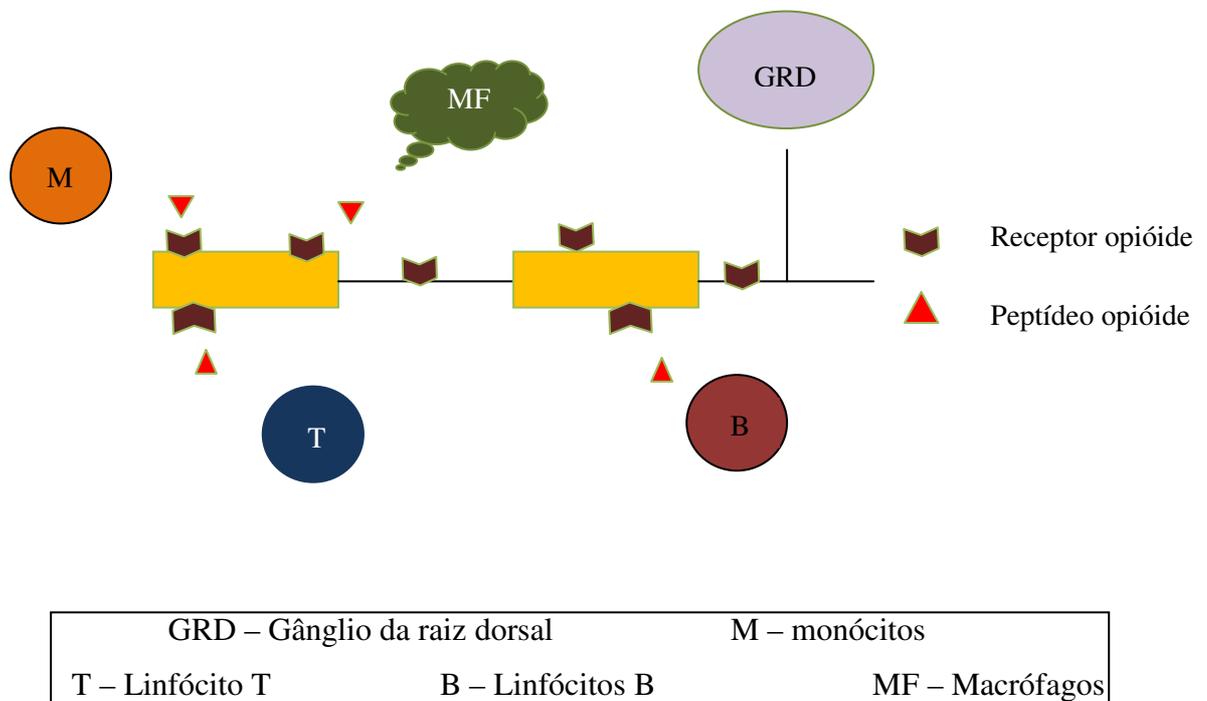


FIGURA 07: Mecanismo da modulação periférica dos opióides. Fonte: Adaptado de fisiopatologia da dor, disponível em: <http://www.sba.com.br/imagens/ensino/cursos/3/curso.swf>

1.6 Dor Corneal

Dentre os diversos nervos do corpo sujeitos a neuropatia, o trigêmeo também constitui um alvo importante. O nervo trigêmeo conduz informações através de três ramificações principais: a oftálmica, a maxilar e a mandibular. Em geral, a divisão oftálmica, que é

predominantemente sensorial, inerva a superfície das partes superiores da face (FRIED *et al.*, 2001).

Uma grande variedade de produtos químicos provoca irritação ou dor quando entregue à mucosa oral ou ocular (CAVALOTI *et al.*, 2005). Os neurônios centrais trigeminais podem ser ativados por um ou mais produtos químicos irritantes. Imediatamente após aplicação local destes, uma alta incidência do número de “eye wiping” (limpeza no olho) é observado.

Os neurônios em subnúcleos caudais respondem diferencialmente dependendo dos estímulos. Alguns dependentes de produtos químicos, muitos dos quais agem em receptores específicos moleculares outros respondem exclusivamente à estimulação nociva do tecido intra-oral, a córnea (por exemplo, histamina, a capsaicina, a serotonina, e nicotina) (AMANO *et al.*, 1986; BUSHNELL *et al.*, 1984; CHIANG *et al.*, 1994; HU, 1990; McHAFFIE *et al.*, 1994).

A aplicação de solução salina hipertônica na córnea ativa transitoriamente neurônios nociceptivos com ampla faixa dinâmica no subnúcleo trigeminal (CARSTENS *et al.*, 1998). A salina induz dor aguda na córnea, onde podem ser encontradas as mais altas concentrações de acetilcolina no organismo (TANELIAN *et al.*, 1991)

O papel preciso da acetilcolina na córnea é claro. A mediação sensorial, a produção de mediadores inflamatórios a partir do ácido araquidônico e na produção de respostas de dor lesão do tecido que se segue ou isquemia foram ligados para o sistema de acetilcolina (BARATZ *et al.*, 1987).

Portanto, a córnea é utilizada para o estudo da nocicepção no sistema trigeminal porque os receptores da córnea têm uma grande representação no gânglio trigêmeo através do seu ramo oftálmico (FRIZZO, 2004). A córnea tem um papel importante na modulação da dor trigeminal. E pode ser alvo de investigação de drogas locais que inibam ou sensibilizem as terminações nervosas na transdução do potencial nociceptivo. Na Figura 08 está a representação gráfica do nervo trigêmeo de humano e suas ramificações.

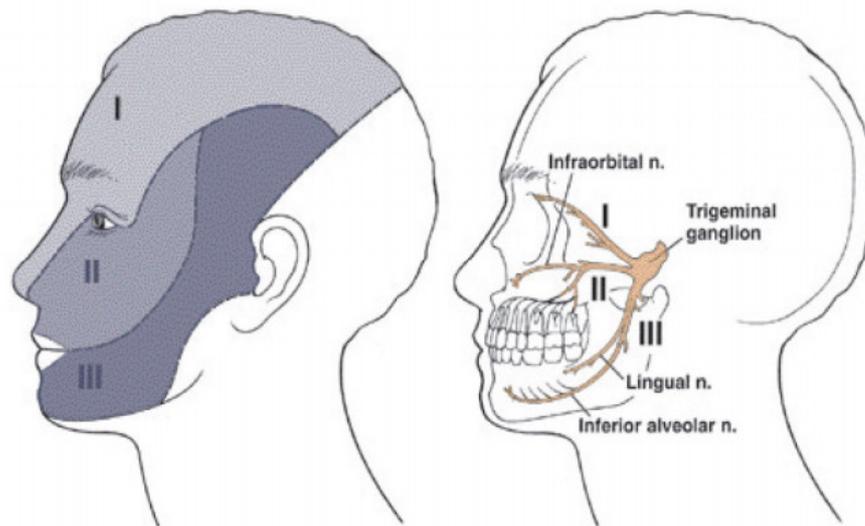


FIGURA 08: Nervo trigêmeo em humano e suas ramificações (adaptado de LOPES, 2006).

1.7 Terapias utilizadas

Os mecanismos que modulam a dor são complexos e precisos. Nos casos em que a dor advém de um processo neuropático, pode haver insensibilidade ao tratamento de drogas padrões. Partindo desse pressuposto, as terapias para alívio da dor são vistas como objetivo principal (FEIN, 2012).

Levando em consideração essa multiplicidade de mecanismos conhecidos e desconhecidos para modular a dor, a ocorrência na literatura de muitos compostos que possam direta ou indiretamente modular sua transmissão não é surpreendente. Mesmo assim, poucos são aqueles com suficiente seletividade de ação ou potência e conseqüentemente interesses clínicos (FILHO, 2005).

O mercado analgésico cresceu 27%, e o Brasil é o sexto maior mercado analgésico do mundo, segundo dados revelados pelo IMS Health, consultoria que audita a indústria farmacêutica. Esse dado reflete a importância de pesquisas farmacêuticas tendo como foco substâncias analgésicas.

Desta forma, a descoberta de fármacos analgésicos se faz necessário e, os mesmos podem produzir seus efeitos ora modulando a liberação de mediadores analgésicos endógenos, ora inibindo a liberação de neurotransmissores algogênicos através de

mecanismos pré ou pós-sinápticos, a nível central o/eu periférico (CAVALCANTI & MADDALENA, 2003).

Buckingham citado por Filho (2010) afirma que a medicina alopática mundial utiliza 119 drogas, todas com estruturas definidas, que são extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores. Cerca de 70% dos principais produtos medicinais obtidos de vegetais foram descobertos através de orientação baseada em resultados revelados pela medicina popular (FILHO, 2010).

Já para o alívio do prurido, é importante saber que pode ser reduzido por estímulos dolorosos causado pelo próprio ato de coçar. Contudo, a inibição da sensação pruriginosa por estímulos dolorosos foi experimentalmente demonstrada, pela primeira vez, utilizando estímulos nocivos térmicos, mecânicos e químicos (WARD *et al.*, 1996). No entanto, terapias alvos-específicas devem ser buscadas a fim de definir a fisiopatologia do prurido, uma vez que esta é pouco conhecida.

Um aspecto curioso em relação à modulação central do prurido é que o ato de coçar produz uma sensação prazerosa, a qual pode ser prejudicial, principalmente no caso de pacientes com prurido crônico. Esse ato conduz a um ciclo vicioso de “sensação de coceira – ato de coçar”. Estudos indicam que a ativação do córtex pré-frontal e orbital-frontal pode contribuir para esta sensação, indicando que aspectos motivacionais, como a ativação do sistema de recompensa estão diretamente relacionados com o componente compulsivo do ciclo. Esta sensação prazerosa pode ocorrer devido liberação de opióides endógenos (IKOMA *et al.*, 2006).

Nesse contexto de dor, que pode levar a uma série de outros estímulos desagradáveis como o prurido, o conhecimento empírico tem grande relevância na descoberta de novas plantas medicinais, fornecedoras de substâncias químicas bioativas oriundas do metabolismo celular secundário do vegetal, que possa estar atuando na modulação de mecanismo patológicos como descritos acima.

1.8 Vanillosmopsis arborea Baker

A Floresta Nacional do Araripe, situada na região Nordeste do Brasil, (Ceará, Pernambuco e Piauí) tem expressivo potencial ecológico. Nela encontram-se diversas espécies

da flora nativa que originam produtos de uso popular e científico. As plantas medicinais são um dos poucos recursos terapêuticos disponíveis para a maioria da população latino-americana, que as utiliza para tratar as mais diversas patologias (LAPA, 2008).

Nesse universo da biodiversidade local, é possível encontrar o uso de plantas com a finalidade de tratamento e cura de enfermidades humanas. Dentre as espécies vegetais empregadas com a finalidade curativa pelas comunidades residentes na área de cerrado da Chapada do Araripe, evidencia-se o Candeeiro, como é mencionado popularmente, pertencente ao Gênero *Vanillosmopsis*, Família Asteraceae. Existem sete espécies nativas no Brasil para o gênero *Vanillosmopsis*. Segundo a Flora brasiliensis: *Vanillosmopsis brasiliensis*; *Vanillosmopsis capitata*; *Vanillosmopsis erythropappa*; *Vanillosmopsis pohlii*; *Vanillosmopsis polycephala*; *Vanillosmopsis discolor* e *Vanillosmopsis arborea*. Esta última merece destaque por apresentar propriedades farmacológicas já comprovadas (LIMA, 2006).

Vanillosmopsis arborea é uma arvoreta, com até 4m de altura, nativa da Chapada do Araripe, no estado do Ceará. Trata-se de uma madeira de boa qualidade, que apresenta uma capacidade de produzir chama, justificando o nome popular “candeeiro”.

O óleo do candeeiro é rico em (-)- α -bisabolol, presente em produtos dermatológicos, e além de apresentar atividades antimicrobiana, antifúngica e antiinflamatória, possui também baixa toxicidade (MATOS *et al*, 1998). O (-)- α -bisabolol apresenta-se como 80,43% de sua composição. O restante, propanoato de etila (5,87%), etanoato de propila (9,00%), o-metil-eugenol (2,39%), óxido-bisabolol (2,31%), totalizando 100% na identificação do óleo essencial (SANTOS, 2009).

O (-)- α -bisabolol é um álcool sesquiterpênico monocíclico insaturado, representado na Figura 07, cujo número CAS (Chemical Abstracts Service) é #6737541-1. Possui fórmula molecular $C_{15}H_{26}O$, peso molecular 222,371 g/mol e sinonímia de levomenol. Segundo Mori 2009, o óleo de Candeeiro, por ser rico em (-)- α -bisabolol, pode ser uma alternativa ao óleo de camomila, uma vez que este último também contém esse sesquiterpeno como majoritário.

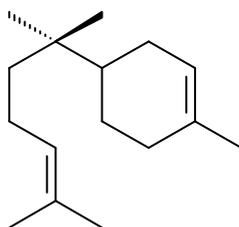


FIGURA 09: Estrutura química do (-)- α -bisabolol. Fonte: LPPN

Estudos já demonstraram atividades biológicas com o óleo de *Vanillosmopsis arborea* Baker, dentre os quais pode ser destacado pesquisas realizadas pela Universidade Regional do Cariri, demonstrando efeito gastroprotetor do óleo essencial (LEITE *et al.*, 2009); atividade antinociceptiva visceral (LEITE *et al.*, 2011; SANTOS, 2009); atividade antioxidante para o extrato (LEITE *et al.*, 2011); atividades antimicrobianas, antioxidante, antiinflamatória, antinociceptiva, ansiolítica, sedativa, depressora do sistema nervoso central (SANTOS *et al.*, 2009). Outras pesquisas não vinculadas a esta instituição descreveram para a mesma espécie atividades antiinflamatória tópica (MENEZES *et al.*, 1990); propriedades repelentes e larvicidas (FURTADO *et al.*, 2005); ansiolítica, sedativa, depressora do sistema nervoso central e hipnótica foram demonstradas e avaliadas no trabalho de CRAVEIRO 1989.

O crescente interesse na pesquisa vinculado à área de bioprospecção de produtos naturais reside na busca promissora diante da riqueza local, evidenciada pela biodiversidade da Chapada do Araripe (ARTUSO, 2002). O saber popular é amparado pela prática científica, que muitas vezes prova o inquestionável e inestimável valor cultural, que também serve de base para essa pesquisa (SILVA, 2006).

Cabe ainda levar em conta, que a maior parte da riqueza biológica brasileira não é conhecida tal qual sua complexidade. E ainda, que a maioria da população que utiliza de plantas medicinais com finalidade terapêutica, a maioria de baixo poder aquisitivo (NODARI, 2001).

Nesse contexto, *Vanillosmopsis arborea* apresenta-se como um vegetal de grande interesse podendo demonstrar atividades biológicas promissoras. Isso nos motiva a estudar suas propriedades antinociceptivas de forma mais abrangente; tanto pela presença do (-)- α -bisabolol como componente majoritário, quanto pelo fato de que, após uma intensa revisão na literatura, identificamos várias outras atividades farmacológicas que podem ser características da presença do álcool sesquiterpênico, e/ou mistura dos compostos presentes no seu óleo. E por fim, investigar os mecanismos pelos quais ela possa estar atuando.

1.9 Justificativa

A expansão do uso terapêutico de óleos essenciais tem acompanhado a busca de novas fontes de medicamentos contra várias doenças inflamatórias, alérgicas, reumáticas e artrite. No entanto, existem poucos estudos científicos sobre suas ações biológicas (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A utilização de óleos essenciais no controle de doenças tem se tornado um meio eficiente para a redução do uso indiscriminado de medicamentos. Especialmente em se tratando de dor, que normalmente é vista como um fenômeno que interfere na qualidade de vida. A exploração da atividade biológica dos metabólitos secundários de plantas surge como uma forma potencial de controle alternativo desse processo patológico (TAKATSUKA *et al.*, 2003).

A riqueza local, evidenciada pela biodiversidade da Chapada do Araripe, tem aumentado o interesse de pesquisas na área de bioprospecção produtos naturais. A prática científica, aliada ao saber popular, prova o inquestionável e inestimável valor biológico desses vegetais.

Corroborando com o desvelamento desses saberes, e contribuindo para a divulgação de pesquisas tendo como foco a biodiversidade da região do cariri. Esta pesquisa visa contribuir com o crescimento e desenvolvimento de alternativa de tratamento na regional, investigando possíveis ações farmacológicas presentes nessa espécie nativa. Nesse trabalho deu-se uma continuidade, a pesquisas já desenvolvidas e que apresentaram resultados promissores, podendo remeter a essa espécie atividades como antiinflamatória, antinociceptiva e possível atividade antipruriginosa.

Para tanto, as pesquisas com essa espécie, apontam para sua grande importância e busca de identificação compostos que possam ser utilizadas na terapêutica, contribuindo assim, com o conhecimento científico no que concerne ao estudo de óleos essenciais com atividades farmacologicamente ativas. O projeto justifica-se pela ampla riqueza de atividades biológicas com espécie *Vanillosmopsis arborea*, necessárias a sua comprovação. Tornando-se uma possível opção na busca por medicamentos de origem vegetal.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Verificar a atividade antinociceptiva do óleo essencial do caule de *Vanillosmopsis arborea* Baker (OEVA) em diferentes modelos de nocicepção cutânea e avaliar seu(s) possível(s) mecanismo(s) de ação antinociceptivo pelo modelo de dor corneal.

2.2 Objetivos específicos:

- Verificar a atividade do OEVA em modelos animais de nocicepção cutânea induzida por formalina, glutamato, capsaicina, gota de acetona e calor (*hot plate*);
- Estudar a atividade do OEVA em modelo animal de prurido;
- Analisar a atividade tópica do OEVA em modelo animal de nocicepção corneal;
- Determinar o(s) possível(s) mecanismo(s) de ação antinociceptiva do OEVA;
- Pesquisas com a espécie, tendo finalidade prioritária a sua conservação.

MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Para realização dos experimentos foram utilizados camundongos *Swiss* (*Mus musculus*) (25-35g) de ambos os sexos cedidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ) e monitorados no Biotério Experimental da Universidade Regional do Cariri - URCA. Sob condições de temperatura controlada (22 ± 2 °C), respeitando uma fase claro/escuro de 12 horas e com livre acesso a água mineral e ração padrão Labina[®]. Antes do início dos experimentos os animais foram mantidos no laboratório por um período de 24 horas para adaptação. Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Experimentação e Uso de Animais (CEUA) da Universidade Regional do Cariri (Protocolo 02/2012. Apêndice 111). Os experimentos foram conduzidos de acordo com as orientações para os cuidados com animais de laboratório (CEAE, 2003), e obedecendo as normas de bioética e biossegurança para os cuidados animais.

3.2 MATERIAL VEGETAL

3.2.1 Coleta do material botânico

O material vegetal foi coletado no Sítio Barreiro Grande na Cidade de Crato – CE em 01/08/2012, período reprodutivo da espécie. Realizada após concessão de autorização pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio e obtenção de número de autorização/registo 32164-1 (Apêndice 111). Uma amostra foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima - HCDAL, sob o número de depósito 8725 (Figura10).



FIGURA 10: Exsicata de *Vanillosmopsis arborea* Baker. Depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima, sob número de registro 8725, coletada em área de cerrado no Sítio Barreiro Grande na cidade de Crato – CE. Fonte: Autora

3.2.2 Obtenção do óleo essencial

O óleo essencial do caule foi extraído através de um processo de hidrodestilação realizado no Laboratório de Pesquisa de Produtos naturais, coordenado pelo professor Dr. José Galberto Martins da Costa. O OEVA (Óleo essencial do caule de *Vanillosmopsis arborea*) foi extraído a partir do caule. Este foi triturado, colocado em balão imerso em água destilada, e levado ao aparelho tipo clewenger modificado para extração por araste a vapor. Após término do processo, o óleo foi coletado, e adicionado Na_2SO_4 , passado 24 horas em contato, o óleo passou por uma filtração e foi posteriormente acondicionado em refrigerador para uso em testes. O fluxograma apresentado (Figura 11) abaixo esquematiza o processo descrito.

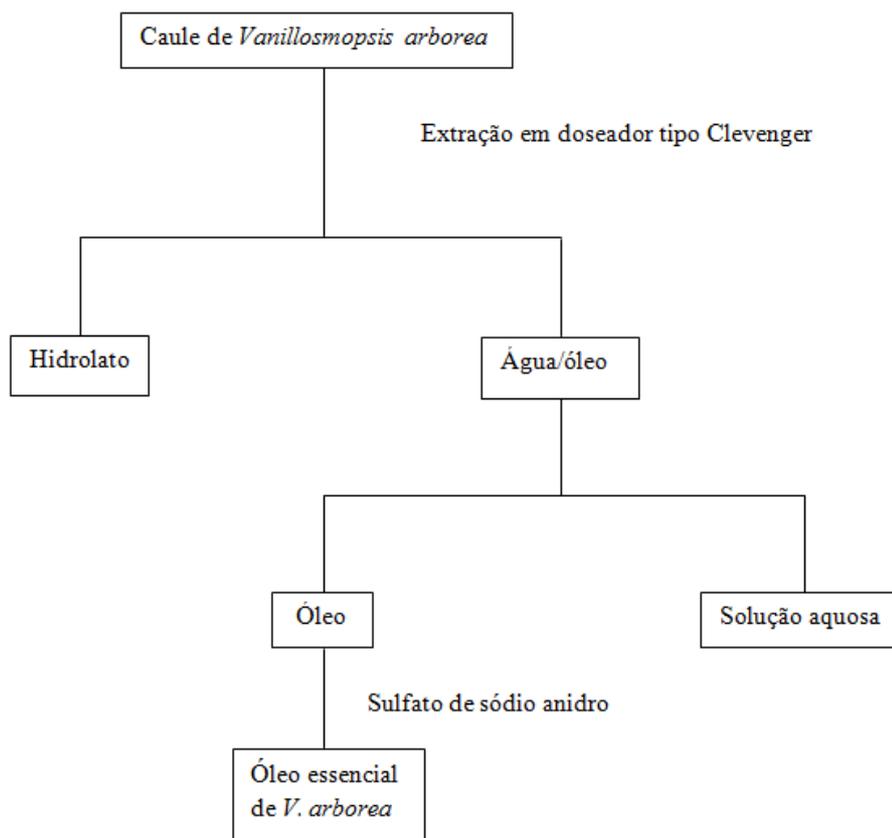


FIGURA 11: Fluxograma da extração do óleo essencial. Fonte: Autora

3.2.3 Análise química do óleo essencial do caule de *Vanillosmopsis arborea*

A análise do óleo feita a partir de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, utilizando um Shimadzu GC MS - QP2010 série (GC / MS): Rtx-5MS coluna capilar (30 mx 0,25 mm, 0,25 espessura de filme); gás hélio de arraste a 1,5 ml / min, temperatura do injetor ° C 250; detector de temperatura 290 ° C, temperatura da coluna 60 ° C - 180 ° C a 5 ° C / min, então ° 180 - 280 ° C a 10 ° C / min (10 min). Velocidade de digitalização foi de 0,5 scan / seg de m / z 40-350. Razão de separação (1:200). Volume injetado: 1 ul de [25 (óleo essencial) uL / 5 mL de CHCl₃] (1: 200). Tempo de corte solvente = 2,5 min. O espectrômetro de massas foi operado com 70 eV de energia de ionização. Identificação dos componentes individuais foi baseada em sua fragmentação espectral de massa com base no espectro de massa da biblioteca NIST 08, índices de retenção, e comparação com os dados publicados.

3.3 DROGAS

PRODUTO	FONTE
Formol	SIGMA
Capsaicina - 8-metil-N-vanilil 1-6-nonamida	SIGMA
Glutamato	SIGMA
Acetona	SYNTH
Histamina	SIGMA
Naloxona	SIGMA
Prazosin	SIGMA
Fenilefrina	SIGMA
Ioimbina	SIGMA
Clonidina	SIGMA
L-arginina	SIGMA
L-name	SIGMA
Ondasetrona	SIGMA

Atropina	SIGMA
PCPA (para-chlorophenylalanine)	SIGMA
Teofilina	SIGMA
Capsazepina	SIGMA
Ciclopentilenadenosina	SIGMA
Glibenclamida	SIGMA
Diazóxido	SIGMA

QUADRO 01: Lista de drogas utilizadas para experimentos farmacológicos.

3.4 MÉTODOS

3.4.1 Nociceção cutânea induzida por formalina. (HUNSKAAR, S. H. K., 1987)

Esse modelo foi proposto para estudo de drogas com ação na primeira fase, que ocorre normalmente durante os 5 primeiros minutos após a injeção de formalina, levando a uma resposta neurogênica. E na segunda fase (15-30 minutos) conhecida por uma resposta inflamatória. O OEVA nas concentrações de 25, 50, 100 e 200 mg/kg (v.o) ou tópico (imagem); veículo 0,1 ml/10g (v.o) ou tópico (Imagem 01); ou morfina (7,5 mg/kg s.c) foram administrados nos camundongos, após 30 ou 60 min foi administrado 20 μ L de solução de formalina 2,5% na superfície ventral da pata direita do animal. A resposta nociceptiva (lambida e/ou mordida da pata) foi observada de 0-5 min (fase neurogênica) e de 15-30 min (fase inflamatória) após a injeção da formalina.



IMAGEM 01: Imobilização da pata do camundongo para o teste de formalina com administração tópica do OEVA. Fonte: Autora

3.4.2 Nociceção cutânea induzida por capsaicina (SAKURADA *et al.* 1992).

Esse modelo foi proposto para o estudo de compostos que atuam sobre a dor de origem neurogênica. O OEVA nas concentrações de 25, 50, 100 ou 200 mg/kg (v.o.), veículo (v.o.) ou morfina 7,5 mg/kg (s.c) foram administrados aos camundongos e após 30 ou 60 min foi administrada a capsaicina 1,6 μ g (20 μ L, intraplantar) na superfície ventral da pata direita do animal. A resposta nociceptiva (lambida e/ou mordida da pata) foi observada de 0-5 min após a injeção da capsaicina na pata direita do animal.

3.4.3 Nociceção induzida por glutamato (BEIRITH, SANTOS, CALIXTO, 2002)

O principal neurotransmissor excitatório do SNC é o glutamato (BEIRITH, SANTOS, CALIXTO, 2002). Grupos camundongos (n=8) foram pré-tratados com veículo (0,1 ml/10g, v.o.), Morfina (7,5mg/kg s.c) ou OEVA (25, 50, 100 ou 200 mg/kg, v.o). Após 30 ou 60 min, os animais receberam 20 μ L de solução de glutamato (20 μ mol/pata, intraplantar) preparadas em solução salina (com pH ajustado para 7,4 com NaOH) na pata posterior direita. A resposta nociceptiva (tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata injetada em segundos) foi registrada por um período de 15 min após injeção de glutamato.

3.4.4 Nocicepção induzida pelo estímulo térmico (calor nocivo) - *Teste da placa quente* (WOOLF & MacDONALD *et al.*, 1944).

Os animais foram submetidos ao teste de placa quente para avaliar o possível efeito antinociceptivo do OEVA sobre a nocicepção induzida pelo calor nocivo. O teste de placa quente é específico para identificar drogas de ação central. Esse teste tem a finalidade de avaliar a dor aguda, causada por um estímulo térmico, ou seja, o momento em que o animal é colocado em uma placa quente a 55 ± 1 °C até apresentar o comportamento de levantar (tentativa de pular) ou lambe uma das patas, sendo esta resposta indicativa de nocicepção. Camundongos (n=8/grupo), receberam OEVA 25, 50, 100 ou 200 mg/kg (v.o), Morfina (7,5 mg/kg, s.c.) ou veículo (v.o.). O teste da placa quente foi realizado de 0,5 a 48 horas após a administração das drogas. Sendo todos os animais selecionados 24 horas antes do experimento (os que permaneceram na fonte de calor por mais de 35 segundos foram eliminados). A resposta nociceptiva foi avaliada pela latência (s) que os animais levaram para lambe as patas traseiras ou saltar da placa quente, estabelecendo-se um teto de 30s para evitar lesão tecidual.

3.4.5 Teste de estímulo do tipo alodínia - *Teste da gota de acetona* (CHOI *et al.*, 2005)

Representado pelo teste de gota de acetona, onde haverá um estímulo doloroso, que normalmente não produziria dor. Este teste visa à identificação de drogas que tenham o potencial de aumentar a sensibilidade aos estímulos supraliminares.

Neste teste, 50 µL de acetona são pulverizados na porção plantar da pata traseira dos animais divididos em grupos (n=8) e tratados com o óleo 25, 50, 100 e 200 mg/kg (v.o), morfina (7,5 mg/kg s.c) e o veículo (v.o). Foram analisadas, durante 20s, as seguintes respostas: sem resposta (0); um rápido flick/stamp na pata (1); dois ou mais flicks/stamps (2); períodos de flicking/stamping com lambida da pata (3). Se nenhuma resposta for observada nos 20s iniciais, o registro será continuado da mesma forma nos 20s seguintes (se o animal normal responde, a resposta possui curta latência; mas os animais hipersensíveis apresentam um período prolongado de episódios de respostas). A aplicação de acetona foi repetida 3 vezes em cada pata, com um intervalo de 5min entre as aplicações. Para cada animal, a soma dos escores obtidos nas 3 medidas foi utilizada para análise.

3.4.6 *Eye wiping test – nociceção corneal* (FARAZIFARD *et al*, 2005).

A ação do OEVA sobre a nociceção corneal foi verificada pelo método onde este foi aplicado topicamente nos olhos dos animais em grupos tratados com as concentrações de 25, 50, 100 ou 200 mg/tópico em um volume de (20 μ L/olho) uma hora antes da indução da nociceção corneal pela administração de 40 μ L de NaCl 5M. O número de limpezas no olho realizado com a pata dianteira ipsilateral durante um período de 30s foi contabilizado e comparado ao grupo controle o qual foi aplicada uma gota de NaCl 0,15M (salina normal) e ao controle positivo tratado com morfina 7,5 mg/kg (s.c.). A imagem a seguir mostra a aplicação tópica no olho dos animais.



IMAGEM 02: Foto da aplicação tópica de 20 μ L de NaCl no olho dos animais. Fonte: Autora

3.4.7 *Prurido induzido por Histamina* (KURAISHI *et al.*, 1996)

Os animais tiveram seu dorso raspado 24 horas antes do experimento. Receberam tratamento oral do OEVA nas concentrações de 25, 50, 100 ou 200 mg/kg v.o, morfina (7,5 mg/kg s.c) ou veículo; 30 ou 60 min após os tratamentos, 20 μ L da solução de histamina 100nmol foram injetados por via intradérmica no dorso dos animais. Imediatamente após a injeção da histamina, os animais foram observados durante 1h. Sendo registrado o número de acessos de coceira, que corresponde a cerca de 3 ou mais movimentos rápidos com a pata traseira (direita ou esquerda) dirigidos à área próxima ao local de aplicação.

3.5 ESTUDO DO(S) POSSÍVEL(S) MECANISMO(S) DE AÇÃO ANTINOCICEPTIVA CUTÂNEA DO OEVA

Com o objetivo de determinar o(s) possível(is) mecanismo(s) de ação da propriedade antinociceptiva cutânea do OEVA foi escolhida a concentração de 50 mg/kg, a qual mostrou-se mais efetiva e o modelo de dor corneal sendo um experimento no qual o óleo mostrou efetividade bastante significativa. A reversão da propriedade antinociceptiva do OEVA frente a um antagonista específico de várias vias que modulam o processo nociceptivo foi o critério adotado para detectar o mecanismo de ação do óleo. As vias de neuromodulação estudadas no presente trabalho foram: noradrenérgica, colinérgica-muscarínica, nitérgica, opióide, vanilóide, serotoninérgica, adenosinérgico e K^+_{ATP} .

3.5.1 Participação do sistema adrenérgico $\alpha 1$

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com um antagonista adrenérgico seletivo $\alpha 1$ Prazosina (0,15 mg/kg, *i.p*) 15 min antes de OEVA 50 mg/kg em um volume de 20 μ l/olho; fenilefrina 10 mg/kg *i.p* ou veículo. Após 30 min, a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 μ L de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente.

3.5.2 Participação do sistema adrenérgico $\alpha 2$

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com um antagonista adrenérgico α -2 Ioimbina (2 mg/kg; *i.p*) 30min antes de Clonidina (0,1 mg/kg, *s.c.*) ou concomitantemente com OEVA na concentração de 50 mg/kg em um volume de 20 μ l/olho ou veículo. Decorridos 30 min do último tratamento a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 μ L de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente.

3.5.3 Estudo do envolvimento do sistema colinérgico-muscarínico

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com um antagonista não-seletivo dos receptores muscarínicos atropina (0,1 mg/kg; *i.p.*) após 15 minutos, com OEVA 50 mg/kg em

um volume de 20µl/olho ou veículo. Decorridos 30 min do último tratamento a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente.

3.5.4 Estudo do envolvimento do óxido nítrico

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com L-arginina 600mg/kg *i.p* (precursor de óxido nítrico) 30 min depois da administração de L-NAME 10 mg/kg, *i.p.* (inibidor da enzima óxido nítrico sintetas) ou L-name concomitantemente com OEVA na concentração de 50 mg/kg em um volume de 20 µl /olho ou ainda veículo. Decorridos 30 min do último tratamento a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente.

3.5.5 Estudo do envolvimento do sistema opióide

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com um antagonista opióide não seletivo Naloxona (2 mg/kg; *i.p.*) 15min antes de Morfina (7,5 mg/kg, *s.c.*) ou OEVA na concentração de 50 mg/kg em um volume de 20 µl/olho. Após 30 ou 60 min, a nocicepção cornela foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente.

3.5.6 Estudo do envolvimento dos receptores TRPV1

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com Vermelho de Rutênio concomitantemente com OEVA 50 mg/kg em um volume de 20 µl/olho ou veículo. Decorridos 30 min do último tratamento a nocicepção cornela foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente. Também foi avaliado a participação dos receptores TRPV1 pela pré-administração de capsazepina (5 mg/kg, *s.c*) 30 min após foi administrado OEVA (50 mg/kg) topicamente ou veículo. Decorridos 30 min do último tratamento os animais foram tratados como descrito anteriormente. Esses dois modelos experimentais foram propostos, para demonstração de vias alternativas para a estimulação dos receptores TRPV1.

3.5.7 Estudo do envolvimento do sistema serotoninérgico

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com Ondasetrona (0,5 mg/ kg, *i.p.*) 30min antes de OEVA 50 mg/kg em um volume de 20 µl/olho ou veículo. Decorridos 30 min do último tratamento a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente

Com o intuito de avaliar as interações referentes a síntese e/ou liberação de 5-HT no efeito antinociceptivo do OEVA, animais foram tratados com PCPA (p-clorofenilalanina, um inibidor da síntese de serotonina), 100 mg/kg, *i.p.*, por quatro dias. Um grupo recebeu salina (10 ml/kg, *i.p.*), pelos mesmos quatro dias. No quarto dia, após trinta 30 minutos do tratamento com OEVA 50 mg/kg em um volume de 20 µl/olho, a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizada.

3.5.8 Estudo do envolvimento do sistema adenosinérgico

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com um antagonista dopaminérgico Teofilina (5 mg/kg, *i.p.*) e após 15 minutos receberam OEVA 50 mg/kg em um volume de 20 µl/olho, Ciclopentiladenosina (0,1 mg/kg *i.p.*) ou veículo. Decorridos 30 min a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente

3.5.9 Estudo do envolvimento do sistema K^+_{ATP}

Camundongos (n=8) foram pré-tratados com um antagonista dos canais K^+_{ATP} Glibenclamida (2 mg/kg, *i.p.*) e após 15 minutos receberam OEVA 50 mg/kg em um volume de 20 µl/olho, Diazóxido (10 mg/kg *i.p.*) ou veículo. Decorridos 30 min a nocicepção corneal foi induzida pela administração de 40 µL de NaCL 5M. O número de limpezas no olho foi contabilizado como anteriormente.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), os quais estão dispostos como médias aritméticas, acompanhadas de seus respectivos limites de confiança em nível de 95%. Utilizou-se o software Graph Pad Prism versão 6.0. A significância estatística dos diferentes grupos foi determinada por ANOVA de uma via, seguido pelo teste de Newman-Keuls, sendo considerada diferença significativa quando $*p < 0,05$.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 ANÁLISE QUÍMICA DO ÓLEO

TABELA 01: Composição química (%) do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker.

Componente	RT (min)	(%)
<i>o</i> -methyl eugenol	18.5	1.6
bisabolol oxide	24.9	0.5
α -bisabolol	25.5	97.9

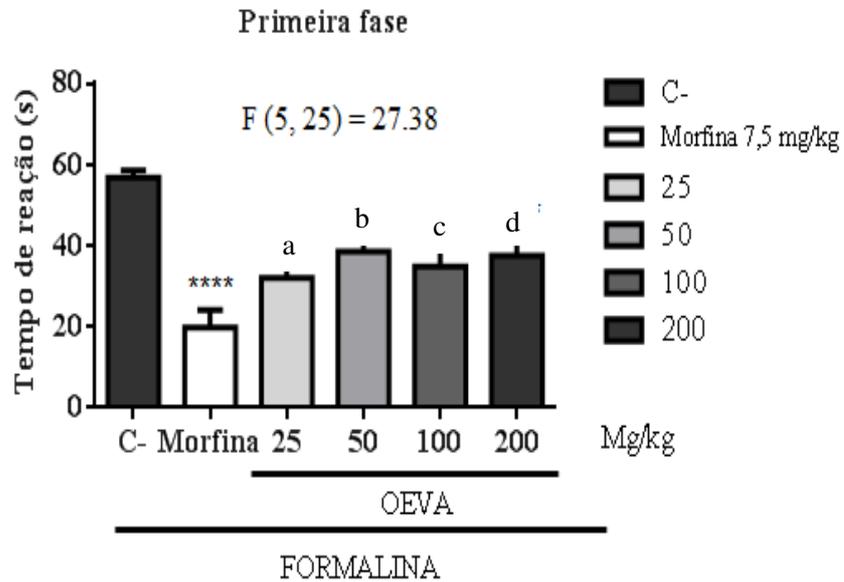
RT: Tempo de retenção (min)

4.2 NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA

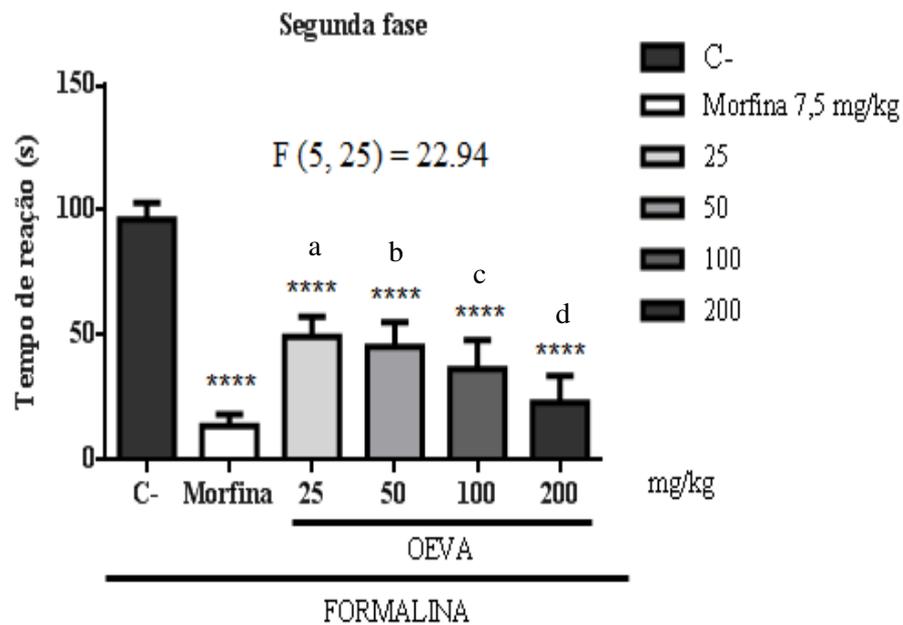
Na primeira fase (figura 12), OEVA em todas as doses (25, 50, 100 ou 200 mg/kg v.o; 32,00±6,27; 38,50±4,23; 34,83±5,81 e 37,50±4,08, respectivamente) e a morfina (19,83±4,33) reduziram significativamente ($p < 0,0001$) o número de lambidas em relação ao grupo controle (57,67±1,89). Não houve diferença estatística entre os grupos tratados com o OEVA e a morfina. Na segunda fase (figura 13) em todas as doses (25, 50, 100 e 200 mg/kg v.o - 49,33±7,960; 45,50±9,780; 36,50±11,432; 23,17±10,518, respectivamente) e a morfina (13,83±4,564) reduziram significativamente ($p < 0,0001$) o número de lambidas em relação ao grupo controle (96,17±6,95). Não houve diferença estatística entre os grupos tratados com o OEVA e a morfina.

Esses dados mostram que para esse modelo de tratamento por via sistêmica, o OEVA foi efetivo nas duas fases de dor induzida por formalina, havendo diferença mais significativa na segunda fase, a qual é induzida por mediadores inflamatórios. Como mostram os gráficos 12 e 13.

12)



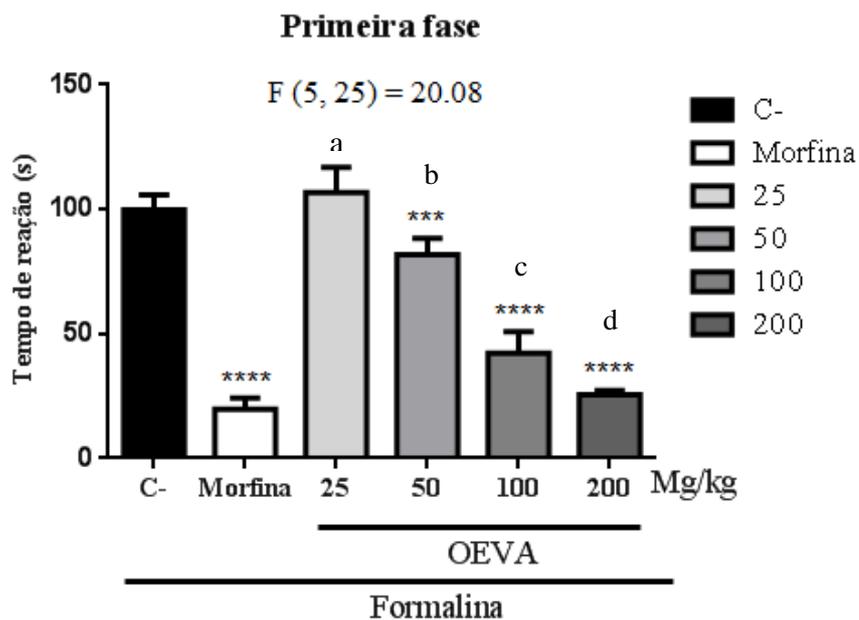
13)



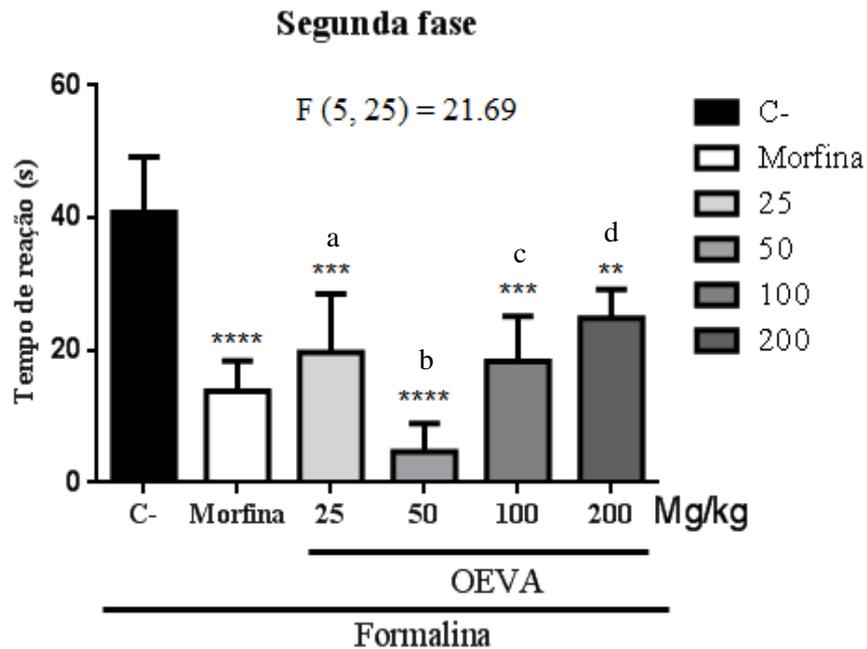
FIGURAS 12 e 13: Efeito do OEVA sobre a 1ª - (01) e 2ª - (02) fases da nocicepção induzida por formalina a 2,5%. **** $p < 0,0001$ vs Controle. ANOVA e teste de Student–Newman–Keuls).

Na primeira fase (figura 14) o OEVA nas doses (50, 100 e 200 mg/kg v.o; $81,83 \pm 6,534$; $42,17 \pm 8,639$; $26,75 \pm 2,520$, respectivamente) e a morfina ($19,83 \pm 4,331$) reduziram significativamente ($p < 0,0001$) o número de lambidas em relação ao grupo controle ($99,63 \pm 5,958$). Na segunda fase (Figura 15) o OEVA nas doses (25, 50, 100 e 200 mg/kg v.o; $19,67 \pm 8,834$; $4,667 \pm 4,279$; $18,33 \pm 6,835$; $24,83 \pm 4,362$, respectivamente) e a morfina ($13,83 \pm 4,564$) reduziram significativamente ($p < 0,0001$) o número de lambidas em relação ao grupo controle ($41,75 \pm 8,077$). Houve diferença estatística entre os grupos tratados com o óleo e a morfina na primeira fase do teste, no entanto, não houve diferença entre os mesmos na segunda fase.

14)



15)



FIGURAS 14 e 15: Efeito do OEVA no tratamento tópico para nocicepção induzida por formalina a 2,5%. Os gráficos mostrando as duas fases estão representados pelos números 01 e 02, primeira e segunda fase respectivamente. Os valores representam a média \pm E. P. M, quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls). Para a primeira fase, o óleo mostrou uma característica dose-dependente, uma vez que o grupo a vs controle não mostrou atividade, e o grupo d vs morfina mostrou-se estatisticamente significativo ($p < 0,0001$). Houve ainda diferença entre o grupo b vs c ($p < 0,0001$); c vs d ($p < 0,0001$). Reafirmando a dose dependência para a primeira fase. Já na segunda fase, não houve uma característica dose dependente, uma vez que o grupo b vs o controle foi o mais significativo ($p < 0,0001$), apresentando uma atividade tópica melhor quando comparado a morfina. Houve diferença entre os grupos b vs a; b vs c; b vs d. Demonstrando com isso que para segunda fase, não houve característica dose dependente.

4.3 TESTE DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR CAPSAICINA

No modelo de nocicepção induzida por capsaicina (figura 16) o OEVA nas doses (25, 50, 100 e 200 mg/kg v.o: $22,75 \pm 3,483$; $15,25 \pm 0,881$; $6,375 \pm 1,438$; $21,38 \pm 3,289$) e a morfina ($3,875 \pm 2,401$) reduziram significativamente ($p < 0,0001$) o número de lambidas em relação ao controle ($45,17 \pm 5,250$). Não houve diferença significativa entre os grupos tratados com a morfina e o óleo.

A capsaicina produziu dor até os 5 minutos (manifestado através do ato de licking-time), formação de edema, área avermelhada e aumento do estado de excitabilidade até os três minutos. Após esse tempo, por volta de quatro minutos os animais manifestam característica de diminuição da locomoção, como se estivessem sedados.

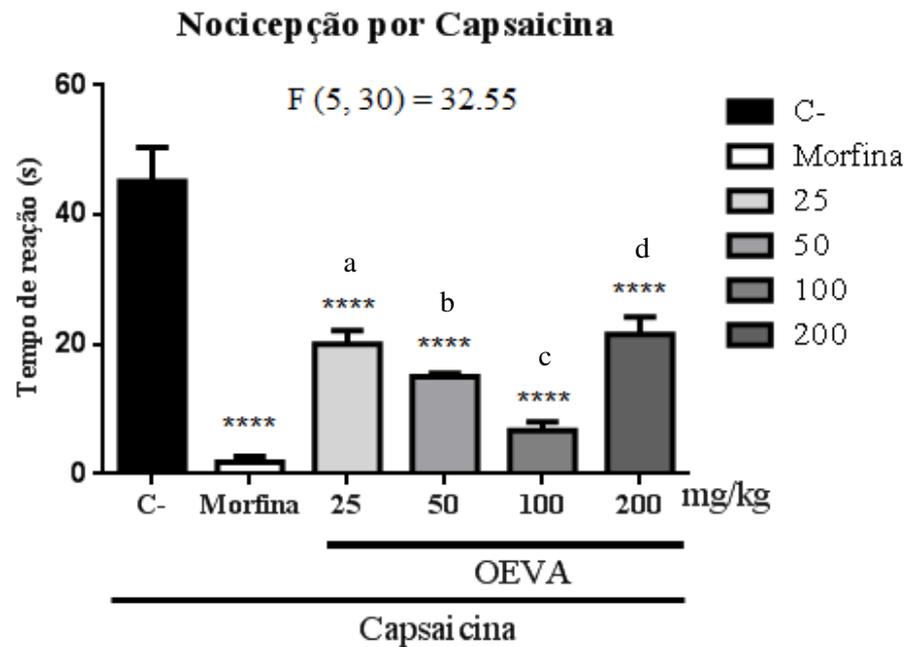


FIGURA 16: Efeito do OEVA no tratamento da nociceção induzida por capsaicina a 1,6 μ g. Os animais foram avaliados por 5 minutos os segundos que permaneciam lambendo a pata que foi administrada o estímulo nocivo. Os valores representam a média \pm E. P. M $p < 0,0001$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls). Para esse modelo o óleo não manifestou uma característica dose dependente, uma vez que o grupo c vs controle apresentou uma maior significância estatística. Não houve diferença significativa b vs c; mais entre c vs a; c vs d. Por fim, não houve diferença significativa entre o grupo morfina vs c.

4.4 TESTE DE NOCICEÇÃO INDUZIDA POR GLUTAMATO

No modelo de nociceção induzida por glutamato (figura 17) o OEVA nas doses (25, 50, 100 e 200 mg/kg v.o: 48,00 \pm 11,81; 30,67 \pm 6,427; 53,33 \pm 13,60; 52,00 \pm 9,688) não reduziram o número de lambidas em relação ao controle (43,83 \pm 6,498) já a morfina (19,56 \pm 4,198) reduziu significativamente ($p < 0,0001$) o número de lambidas em relação ao controle (43,83 \pm 6,498). Houve diferença significativa entre os grupos tratados com a morfina e o óleo. Demonstrando com isso que o óleo não apresentou caráter antinociceptivo para esse modelo.

Após injeção de glutamato na pata traseira, percebeu-se leve rubor na pata injetada, imediata ativação dos nociceptores, sendo esse fato percebido pelo ato de lickg-time dos animais. Após os 15 min de observação foi possível perceber que os grupos tratados com o OEVA em todas as doses testadas, não foram capazes de reverter a nociceção induzida pelo agente excitatório Glutamato.

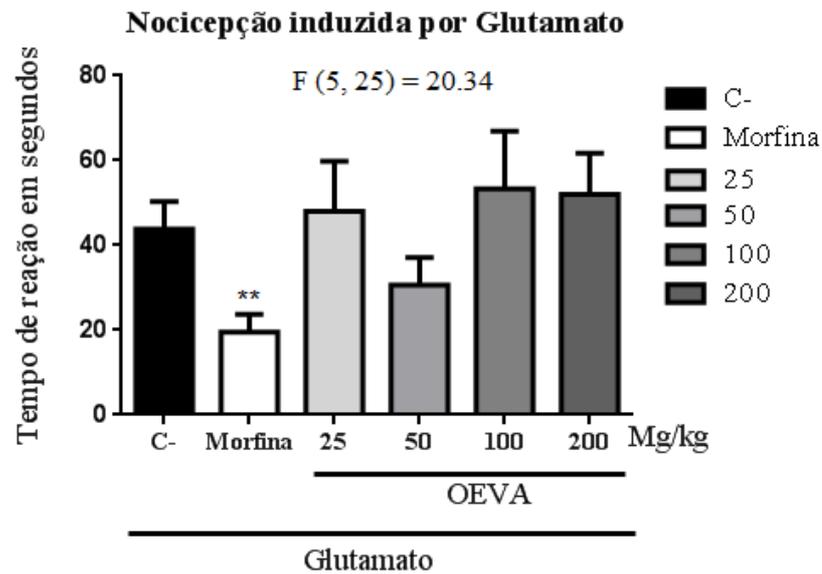


FIGURA 17: Efeito do OEVA no tratamento da nociceção induzida por glutamato a $20\mu\text{mol}$. Os animais foram avaliados por 15 minutos os segundos que permaneceram lambendo a pata em que foi administrado o estímulo nocivo. Os valores representam a média \pm E.P.M $p < 0,01$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

4.5 TESTE DE HOT-PLATE

No modelo de nociceção térmica pelo estímulo da placa quente (figura 18) o OEVA nas doses (50, 200 mg/kg v.o; $15,02 \pm 1,684$; $15,02 \pm 1,168$, respectivamente) e a morfina ($12,62 \pm 1,721$), reduziram significativamente ($p < 0,001$) o número de lambidas em relação ao controle ($14,96 \pm 1,211$). Houve diferença significativa entre os grupos tratados com a morfina e o óleo.

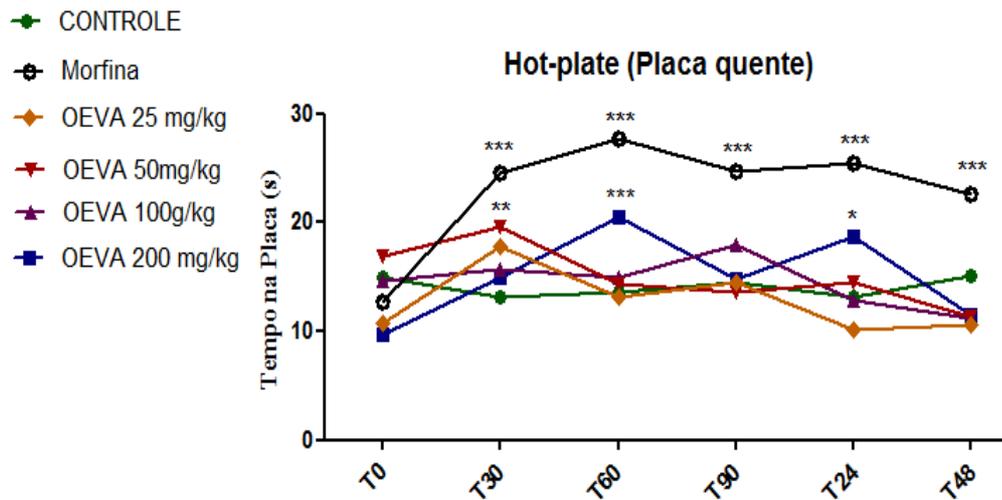


FIGURA 18: Efeito do OEVA no aumento da latência dos animais quando submetidos ao estímulo térmico pelo modelo de placa quente. Os parâmetros avaliados foram o tempo de latência para manifestação de comportamento de saltar, lamber a pata ou sapatear (movimentos estereotipados). Os valores representam a média \pm E. P. M $p < 0,001$; $p < 0,01$; $p < 0,05$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

4.6 TESTE DA GOTA DE ACETONA (ALODÍNIA)

No modelo de alodínia por acetona os animais tratados com OEVA (25, 50, 100 e 200 mg/kg v.o - $52,00 \pm 5,837$; $75,17 \pm 3,371$; $42,00 \pm 6,325$ e $49,67 \pm 4,752$) e a morfina ($36,50 \pm 4,808$) reduziram significativamente ($p < 0,001$) o número de comportamentos supraliminares em comparação ao controle ($91,00 \pm 4,219$). Os grupos tratados com as duas maiores doses (100 e 200 mg/kg) não mostraram diferença significativa em relação a morfina. Já as menores doses (50 e 25 mg/kg) apresentaram diferença estatística quando comparado ao grupo tratado com a morfina.

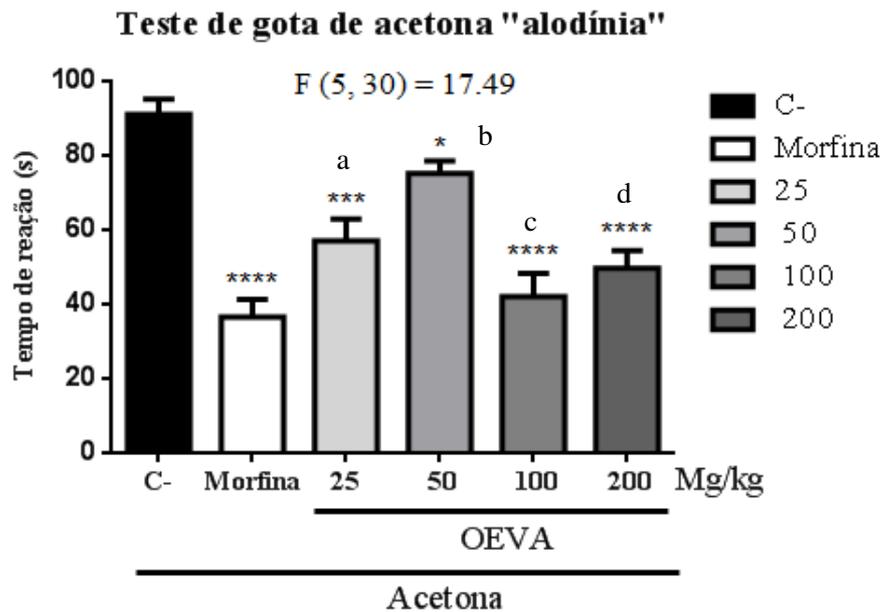


FIGURA 19: Estudo da ação de *Vanillosmopsis arborea* no modelo de alodínia pelo teste de “Gota de acetona”, induzida por acetona camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de “flick stamp” observados por 15 minutos. O teste não apresentou característica dose dependente, visto que o grupo a vs b $p < 0,001$ mostrou-se mais significativo, enquanto c e d não apresentaram diferença estatística significativa $p < 0,0001$, todos vs Controle. Entre a,c,d vs morfina não houve diferença significativa mais entre b vs morfina houve diferença. Para as análise foi utilizado ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls.

4.7 NOCICEPÇÃO OCULAR INDUZIDA POR NaCl - EYE WPING TEST

No modelo de dor corneal induzida por NaCl, os grupos tratados com o óleo nas doses (25, 50, 100 e 200 mg/kg - tópico/olho $15,33 \pm 0,918$; $16,67 \pm 0,843$; $16,67 \pm 0,666$; $14,33 \pm 0,614$) e a morfina 7,5 mg/kg ($12,17 \pm 0,833$), apresentaram uma redução no comportamento nociceptivo expressos quando comparados ao controle negativo ($0,15$ M $20,33 \pm 0,666$). As concentrações (50 e 100 mg/kg) apresentaram diferença significativa comparado ao grupo controle. Já as concentrações (25 e 200 mg/kg) não apresentaram diferença significativa quando comparadas ao controle positivo morfina.

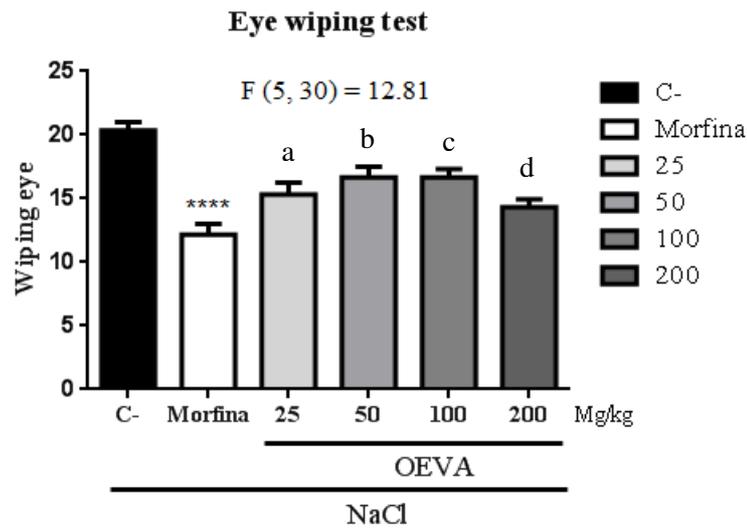


FIGURA 20: Estudo da ação de *Vanillosmopsis arborea* no modelo de dor ocular “Eye wiping test”, induzida por NaCl 5M em camundongos. Os valores representam a média ± E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos após administração do NaCl no olho direito do animal. Não houve diferença significativa entre os grupos, a morfina apresentou diferença significativa apenas entre os grupos b e c, $p < 0,001$. (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls).

4.8 PRURIDO INDUZIDO POR HISTAMINA

No modelo apresentado, os grupos tratados com OEVA (25 e 200 mg/kg - $56,00 \pm 8,037$; $43,50 \pm 11,152$, respectivamente) e o antihistamínico (maleato dedexclorfeniramina - $29,33 \pm 1,667$) foram significativos ($p < 0,001$) na redução do número de acesso a coceira manifestados pelos camundongos quando comparados ao controle negativo ($45,17 \pm 5,250$).

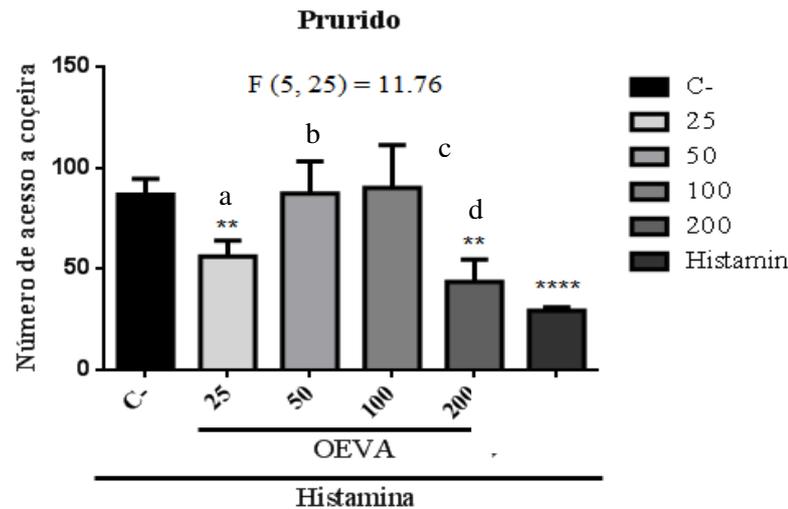


FIGURA 21: Estudo da ação de *Vanillosmopsis arborea* no modelo de prurido induzida por Histamina em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de coçar o dorso pelo período de 1 hora após administração do agente pruriginoso. O teste mostrou uma característica concentração dependente, uma vez que os grupos a,d vs controle foram os únicos capazes de reverter o comportamento pruritoceptivo dos animais com um grau de significância $p < 0,001$ e $p < 0,05$ vs morfina (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls).

4.9 Mecanismo de ação antinociceptiva do OEVA

4.9.1 Papel dos receptores adrenérgico $\alpha 1$ sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado na figura 22 mostra que o pré-tratamento dos animais com OEVA 50 mg/kg promoveu uma inibição significativa ($p < 0,01$) do comportamento nociceptivo expressos – $8,333 \pm 1,054$, quando comparados ao grupo controle ($14,17 \pm 0,703$). O pré-tratamento com Prazosina (0,15 mg/kg *i.p*) conseguiu reduzir o comportamento antinociceptivo do OEVA. Esse fato, ainda que apenas de forma estatisticamente significante, pode nos levar a uma possível via de ação antinociceptiva do óleo, frente à dor corneal pelo NaCl.

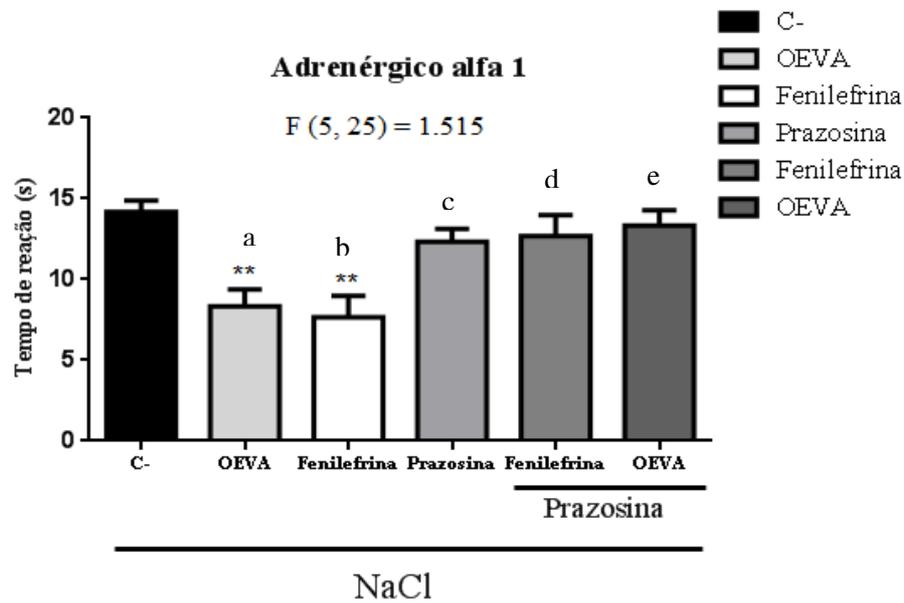


FIGURA 22: Papel dos receptores adrenérgico $\alpha 1$ no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema adrenérgico $\alpha 1$ foi avaliado pela administração de Prazosina (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls). Houve diferença entre os grupos: a vs e; b vs d. Demonstrando com isso, a possível participação dos receptores adrenérgico na ação do OEVA.

4.9.2 Papel dos receptores adrenérgico $\alpha 2$ sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado na figura 22 mostra que o pré-tratamento dos animais com OEVA 50 mg/kg promoveu uma inibição significativa ($p < 0,01$) do comportamento nociceptivo expressos - $12,29 \pm 0,778$, quando comparados ao grupo controle ($16,14 \pm 1,122$). O pré-tratamento com Ioimbina (2 mg/kg *i.p*) concomitante com OEVA não conseguiu reverter a ação antinociceptiva do óleo, mostrando com isso que possivelmente este não está agindo através do mecanismo adrenérgico $\alpha 2$.

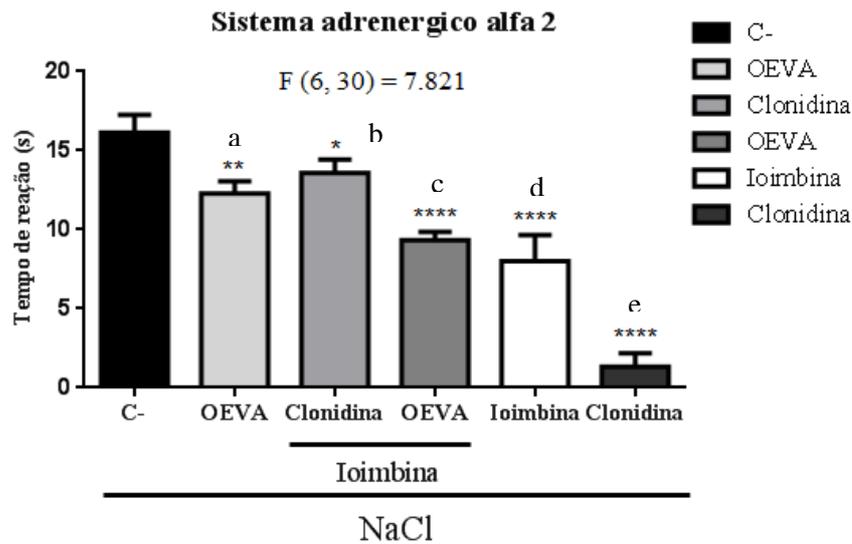


FIGURA 23: Papel dos receptores adrenérgico $\alpha 2$ no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema adrenérgico $\alpha 2$ foi avaliado pela administração de Ioimbina concomitante a administração do OEVA (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls). Os grupos a vs c; b vs e; apresentaram uma diferença, que pode ser relacionada a participação do óleo nessa via, no entanto, o OEVA não está influenciando diretamente o receptor $\alpha 2$.

4.9.3 Papel dos receptores colinérgico sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado na figura 23 mostra que o pré-tratamento dos animais com OEVA 50 mg/kg promoveu uma inibição significativa ($p < 0,001$) do comportamento nociceptivo expressos - $11,83 \pm 0,749$, quando comparados ao grupo controle ($17,00 \pm 0,856$). A pré administração de atropina ($0,1$ mg/kg *i.p*) conseguiu reverter a ação antinociceptiva do OEVA, podendo inferir que a ação deste pode provavelmente está envolvida na via colinérgico-muscarínico.

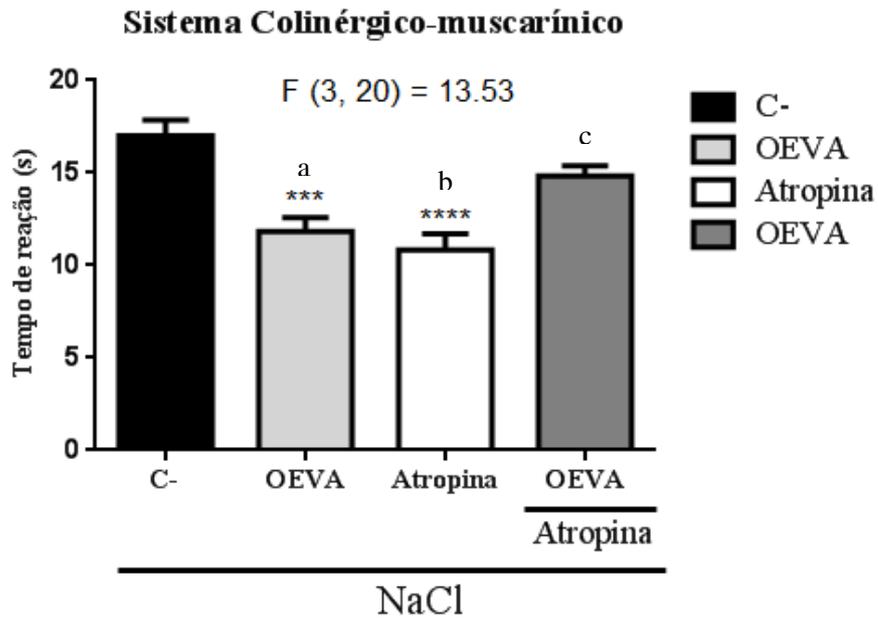


FIGURA 24: Papel dos receptores colinérgico-muscarínico no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema colinérgico muscarínico foi avaliado pela administração de Atropina (ANOVA – uma via, seguido por teste deNewman Keuls). Os grupos a vs c, apresentam uma diferença estatística, podendo remeter a um possível envolvimento do sistema colinérgico para o mecanismo antinociceptivo do óleo.

4.9.4 Papel dos receptores nitérgico sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado na figura 24 mostra que o pré-tratamento dos animais com OEVA 50 mg/kg promoveu uma inibição significativa ($p < 0,0001$) do comportamento nociceptivo expressos - $11,25 \pm 0,670$, quando comparados ao grupo controle ($19,00 \pm 0,577$). O pré-tratamento com L-name 30 min após OEVA não conseguiu reverter a ação antinociceptiva do óleo, mostrando com isso que possivelmente a ação antinociceptiva do óleo não é através do mecanismo nitérgico.

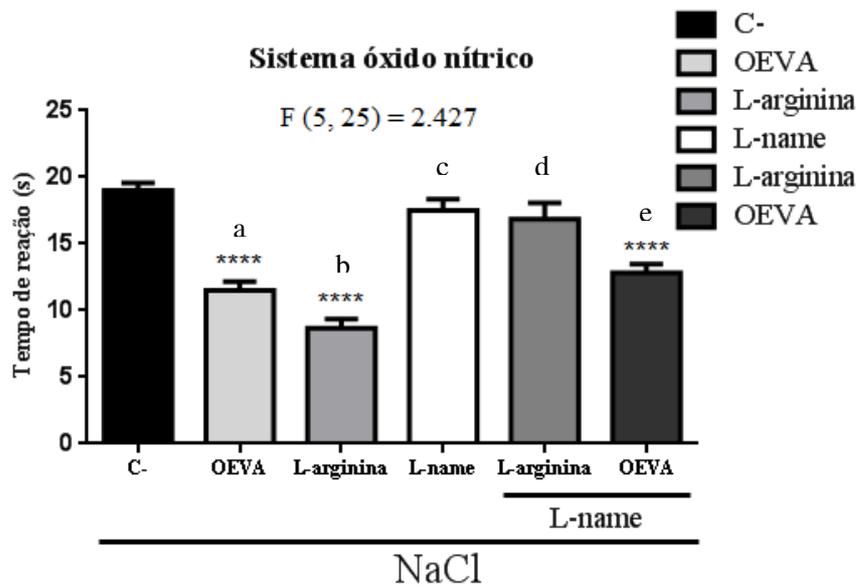


FIGURA 25: Papel dos receptores nitérgico no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema nitérgico foi avaliado pela administração de L-name (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls). Os grupos a vs e não demonstram uma diferença estatística significativa, enquanto os grupos b vs d apresentam essa diferença, mostrando com isso, que o óleo não deve está agindo frente a essa via.

4.9.5 Papel dos receptores opióides sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado no gráfico 25 mostram que o pré-tratamento dos animais com OEVA (50 mg/kg) promoveu uma inibição significativa ($p < 0,0001$) do comportamento nociceptivo expresso ($13,17 \pm 0,792$) quando comparados ao grupo controle ($20,00 \pm 0,683$). O pré-tratamento com naloxona (2mg/kg *i.p*) reverteu à ação antinociceptiva causada pela administração da morfina (7,5mg/kg *s.c*); No entanto, o tratamento com a naloxona não interferiu com a antinocicepção causada pelo OEVA quando analisados em relação a diminuição dos parâmetros nociceptivos induzidos pela administração corneal de NaCl. Não houve participação do sistema opióide neste modelo, visto que a naloxona não foi capaz de reverter a ação do OEVA na concentração de 50 mg/kg.

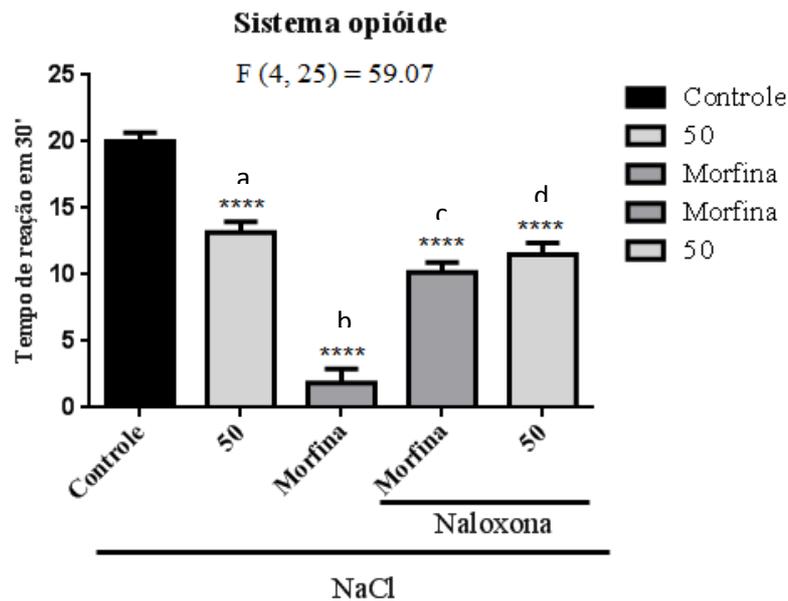


FIGURA 26: Estudo do Papel dos receptores opióides no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nociceção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de nociceção corneal pelo período de 30 segundos e avaliados pelo ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls. O envolvimento do sistema opióide foi avaliado pela administração de Naloxona. Houve diferença significativa entre os grupos b vs c, mostrando a que a naloxona reduziu a ação da morfina. No entanto, os grupos a vs d não apresentaram diferença estatística, demonstrando com isso a não interferência da naloxona portanto, a não participação do sistema opióide na ação antinociceptiva do OEVA.

4.9.6 Papel dos receptores TRPV1 sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nociceção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O envolvimento dos receptores TRPV1 foi avaliado pela pré-administração de vermelho de rutênio (3 mg/kg s.c). Verificou-se que o vermelho de rutênio, um antagonista não-competitivo da capsaicina, quando administrado isoladamente, foi capaz de reduzir de forma significativa ($p < 0,01$ – $5,833 \pm 2,330$) o comportamento nociceptivo em relação ao grupo controle ($12,50 \pm 0,670$), assim como o grupo OEVA 50 mg/kg ($p < 0,05$ – $8,333 \pm 1,054$). Contudo, quando o OEVA foi administrado em associação ao vermelho de rutênio, houve uma potencialização da atividade antinociceptiva deste, indicando um não envolvimento do mecanismo de ação do OEVA sobre os receptores vanilóides ($p < 0,01$ - $5,167 \pm 0,307$).

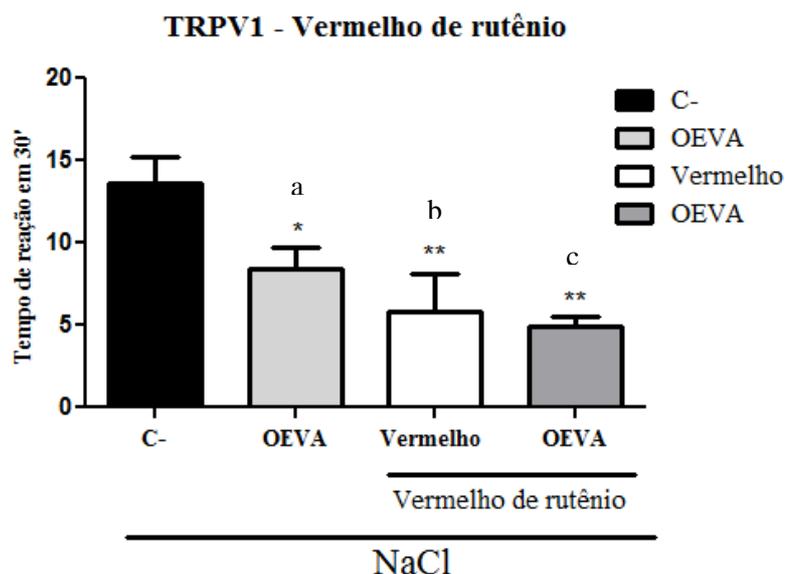


FIGURA 27: Papel dos receptores TRPV1 no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls), do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema TRPV1 foi avaliado pela administração de vermelho de rutênio concomitante a administração do OEVA. Houve diferença significativa entre os grupos a vs c, mostrando que a ação pode envolver os receptores TRPV1, no entanto, o mecanismo de ação não acontece por essa via, uma vez que o grupo b vs c, não houve diferença significativa.

4.9.7 Papel dos receptores TRPV1 sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O envolvimento dos receptores TRPV1 foi avaliado pela pré-administração de capsazepina (5 mg/kg). Verificou-se que a capsazepina quando administrado isoladamente, foi capaz de reverter o comportamento nociceptivo dos animais frente ao estímulo nocivo ($p < 0,001$ - $10,67 \pm 0,760$); já sua associação ao óleo, foi capaz de reverter o efeito antinociceptivo deste último. Uma vez que o óleo administrado sozinho, demonstrou um nível de significância ($p < 0,001$ - $11,00 \pm 0,5774$), e o mesmo em associação ao antagonista capsazepina não apresentou percentual de inibição significativo. Dados que podem sugerir uma possível via de ação antinociceptiva.

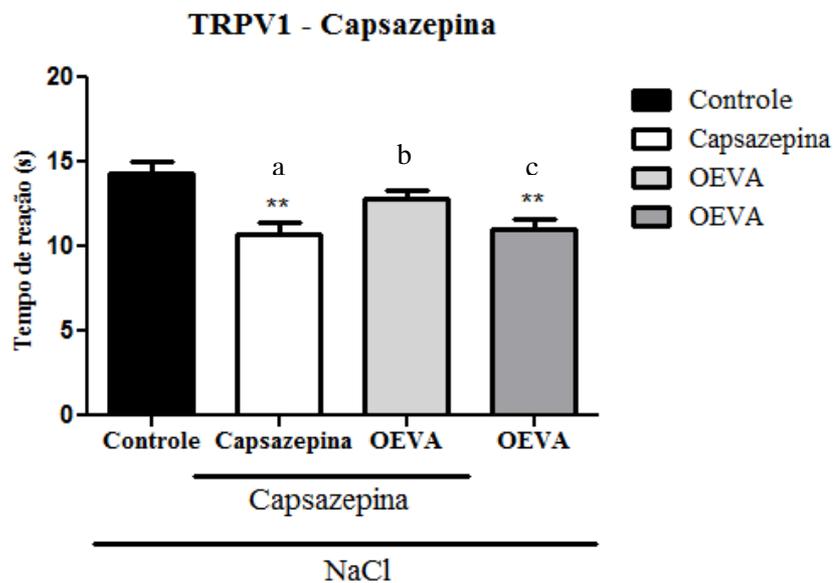


FIGURA 28: Papel dos receptores TRPV1 no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema TRPV1 foi avaliado pela administração de capsazepina (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls). A participação do sistema TRPV1 na atividade antinociceptiva do OEVA pode ser vista no gráfico acima, pois, b vs c apresentam uma diferença estatística significativa, mostrando o envolvimento nessa via.

4.9.8 Papel dos receptores serotoninérgico 5HT₃ sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado na figura 28 mostra que o pré-tratamento dos animais com OEVA 50 mg/kg promoveu uma inibição significativa ($p < 0,001$) do comportamento nociceptivo expressos – $8.333 \pm 1,054$, quando comparados ao grupo controle ($12,50 \pm 0,670$). O pré-tratamento com Ondasetrona (0,5 mg/kg *i.p*) conseguiu reverter o comportamento antinociceptivo de OEVA, quando administrados em conjunto. Esses dados sugerem uma possível via de ação nociceptiva serotoninérgica.

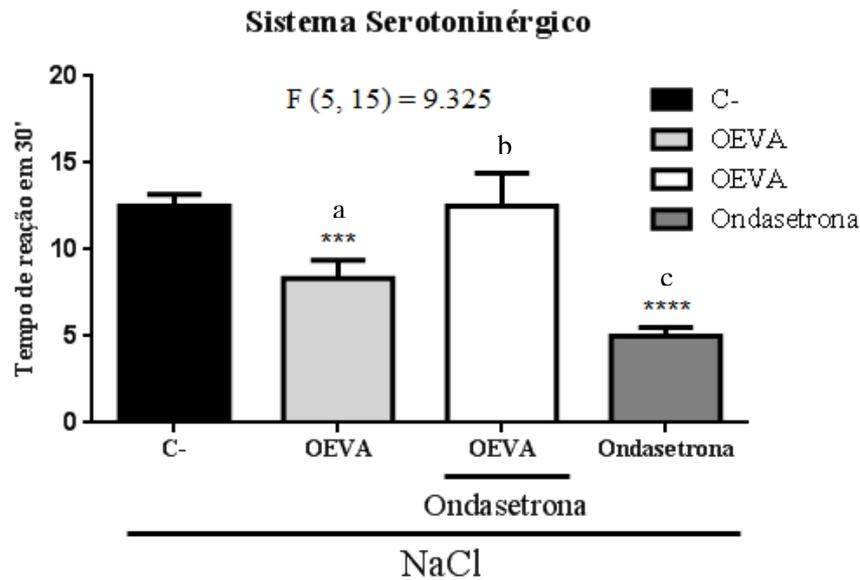


FIGURA 29: Papel dos receptores serotoninérgico 5HT₃ no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média ± E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema serotoninérgico foi avaliado pela administração de ondasetrona (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls. A participação do sistema serotoninérgico na atividade antinociceptiva do OEVA pode ser vista no gráfico acima, pois, a vs b apresentam uma diferença estatística significativa, mostrando o envolvimento nessa via.

4.9.9 Influência do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* na síntese e liberação de 5HT em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

A participação do OEVA na síntese e liberação de serotonina foi avaliado pela administração de quatro dias consecutivos de PCPA e tendo como grupo teste a administração do óleo pelos mesmos quatro dias, bem como um grupo comparativo através da administração de salina. Foi possível verificar que o PCPA quando administrado isoladamente, promoveu uma redução significativa ($p < 0,05$ - $9,12 \pm 0,833$) do comportamento nociceptivo expresso pelos animais. Já o mesmo inibidor da síntese de 5HT quando associado ao óleo, foi capaz de reverter a ação do óleo significativamente ($p < 0,001$ - $14,13 \pm 0,350$). Mostrando com isso, e intensificando os resultados do experimento anterior, que a ação antinociceptiva do óleo, sofre influencia de mecanismo serotoninérgicos.

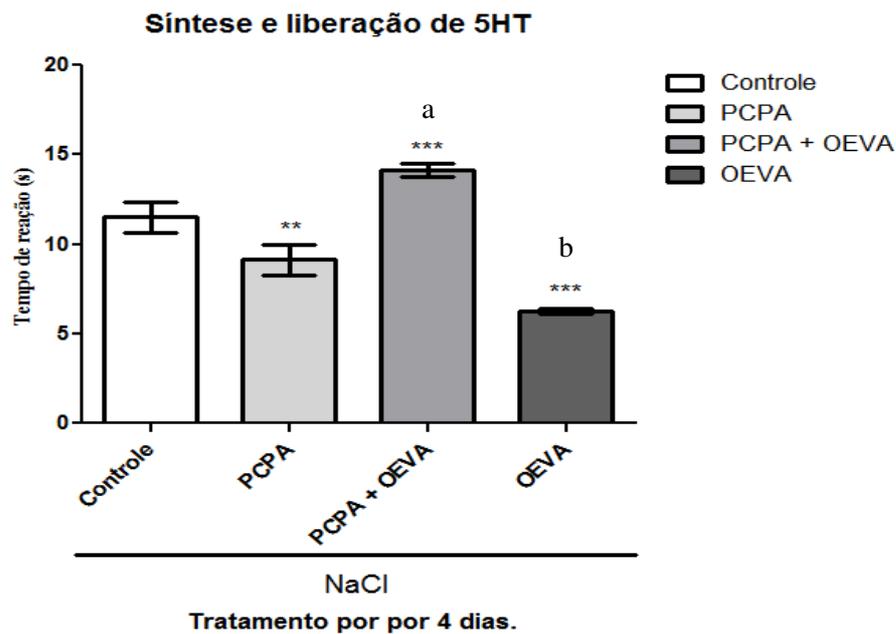


FIGURA 30: Papel do inibidor da síntese de serotonina sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema serotoninérgico foi avaliado pela administração de PCPA por quatro dias (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls). A participação do sistema serotoninérgico na atividade antinociceptiva do OEVA pode ser vista no gráfico acima, pois, a vs b apresentam uma diferença estatística significativa $p < 0,001$, mostrando o envolvimento nessa via.

4.9.10 Papel dos receptores adenosinérgico sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado pela figura 31 mostra que o pré-tratamento dos animais com OEVA 50 mg/kg promoveu uma inibição significativa ($p < 0,0001$) do comportamento nociceptivo expressos - $10,33 \pm 0,557$, quando comparados ao grupo controle ($17,00 \pm 0,856$). A pré administração de Teofilina (5 mg/kg *i.p*) não foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do OEVA, do contrário houve uma potencialização deste quando em associação com o antagonista adenosinérgico. Podendo inferir a não relação da atividade antinociceptiva do óleo com o sistema adenosinérgico.

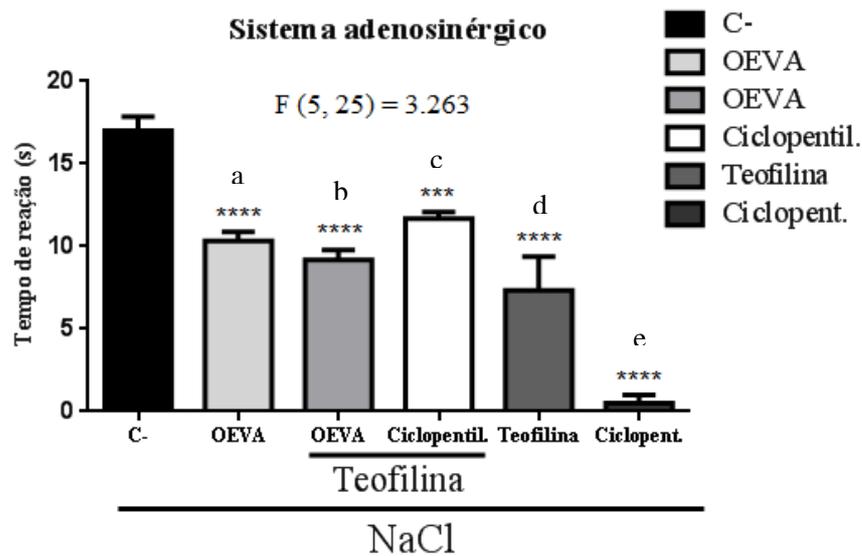


FIGURA 31: Papel dos receptores adenosinérgico no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls). A partir do gráfico mostrado, não há participação do sistema adenosinérgico na ação antinociceptiva do OEVA, uma vez que os grupos a vs b não apresentaram diferença e os grupos c vs e mostraram diferença estatística.

4.9.11 Papel dos receptores K^+_{ATP} sobre o efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos

O resultado apresentado na figura 32 mostra que o pré-tratamento dos animais com OEVA 50 mg/kg promoveu uma inibição significativa ($p < 0,001$) do comportamento nociceptivo expressos - $11,83 \pm 0,749$, quando comparados ao grupo controle ($17,00 \pm 0,856$). A pré administração de glibenclamida (2 mg/kg *i.p*) não foi efetiva na inibição do potencial antinociceptivo do OEVA. Mostrando com isso, que a ação do óleo não é dependente do sistema K + ATP.

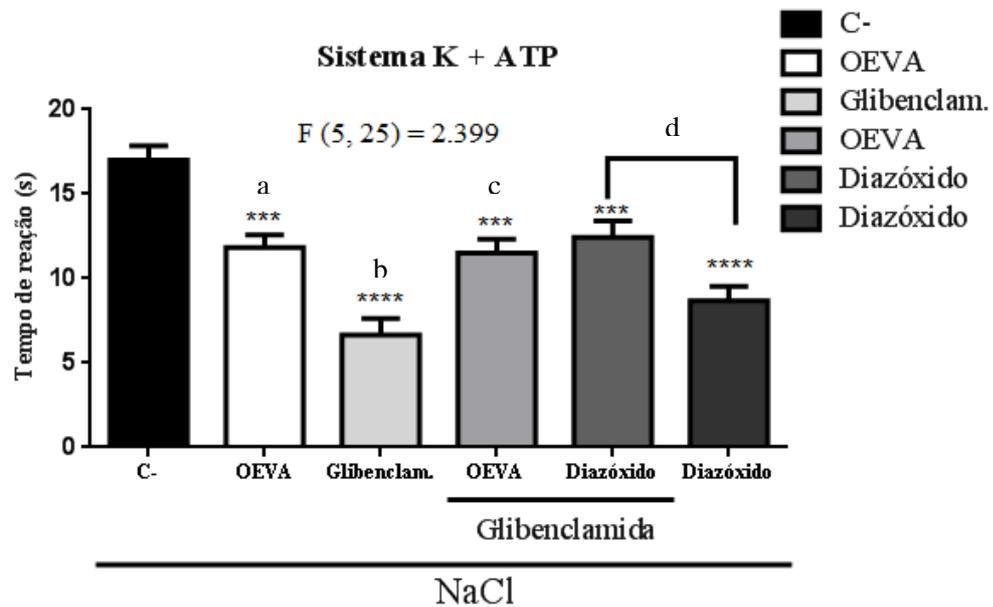


FIGURA 32: Papel dos receptores K + ATP no efeito antinociceptivo do óleo essencial em modelos de nocicepção corneal induzidos por NaCl em camundongos. Os valores representam a média \pm E. P. M do tempo, em segundos, de expressão do comportamento de esfregar o olho pelo período de 30 segundos. O envolvimento do sistema K + ATP foi avaliado pela administração de Glibenclamide (ANOVA – uma via, seguido por teste de Newman Keuls). A partir do gráfico mostrado, não há participação do sistema K + ATP, uma vez que os grupos a vs c foram estatisticamente diferentes. E o grupo d, que comparou o diazóxido quanto pré-tratado com glibenclamide e sem pré-tratamento apresentaram uma diferença significativa entre si.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O controle da dor é uma das mais importantes prioridades terapêuticas. Sob condições normais, esta se associa à atividade de impulsos aferentes primários de pequeno diâmetro (C e A) dos nervos periféricos que são ativados por vários estímulos (térmicos, mecânicos ou químicos). Como muitas afecções patológicas, a lesão tecidual é a causa imediata da dor e resulta em liberação local de uma variedade de substâncias químicas que atuam sobre as terminações nervosas, seja ativando-as diretamente, ou potencializando sua sensibilidade a outra forma de estimulação (RANG *et al.*, 2004).

Leite *et al* 2011, demonstraram previamente, a atividade antinociceptiva visceral e antiinflamatória tópica do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* (OEVA). Dessa forma, essa pesquisa representa uma continuidade na busca de uma maior compreensão sobre as utilidades terapêuticas desse óleo, bem como seu(s) mecanismo(s) de ação. Cabe ainda levar em conta, que o óleo é uma mistura de compostos, no entanto a atividade apresentada por este, pode ser associada ao seu componente majoritário, o α -bisabolol.

No estudo apresentado por Santos *et al*, 2009, foi calculada a DL₅₀ do OEVA, correspondente a 7,1g/kg. A partir desses dados, a dose máxima utilizada foi de 200 mg/kg. A administração do óleo, em todas as doses e condições avaliadas, não resultou em morte dos animais testados.

A morfina, analgésico de ação central, foi o fármaco padrão de escolha para os testes de atividade antinociceptiva. O local de ação preferencial dessa droga, que se liga aos receptores opióides, é o SNC e as terminações periféricas aferentes primárias (GRIFFIN; WOOLF, 2009).

O teste de formalina é um modelo bifásico de comportamentos indicativos de dor (YANO *et al.*, 2006). No modelo, a hiperalgesia foi causada por estímulo químico (formalina 2,5%) levando a uma dor intensa acompanhada de lesão tecidual. Na primeira fase do teste (0-5') há liberação de vários mediadores químicos, como a substância P, o glutamato e a bradicinina (dor neurogênica). Enquanto que na segunda fase (15-20'), os mediadores químicos detectados foram à histamina, serotonina, prostaglandinas e a bradicinina (fase inflamatória). Entre a primeira e segunda fase do teste, há um período de repouso chamado de "interfase" que ocorre devido a uma ativação de processos inibitórios não regulados por

mecanismos e que envolvem o GABA, já que agonistas GABA_A inibem a diminuição de manifestações de dor durante esse período (LIRA, 2001).

Drogas de ação central, inibem ambas as fases do teste, entretanto, drogas de ação periférica como os anti-inflamatórios somente são eficazes na segunda fase (SIKAND, 2011).

Os resultados obtidos neste teste sugerem que o OEVA apresenta ação antinociceptiva significativa tanto na fase neurogênica, como na fase inflamatória. No entanto, verificou-se que o OEVA apresentou efeito inibitório mais pronunciado na segunda fase do teste, sugerindo que o efeito antinociceptivo do óleo pode estar relacionado à ação de mediadores inflamatórios como a histamina, serotonina, prostaglandina e bradicina.

Um estudo demonstrado por Rocha *et al.*, 2011 que investigou ação antinociceptiva do α -bisabolol (componente majoritário do óleo) no modelo de formalina, mostrou que o α -bisabolol tem ação efetiva na segunda fase do teste de formalina, no entanto não reduziu o número de *licking*-time na primeira fase dos grupos tratados com o α -bisabolol nas doses de 25 e 50 mg/kg. Esses dados podem ser comparados aos nossos resultados, podendo inferir que a ação antinociceptiva do OEVA na segunda fase do teste de formalina pode estar relacionada à ação do α -bisabolol. No entanto, o óleo é uma mistura de compostos, estes podem estar agindo em sinergismo na primeira fase do modelo testado.

Procurando investigar ação antinociceptiva tópica do óleo, OEVA (200, 100, 50 e 25 mg/kg, em um volume de 20 μ l) foi aplicado diretamente na pata do animal e em seguida o estímulo nociceptivo (formalina). O OEVA tópico inibiu as duas fases do teste. Este é um resultado bastante relevante, uma vez que Leite *et al* (2011) demonstraram o efeito anti-inflamatório tópico do OEVA.

A pele sendo a interface com o meio externo, tem como papel principal, na manutenção e desenvolvimento de defesa. Isso desencadeia um processo inflamatório e até auto-imune mais evidente e conseqüente mais difícil de reparo (FIRESTEIN, 2004). O óleo em concentração mais diluída vai reverter o processo inflamatório, e na concentração maior, pode estar agindo diretamente em mediadores nociceptivos, agindo diretamente nas terminações nervosas livre no local de aplicação.

Nos trabalhos de Leite *et al.*, 2011, realizados com o óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e α -bisabolol foi demonstrado potencial anti-inflamatório tópico em modelos de edema de orelha descrito por vários agentes irritantes. O α -bisabolol, é usado na indústria

farmacêutica em produtos dermatológicos, e esse sesquiterpeno pode estar contribuindo para a ação antinociceptiva tópica do OEVA.

A capsaicina (8-metil-vanilil-6-nonenamida), substância álgica de ocorrência natural derivada de plantas da família Piperaceae, possui um importante papel no estudo das fibras sensoriais C e A δ aferentes incluindo os nociceptores polimodais e termoreceptores (PIETROVSKI *et al.*, 2006). Foi proposto que a nocicepção induzida pela capsaicina é conseguida através da ativação do receptor de capsaicina, também conhecido como receptor vanilóide (TRPV), denominado TRPV1, ligado a canais de cátions não-seletivos, presentes nos neurônios sensoriais primários (CATERINA *et al.*, 1997; SZALLASI, 1999). Diferentemente da formalina, a nocicepção induzida pela capsaicina possui apenas uma fase rápida (SAKURADA *et al.*, 1992).

O OEVA, em todas as doses testadas, reduziu significativamente os comportamentos nociceptivos induzidos pela capsaicina. Considerando que a nocicepção causada pela capsaicina é de origem neurogênica, estes achados sugerem que o OEVA exerce uma inibição significativa na dor dessa origem, reforçando os resultados encontrados na primeira fase do teste de formalina. E, possivelmente interage com os receptores TRPV1, uma vez que a interação com vermelho de rutênio potencializou a ação do OEVA.

Esses resultados mostram diferença do estudo realizado por Leite *et al.*, 2011, onde o OEVA não foi capaz de reduzir o edema de orelha induzido por capsaicina, e ainda sugeriu que este não estaria influenciando nas vias nociceptivas ativadas pela capsaicina. Pode-se inferir ainda, que o mecanismo de ação do óleo está relacionado aos receptores TRPV1, segundo o resultado exposto para o estudo dos possíveis mecanismos de ação. Essa diferença dos nossos resultados comparados aos de Leite *et al.*, 2011, podem ser justificados, pois o OEVA não tem uma ação tópica tão efetiva, como apresenta ação sistêmica, corroborando com os resultados para o teste de formalina tópico. Hipótese reforçada uma vez que no mesmo estudo apresentado, o OEVA foi efetivo na prevenção da nocicepção visceral induzida por capsaicina.

A estimulação de nociceptores causa liberação de glutamato, neurotransmissor excitatório das fibras aferentes primárias, que provoca potenciais sinápticos rápidos nos neurônios do corno dorsal da medula através da ativação de receptores ionotrópicos do tipo AMPA e NMDA. Agindo sobre os receptores do tipo AMPA, o glutamato é responsável pela transmissão rápida na primeira sinapse do corno dorsal; e quando se liga aos receptores do

tipo NMDA promove uma resposta mais lenta. Estes últimos são altamente permeáveis ao íon cálcio, de modo que sua ativação é particularmente eficaz para promover a entrada de cálcio (MILLAN, 2002). O glutamato despolariza neurônios sensitivos abrindo canais iônicos, gerando inflamação e hiperalgesia (TEIXEIRA, 2001).

A estimulação contínua e liberação sustentada de glutamato, junto com outros neurotransmissores, pode resultar no desenvolvimento de um estado de hipersensibilidade de neurônios nociceptivos, que se manifesta clinicamente como hiperalgesia e alodínia (BASBAUM, 2009; SCMIDTKO *et al.*, 2005).

Para o teste de nocicepção por glutamato, o OEVA não foi capaz de reverter a dor induzida por esse neurotransmissor. O glutamato apresenta papel relevante no processo de sensibilização do corno dorsal da medula espinhal, já que a estimulação das fibras aferentes primárias induz a liberação desses neurotransmissores e substância P (FERREIRA; DUARTE; LORENZETTI, 1991). O óleo não foi capaz de interferir na transmissão da resposta nociceptiva através das vias glutamatérgicas. Esse resultado vai de encontro a não participação da via óxido nítrico no mecanismo do óleo. Pois, o óxido nítrico influencia na liberação de glutamato, não sendo o óleo capaz de interferir numa via que tenha a participação desse neurotransmissor.

O teste da placa quente é sensível a drogas como a morfina e outras substâncias com ação no SNC. Teixeira (2001) afirma que as fibras que veiculam o calor são predominantemente não mielínicas e sensíveis ao calor discreto; mas, existem também subpopulações de fibras δ -delta que reagem seletivamente ao calor discreto e codificam a sensação de calor.

Observa-se que 46% das fibras amielínicas do Sistema Nervoso Periférico reagem à estimulação mecânica, térmica ou polimodal. A estimulação dos aferentes β -beta podem gerar sensações dolorosas quando há sensibilização central (TEIXEIRA, 2001).

Apesar dos dados apresentados no teste da placa quente, somente a dose mais alta do OEVA (200 mg/kg) apresentou efeito significativo. O resultado não foi tão significativo, podendo-se afirmar que o óleo tem uma ação central para o modelo proposto, no entanto, a semelhança com a morfina pode ser relacionada à ação periférica que é vista por esta quando relacionado ao receptor δ (delta). Este apresenta uma distribuição difusa, sendo mais

importantes na periferia, embora também possam contribuir para a analgesia (HAESELER *et al.*, 2002).

Rocha *et al.*, 2011 demonstraram que o α -bisabolol (25 e 50 mg/kg) não preveniu a nocicepção induzida pela placa quente. Portanto, a atividade antinociceptiva do OEVA no modelo descrito, não está relacionada a uma ação central, e o α -bisabolol pode não estar contribuindo para o aumento de latência dos animais ao estímulo térmico. Muito embora, o óleo pode aumentar o limiar de sensibilização dos nociceptores para o estímulo doloroso, sendo demonstrado nas doses de 50 e 200 mg/kg em pelo menos um dos tempos analisados.

Após investigação da atividade antinociceptiva frente a testes com características de dor inflamatória e dor central, buscou-se avaliar se o OEVA interfere na nocicepção através do estímulo do tipo alodínia. Foi feito o teste de sensibilização da pata, com uma gota de acetona. Esse estímulo embora não nocivo, ativa as terminações nervosas livres sensíveis ao frio. A capacidade do óleo, em todas as concentrações testadas, de aumentar o limiar nociceptivo a sensação de frio, mostrou evidências da sensibilização de estímulos supraliminares, que estão envolvidos nesse tipo de dor.

Deve-se ainda levar em consideração que o teste mostrou que o óleo não apresentou uma característica de dose-dependência. Os mediadores envolvidos nesse teste têm papel importante no desenvolvimento da resposta nociceptiva induzida por diferentes estímulos (CUNHA *et al.*, 2008). A inibição de sua síntese pode ser um dos mecanismos envolvidos no efeito antinociceptivo induzido pelo OEVA no modelo de alodínia.

Diferentemente de outros órgãos sensoriais, a córnea é derivada de uma porção que origina o resto do sistema nervoso central, com o qual mantém a conexão após migrar para a periferia (GRAW, 1996). Além disso, a organização sináptica da retina é similar àquela de outras regiões do cérebro, apresentando uma grande complexidade funcional dentro de uma aparente simplicidade estrutural (MASLAND & RAVIOLA, 2000).

A dor pode ser gerada por excesso, captada no núcleo sensorial trigeminal. A córnea tem papel importante na modulação da dor, por ser ramificada de axônios dos neurônios periféricos, é bastante inervada (TEIXEIRA, 1984).

O teste de nocicepção corneal teve como agente nocivo o NaCl 5M aplicado topicamente no olho dos animais. Essa concentração de soluto torna a região hipertônica, o que sensibiliza o núcleo trigeminal da face, enviando a informação diretamente ao SNC

captando o estímulo doloroso (FARAZIFARD *et al.*, 2005). Neste teste, o OEVA aplicado topicamente reduziu significativamente o comportamento nociceptivo, sugerindo que apresenta uma significativa atividade em modelo agudo de nocicepção corneal. O óleo, por ser lipossolúvel, atravessa a barreira hematoencefálica e a presença do α -bisabolol pode estar contribuindo para o efeito apresentado.

O teste de prurido induzido por histamina demonstra, ao que parece pela primeira vez, a ação atipruriginosa do OEVA. Em camundongos, o comportamento pruritoceptivo foi prevenido pelo tratamento do óleo nas doses de 25 e 200 mg/kg. Sendo os resultados semelhantes quando comparados ao controle tratado com um anti-histamínico padrão (maleato dexclorfeniramina). Segundo Dogrul *et al.*, 2001, os acessos de coceira causados pela histamina, apresentam um componente nociceptivo. Então, o óleo pode estar modulando o processo doloroso, e conseqüentemente reduzindo o prurido, já que as duas manifestações tem a mesma origem.

O efeito antinociceptivo do OEVA é mais evidente e mais pronunciado nos testes da formalina, capsacina, acetona e nocicepção corneal. O efeito antinociceptivo tópico e sistêmico pode estar relacionados ao alto teor de (-)- α -bisabolol encontrado no óleo, uma vez que foi descrito em Alves *et al.*, 2010 que esse composto é capaz de reduzir a excitabilidade neuronal de forma concentração dependente, no entanto, essa última característica de dose dependente, não foi observada para o óleo na maioria dos testes.

Com o estudo do mecanismo de ação, foi possível identificar em quais sistemas o óleo poderia estar interferindo para agir como potencial analgésico. Para elucidação destes foram utilizados vários antagonistas farmacológicos. Escolheu-se o teste de nocicepção corneal, pois este provê um válido modelo para avaliar dor clínica, e foi um dos testes que apresentou maior ação significativa para o OEVA.

Inicialmente foi avaliada a participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do OEVA. Como a naloxona (antagonista μ -opióide) não foi capaz de reverter à ação antinociceptiva do óleo, pode afirmar que não existe participação do OEVA nessa via. Este achado corrobora o estudo apresentado por Leite *et al.*, 2011, onde verificou-se a não participação do sistema opióide na ação antinociceptiva do óleo.

O vermelho de rutênio, um antagonista não-competitivo do receptor TRPV1 que atua mediante bloqueio do influxo de Ca^{2+} através do canal associado ao receptor, inibe a atividade

excitatória mediada pela capsaicina, além de inibir a liberação de estoques intracelulares de Ca^{2+} por bloquear receptores de rianodina (SZALLASI; BLUMBEG, 1999).

Estudos anteriores realizados por Leite *et al.*, 2011 identificaram o não envolvimento dos receptores TRPV1 na ação antinociceptiva do óleo. Apesar da existência de um estudo, procurou-se neste trabalho direcionar a investigação desse sistema, uma vez que as vias de indução de dor eram diferentes. Nosso estudo confirmou o envolvimento dos receptores TRPV1 na ação antinociceptiva do óleo, a partir da realização de dois modelos específicos. Verificou-se que o vermelho de rutênio, quando administrado isoladamente, foi capaz de reduzir de forma significativa ($p < 0,01$) o comportamento nocicetivo em relação ao grupo controle, assim como o grupo OEVA ($p < 0,01$). Contudo, quando o OEVA foi administrado em associação ao vermelho de rutênio, houve uma potencialização da atividade antinociceptiva deste, indicando um possível via de ação do OEVA sobre os receptores vanilóides, mais não pelo mesmo mecanismo do vermelho de rutênio.

A partir dos dados apresentados anteriormente, foi investigada outra via de ação envolvendo o receptor TRPV1. Foi possível concluir que o mecanismo de ação antinociceptivo que o OEVA pode estar sendo influenciado pelos receptores TRPV1, a partir do mesmo mecanismo de ação que a capsazepina. Esta droga atua mediante a ligação em receptor específico no canal, estimula seu fechamento e o bloqueio do influxo de cálcio, como demonstrado na figura. O óleo pode estar realizando o mesmo mecanismo de inibição da entrada de cálcio, por isso seu efeito em reduzir o limiar nociceptivo dos animais frente ao estímulo. Com esses dados, afirma-se que o OEVA, pode modular o canal TRPV1, de forma mais direta pelo mecanismo de fechamento dos canais à entrada de cálcio.

Verificou-se ainda a participação do sistema serotonérgico. A serotonina (5-HT) é liberada pelas plaquetas e pelos mastócitos durante a lesão tecidual e atua de modo variado nos neurônios sensitivos reduzindo o limiar dos aferentes primários aos estímulos nociceptivos (HOYER *et al.*, 2002).

A participação do mecanismo serotonérgico foi avaliado pela administração do antagonista do receptor 5-HT₃, ondasetrona (MOSS, 1990). O pré-tratamento com este antagonista inibiu a ação antinociceptiva do OEVA, podendo inferir uma possível via de ação do óleo. Este pode estar influenciando diretamente os mastócitos, e inibindo a liberação de histamina através da degranulação dessa células. Agindo dessa forma no início do processo

inflamatório. Esses resultados diferem de um estudo feito para o mesmo mecanismo em 2011 por LEITE, *et al.*

Como nesse estudo identificamos um resultado diferente de um estudo anterior, procuramos investigar mais profundamente a via serotoninérgica, através de um segundo antagonista visando estudar a interferência da síntese e liberação de serotonina para a atividade do OEVA. Como resultado, pode-se constatar que a ação antinociceptiva do óleo sofre influência do sistema serotoninérgico, ou pela mimetização da ação do neurotransmissor ou antagonizando o mesmo.

Os receptores adrenérgicos são divididos em diversos tipos e subtipos, os subtipos de adrenoreceptores envolvidos na dor dependem da espécie e de sua localização, o que faz com que algumas vezes os dados relativos à participação dos adrenoreceptores na nocicepção sejam aparentemente contraditórios (BIE *et al.*, 2003). Diversas evidências apontam a participação do sistema noradrenérgico na modulação da dor (PARADA, 2001). A injeção sistêmica de agonistas de adrenoreceptores α_1 atenuam a dor (TASKER *et al.*, 1992). Os adrenoreceptores α_1 excitatórios estão presentes em células primárias e secundárias do núcleo magno da rafe. Nas células secundárias, que facilitam a transmissão nociceptiva e são inibidos por analgésicos opióides. O bloqueio desses receptores reduz significativamente a hiperalgesia (BIE *et al.*, 2003).

A fim de avaliar o envolvimento do sistema noradrenérgico sobre o efeito antinociceptivo do OEVA, utilizou-se o pré-tratamento dos animais com antagonistas α_1 e α_2 . A prazosina (antagonistas α_1) preveniu o efeito antinociceptivo do OEVA, demonstrando uma possível participação destes receptores no efeito do OEVA. A ioimbina, antagonista α_2 , não interferiu no efeito antinociceptivo do OEVA. Esse resultado reafirma os dados encontrados para a participação do óleo na interferência dos canais de cálcio. Uma vez que o receptor α_1 atua mediante influxo de cálcio.

O óxido nítrico (NO), produzido a partir da L-arginina, é elemento de comunicação intercelular nos tecidos e no SNC; altera a atividade da guanilatociclase e a produção de 3,5 monofosfato cíclico de guanosina (cGMP). O ATP é liberado nos tecidos pelas células mortas, durante a isquemia tecidual, durante a despolarização celular. A liberação de ATP nos tecidos lesados atua nos neurônios sensitivos e nas células inflamatórias; especialmente os macrófagos que apresentam receptores para este neurotransmissor (TEIXEIRA, 2001).

A via L-arginina-NO está relacionada à ativação de receptores NMDA. Essa correlação com o glutamato pode estar contribuindo para a não participação do sistema nitérgico na ação antinociceptiva do óleo. Uma vez que, a pré-administração de L-NAME não reverteu à ação antinociceptiva do OEVA.

A atropina é um bloqueador não-seletivo de receptores colinérgicos muscarínicos e tem a capacidade de penetrar na barreira hematoencefálica. Esse antagonista preveniu o efeito antinociceptivo do OEVA, demonstrando a possível participação desse receptor na ação do óleo. Receptores colinérgicos muscarínicos são localizados no núcleo sensorial trigeminal. A córnea é usada para os estudos de nocicepção em sistema trigeminal (MENG *et al.*, 1997), uma vez que nela receptores nociceptivos têm uma grande representação no gânglio trigeminal através do ramo oftálmico (FELIPE *et al.*, 1999).

Curiosamente, a acetilcolina ativa alguns neurônios trigeminais sensoriais através de receptores muscarínicos M1 e ao inibir outras vias muscarínicas M2. No modelo testado, o NaCl ativa o núcleo sensorial trigeminal da face, pela administração no olho dos animais. O OEVA pode estar inibindo diretamente essa via, possivelmente através dos receptores M1.

A adenosina exerce um papel modulatório na resposta inflamatória e na transmissão dolorosa, portanto, a interferência desse processo pode ser um mecanismo para demonstrar atividade antinociceptiva de qualquer substância (MILLAN, 2002).

O pré-tratamento dos animais com um antagonista adenosinérgico teofilina não reverteu à ação antinociceptiva do OEVA, sugerindo que esse sistema não tem participação no mecanismo de ação do óleo provavelmente pelo receptor A1 e A2A, que são os receptores onde a teofilina age como antagonista.

O canais K^+_{ATP} têm uma relação com o processamento da dor, uma vez que a ativação destes causa uma diminuição do influxo de Ca^{2+} e conseqüente hiperpolarização celular, levando a diminuição da liberação de neurotransmissores e diminuição da nocicepção (OCANA *et al.*, 2004).

Para verificar o possível envolvimento dos canais de K^+_{ATP} no mecanismo de ação do OEVA, utilizou-se a glibenclamida, um bloqueador desses canais. Os resultados apresentados sugerem que não há participação dos canais de K^+_{ATP} na ação antinociceptiva do óleo. Mostrando pois, que o óleo não interfere no influxo de Ca^{2+} mediado pelo sistema K^+_{ATP} .

Através dos testes de nocicepção *in vivo* foi demonstrado que o OEVA apresenta ação antinociceptiva tópica e sistêmica, seus possíveis mecanismos de ação foram elucidados, podendo o OEVA ser um potencial agente na terapêutica. Esses resultados demonstram o que parece pela primeira vez, um potencial antinociceptivo e antipruriginoso significativo, e de grande relevância para pesquisas futuras visando um maior aproveitamento na investigação de seus mecanismos de ação.

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

- OEVA apresentou efeito antinociceptivo cutâneo sistêmico e tópico;
- OEVA demonstrou atividade tópica em modelo de nocicepção corneal;
- Os receptores 5-HT₃, α_1 , TRPV1 e muscarínicos parecem estar envolvidos no mecanismo de ação antinociceptivo do OEVA.
- O óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* é um potencial agente antinociceptivo. Sua importância deve ser reconhecida, para que essa seja uma espécie com aproveitamento industrial, na busca de um novo agente analgésico tópico.

REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, R.N.; NAVARRO, D.S.; BARBOSA-FILHO, J.M. **Plants with central analgesic activity.** *Phytomedicine*, vol.8, p.310-322, 2001.
- ALVES, A.M.; GONÇALVES, J.C.; CRUZ, J.S et al. **Avaliação da sesquiterpeno (-)- α -bisabolol como um bloqueador periférico novel nervoso.** *Neurosci Lett*, vol.472 (1), p.1-5, 2010.
- AMANO, N.; HU, J.W.; SESSLE, B.J. **Responses of neurons in feline trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) to cutaneous, intraoral, and muscle afferent stimuli.** *J Neurophysiol*, vol.55, p.227–243, 1986.
- ANKIER, S.I. **New hot plate test to quantify antinociceptive and narcotic-antagonist activities.** *Eur J Pharmacol*, vol.27, p.1-4, 1974.
- ARTUSO, A. **Bioprospecting Banefit Sharing, and Biotechnological Capacity Building.** *World Development*, vol.30, p.8, 2002.
- BARATZ, K. H; PROIA, A. D; KLINTWORTH, G. K; LAPETINA, E.G. **Cholinergic stimulation of phosphatidylinositol hydrolysis by rat corneal epithelium in vitro.** *Curr Eye Res*, vol.6, p.691–701, 1987.
- BASAUM, A. I; BAUTISTA, D. M; SCHERRER, G; JULIUS, D. **Cellular and molecular mechanisms of pain.** *Cell*, vol.139(2), p.267-84, 2009.
- BASBAUM, A.; JESSELL, T. **A percepção da dor.** Em: KANDEL, E; SCHWARTZ J; JESSELL, T. *Princípios da Ciência Neural.* Nova York: McGraw-Hill, vol.12, p.472-491, 2000.
- BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J.B. **Mechanisms underlying the nociception an paw o edema caused by injection of glutamate into the mouse paw.** *Brain Res*, vol.924, p.219-228, 2002.
- BESSON, J. M. **The neurobiology of pain.** *Lancet*, n.353, p.610-1615, 1999.
- BIE, B.; FIELDS, H. L.; WILLIAMS, J. T.; PAN, Z. Z. **Roles of alpha1-and alpha2-adrenoceptors in the nucleus raphe magnus in opioid analgesia and opioid abstinence-induced hyperalgesia.** *J Neuroscise*, vol.23(21), p.7950-7957, 2003.
- BUSHNELL, M.C.; DUNCAN, G.H.; DUBNER, R.; HE, L.F. **Activity of trigemino thalamic neurons in medullary dorsal horn of awake monkeys trained in a thermal discrimination task.** *J Neurophysiol*, vol.52, p.170–187, 1984.
- CARNEIRO M, CUNHA A.; MENEZES A.E.; OLIVEIRA N.; ROZELLE M. et al. **Freqüência de Microrganismos Causadores de Infecções Urinárias.,** *Microbiologia*, vol. 37(4), p.243-246, 2005.
- CARSTENS, E.; KUENZIER, N.; HANDWERKER, H. O. **Activation of neurons in rat trigeminal subnucleus caudalis by different irritant chemicals applied to the oral and ocular mucosa.** *J Neurophysiol*, vol.80, p.465–492, 1998.

CATERINA, M.J.; SCHUMACHER, M.A.; TOMINAGA, M.T.A.; ROSEN, J.D. **The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway.** *Nature*, vol.389, p.816 – 824, 1997.

CAVALCANTI, I. L.; MADDALENA, M L.; COHEN, R D & PERL, E R. **Contributions of arachidonic acid derivatives and substance P to the sensitization of cutaneous nociceptors.** *Journal of Neurophysiology (DOR, Rio de Janeiro)*, vol.64, p.457-464, 2003.

CAVALLOTTI, C. et al.; FRATI A.; SAGNELLI P.; PESCOSOLIDO, N. **Reevaluation and quantification of the different sources of nerve fibers supplying the rat eye.** *J Anat*, vol.206, p.217–224, 2005.

CEAE, 2003 – Comissão de ética para uso de animais. Disponível em: <http://www.ppg.uem.br/docs/ceea/Comites/COMIT%CA%20DE%20CONDUTA%20%20C9TI%20CA%20NO%20USO%20DE.htm>. Acesso em 28/02/2012.

CHENG, J. K.; JI, R. R. **Intracellular signaling in primary sensory neurons and persistent pain.** *Neurochem Res*, v. 33, n. 10, p. 1970-8, 2008.

CHIANG, C.Y.; HU, J.W.; SESSLE, B.J. **Parabrachial area and nucleus raphe magnus-induced modulation of nociceptive and nonnociceptive trigeminal subnucleus caudalis neurons activated by cutaneous or deep inputs.** *J Neurophysiol*, vol.71, p.2430–2445, 1994.

CHICHORRO, J. G.; ZAMPRONIO, A. R.; RAE, G. A. **Endotelina ET_B antagonista do receptor reduz alodinia mecânica em ratos com dor neuropática trigeminal.** *Experimental Biology and Medicine*, vol.12, p.1-6, 2005.

CHOI, S. S. et al. **The neurological safety of epidural gabapentin in rats: a light microscopy examination.** *Anesthesia & Analgesia*, v.101, n.5, p.1422-1426, 2005.

COHEN, I.; RAINVILLE, J. **Aggressive exercise as treatment for chronic Low Back Pain.** *Sports Medicine*, vol.32, p.75-82, 2002.

COLLIS, M. G.; AND HOUANI, S. M. O. **Adenosine receptor subtypes.** *Trends in Pharmacological Sciences*, vol.14, p.360-366, 1993.

COUTAUX, A.; ADAM, F.; WILLER, J. C.; BARS, D.L. **Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms.** *Joint Bone Spine*, v.72, p.359-371, 2005.

CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J.W.; MATOS, F.J.A.; SOUSA, M.P.; MACHADO, M. I. L. **Volatile constituents of leaves, bark and wood from *Vanillosmopsis arborea* Baker.** *Journal of Essential Oil Research*, vol.1(6), p.293-4, 1989.

CUNHA T. M.; VERRI, W. A. Jr.; SCHIVO, I. R.; NAPIMOGA, M. H.; PARADA, C. A.; POOLE, S.; TEIXEIRA, M. M.; FERREIRA, S. H.; CUNHA, F. Q. **Crucial role of neutrophils in the development of mechanical inflammatory hypernociception.** *J Leukoc Biol*, vol.83(4), p.824-832, 2008.

DAVIS, R.B. **Reflections on Clinical Gait Analysis.** *J Electromyogr Kinesiol*, v.7, p.251–57, 1997.

DOGRUL, A.; OSSIPOV, M.H.; LAI, J.; MALAN, Jr.T.P.; PORRECA, F. **Peripheral and spinal antihyperalgesic activity of SIB-1757, a metabotropic glutamate receptor**

(mGLUR(5)) antagonist, in experimental neuropathic pain in rats. *Neurosci Lett*, vol.292, p.115–118, 2001.

DOUBELL, T.P.; MANNION, R. J.; WOOLF, C. J. **The dorsal horn: state-dependent sensory processing, plasticity and the generation of pain.** In: Churchill Livingstone. *Textbook of pain*, London, vol.3, p.165-81, 1999.

DRAY, I.; KRAKE, L.; MULLINEAUX, P. & REZAIAN, A. **Regulation of tomato leaf curl viral gene expression in host tissues.** *Mol Plant Microbe Interact*, vol.13, p.529–537 2000.

DWORKIN, R.H.; BACKONJA, M.; ROWBOTHAM, M.C, et al. **Advances inneuropathic pain. Diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations.** *Arch Neurol*, vol.60, p.1524–1534, 2003.

ELISABETSKY, E.; AMADOR, T.A.; ALBUQUERQUE, R.R.; NUNES, D.S; CARVALHO, A.C.T. **Analgesic activity of Psychotria colorata (Willd. ex R. & S.) Muell.** *Arg. alkaloids. Journal of Ethnopharmacology*, vol.48, p.77-83, 1995.

FARAZIFARD, R.; SAFAPOUR, F.; SHEIBANI, V.; JAVAN, M. **Eye wiping test: a sensitive animal model for acute trigeminal pain studies.** *Brain Res Brain Res Protoc*, vol.16, p.44–49, 2005.

FEIN, A.; **Nociceptores as células que sentem dor**, 2012.

FELIPE, C.D.; GONZALEZ, G.G.; GALLAR, J.; BELMONTE, C. **Quantification and immunocytochemical characteristics of trigeminal ganglion neurons projecting to the cornea: effect of corneal wounding.** *Eur. J. Pain*, vol.3, p.31-39, 1999.

FERREIRA, M. B. C.; HIDALGO, M. P. L.; CAUMO, W. **Fármacos utilizados em dor crônica.** *Farmacologia clínica*, 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, vol.15, p.259-291, 2004.

FERREIRA, S. H.; DUARTE, I. D. G.; LORENZETTI, B. B. **The molecular mechanism of action of morphine analgesia: stimulation of the cGMP system via nitric oxide release.** *Eur. J. Pharmacol*, vol.201, p.121-122, 1991.

FILHO, A. W.; **Potencial analgésico de flavonóides: Estudo do mecanismo de ação da quercetina.** Outubro, Itajaí – SC, INIVALI, 2005.

FILHO, R. B. **Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente.** *Química Nova*, vol.33, No. 1, p.229-239, 2010.

FIRESTEIN, G.S. **Mechanisms of inflammation and tissue repair.** Em GOLDMAN, L.; ANSIELLO, D. *Textbook of Medicine*, Ed.22, p.227, 2004.

FRIED, K.; BONGENHIELM, U.; BOISSONADE, F. M.; ROBINSON, P. P. **Nerve injury-induced Pain in the Trigeminal System.** *The neuroscientist*, v.7, n. 2, p.155, 2001.

FRIZZO, H.M.; VERONESE, R.M. **Neuralgia do trigêmeo: revisão bibliográfica analítica/Trigeminal neuralgia:na analythic review of the literature.** *Cir. Traumat. Buco-Maxilo-Fac*, Recife, vol.4, n.4, p.212-217, Out/Dez, 2004.

FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.D.; ANDRADE NETO, M.; BEZERRA, J. N. S.; SILVA, M. G. V. **Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Díptera: Culicidae)**, Dissertação, 2005.

GAO, X.; KIM, H. K.; CHUNG, J.M.; CHUNG, K. **Enhancement of NMDA receptor phosphorylation of the spinal dorsal horn and nucleus gracilis neurons in neuropathic rats.** *Pain*, v. 116, p.62-72, 2005.

GRAW, J. **Genetic aspects of embryonic eye development in vertebrates.** *Dev. Genet*, vol.18, p.181-197, 1996.

GRIFFIN, A. E.; LOWENSTEIN, D. H. **Farmacologia da transmissão elétrica anormal no sistema nervoso central.** In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN-JÚNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. *Princípios da Farmacologia*, 2ª Ed., Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, Cap.14, p.203-216, 2009.

GRIFFIN, A. E.; WOOLF, C. J. **Farmacologia da analgesia.** In: GOLAN, D. E.; TASHJIAN-JÚNIOR, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. *Princípios da Farmacologia*. 2ª Ed., Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, Cap.16, p.240-259, 2009.

HAESLER, G.; MAUE, D.; GROSSKREUTZ, J.; BUFLER, J.; NENTWIG, B.; PIEPENBROCK, S.; DENGLER, R.; LEUWER, M. **Voltage-dependent block of neuronal and skeletal muscle sodium channels by thymol and menthol.** *Eur. J. Anaesthes*, vol.19, p.571-579, 2002.

HESS, C. T. **Tratamento de inflamações.** 4ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso Editores, p.81 – 106p, 2002.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. **Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors.** *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, n.4, p.533-54, Apr. 2002.

HU, J.W.; DOSTROVSKY, J.O.; SESSLE, B.J. **Functional properties of neurons in cat trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn). I. Responses to oral-facial noxious and nonnoxious stimuli and projections to thalamus and subnucleus oralis.** *J Neurophysiol*, vol.45, p.173–192, 1981.

HUNSKAAR, S. H. K.; FASMER, O.B. **Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics.** *J Neurosci Meth*, vol.14, p.69-76, 1985.

HUNSKAAR, S. H. K. **The formalin test in mice - dissociation inflammatory and non inflammatory pain.** *Pain*, vol.30, p.103-114, 1987.

IKOMA, A.; STEINHOFF, M.; STÄNDER, S.; YOSIPOVITCH, G. SCHMELZ, M. **The neurobiology of itch.** *Nat. Rev*, vol.7, p.535-547, 2006.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária.** 6.ed. Estados Unidos: Williams and Wilkins: A Waverly Company, 2000.

KAMATOU, G. P. P.; VIJOEN, A. M. **A review of the application and Pharmacological Properties of α -bisabolol and α -bisabolol-Rich Oils.** *Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS)*, v.87, p.1-7, 2010.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. **Principles of neural**. Science 4. Ed. McGraw-Hill Medicine, p.1414, 2003.

KURAIISHI, C.; SAKAMOTO, J.; SOEDA, T. **The usefulness of transglutaminase for food processing**. In **Biotechnology for Improved Foods and Flavors; ACS Symposium Series 637**. American Chemical Society: Washginton, DC, p.29-38 1996.

LAPA, A.J. *et al.* **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. Campinas, São Paulo: Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais, 2008.

LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA, L.M.T.R.; CASTRO, M.S.A.; LIMA, T.C.M. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais**. Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais. Porto Alegre, 2003.

LEE, M. H.; YEON, K. Y.; PARK, C. K.; LI, H. Y.; FANG, Z.; KIM, M. S.; CHOI, S. Y.; LEE, S. J.; LEE, S.; PARK, K.; LEE, J. H.; KIM, J. S.; OH, S. B. **Eugenol inhibits calcium currents in dental afferent neurons**. J. Dent. Res, v.84, n.9, p.848-851, 2005.

LEITE, G. O.; SAMPAIO, R. S.; LEITE, L. H. I.; ARARUNA, M. K. A.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; CAMPOS, A. R. **A-bisabolol attenuates visceral nociception and inflammation in mice**. Fitoterapia, vol.82, p.208-211, 2011.

LEITE, G. O.; SAMPAIO, R. S.; LEITE, L. H. I.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; CAMPOS, A. R. **Attenuation of visceral pain in mice by th essential oil from *Vanillosmopsis arborea* Bark**. Rev Dor, São Paulo, vol.12(1), p.46-9, 2011.

LEITE, G.O.L.; PENHA, A.R.; FERNANDES, C.N.; CAMPOS, A.R, et al. **Mecanismo gastroprotetor do óleo essencial da casca de *Vanillosmopsis arborea***. Fitoterapia, vol.80 (1), p.77-80, 2009.

LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios: Conceitos Fundamentais da Neurociência**. São Paulo: Editora Atheneu, cap.7, p.209-240, 2001.

LIMA, D.; ALMEIDA, A. **The medullary dorsal reticular nucleus as a pronociceptive centre of the pain control system**. Prog Neurobiol, vol.66, p.81-108, 2002.

LIMA, I.V.M.; SILVA, M.G.V & CAVALCANTE, F.S. **Estudo químico de *Vanillosmopsis arborea* – fonte cearense de α -bisabolol**. In: XLVI. Congresso Brasileiro de Química, Salvador, CBQ 2006.

LIPSCOMBE, D.; RAINGO, J. **Internalizando canais: um mecanismo para controlar a dor?** Universidade de Brown, EUA, Nature Neuroscience, vol.9, p.8-10, 2006. Doi: 10.1038/nn0106-8.

LIRA, S. R. S. **Efeitos farmacológicos do extrato etanólico de *Combretum leprosum* Mart. % Eicher sobre o sistema nervoso central**. Dissertação de Mestrado. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica/UFPB/João Pessoa, Paraíba, 2001.

LOESER, J.D.; MELZACK, R. **Pain: an overview**. The Pancet, vol.353, p.1607-1609, 1999.

LOESER, J.D.; ROLF-DETLEF TREEDE. **“The Kyoto protocol of IASP basic pain terminology”**. Pain, vol.137, p.473-477, 2008.

MADIGAN; RAJ. **Post traumatic pain syndromes**. Rr. Med, vol.288, p.169 – 70. 2000.

- LOPES, A. S.; **Estudo da antinocicepção induzida pelo ultrassom terapêutico em um modelo experimental de dor neuropática trigeminal em ratos.** Belo horizonte – MG, Instituto de Ciências Biológicas, 2006.
- MASLAND, R. H.; RAVIOLA, E. **Confronting complexity: strategies for understanding the microcircuitry of the retina.** *Annu. Rev. Neurosci*, vol.23, p.249-284, 2000.
- MATOS, M.E.O.; SOUSA, M.P.; MATOS, F.J.A. et al. **Sesquiterpenos de *Vanillosmopsis arborea*** .*J Nat. Prod*, vol.51, p.780, 1998.
- MCHAFFIE, J.G.; LARSON, M.A.; STEIN, B.E. **Response properties of nociceptive and low-threshold neurons in rat trigeminal pars caudalis.** *J Comp Neurol*, vol.347, p.409–425, 1994.
- MENEZES, A. M. S.; ALMEIDA, F. R. C.; RAO, V. S. N.; MATOS, M. E. O. **Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Vanillosmopsis arborea*.** *Fitoterapia*, vol.61(3), p.252-4, 1990.
- MENG, I.D.; HU, J.W.; BENETTI, A.P.; BEREITER, D.A. **Encoding of corneal input in two distinct regions of the spinal trigeminal nucleus in the rat: cutaneous receptive field properties, response to thermal and chemical stimulation, modulation by diffuse noxious inhibitory controls, and projections to the parabrachial area.** *J. Neurophysiol*, vol.77, p.43-56, 1997.
- METZ, M.; STÄNDER, S.; **Chronic pruritus – pathogenesis, clinical aspects and treatment.** *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol*, vol.24, p.1249-1260, 2010.
- MILLAN, M.J. **The induction of pain: an integrative review.** *ProgNeurobiol*, vol.57, p.1–164, 1999.
- MILLAN, M.J.; **Descending control of pain.** *Progress in Neurobiology*, vol.569, p.1-120, 2002.
- MILLAN, M.J.; **The induction of pain: an integrative review.** *Progress in Neurobiology* vol.57, p.1-164, 1999.
- MILLAN, M. J. **Descending control of pain** *Progress in neurobiology*, v.57, p.355-474, 2002.
- MILLER, R.A.; HARPER, J.M.; DYSKO, R.C.; DURKEE, S.J.; AUSTAD, S.N. **Longer life spans and delayed maturation in wild-derived mice.** *Exp. Biol. Med*, vol.227, p.500–508, 2002.
- MORI, C. L. S. O.; BRITO, J. O.; SCOLFORO, J. R. S.; VIDAL, E. J. and MENDES, L. M.; **Influence of altitude, Age and diameter on yeld and alpha-Bisabolol Content of Candeia Trees (*Eremanthus erythropappus*).** Vol.15(3), p.339-345, 2009.
- MOSS, H.E.; SANGER, G.J. **The effects of granisetron, ICS 205–930 and ondansetron on the visceral pain reflex induced by duodenal distension.** *Br J Pharmacol*, vol.100, p.497–501, 1990.

MOTA, M.R.L.; **Estudo da atividade antiinflamatória e antinociceptiva da lectina isolada de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth.** Tese (Doutorado em farmacologia). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

NODARI, R.O.; GUERRA M.P. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, vol.18 (1), p.81 – 116, 2001.

OCANA, M. **Potassium channels and pain: present realities and future opportunities.** Eur. J. Pharmacol, vol.500, n. 1-3, p.203-219, 2004.

OLIVEIRA, R.A.G.; *et al.* **Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica,** Revista Brasileira de Farmacognosia, vol.16 (1), p. 77-82, 2006.

PARADA, C.A.; TAMBELI, C.H.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H: **The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalin-induced nociception.** Neurosci, vol.102, p.937-944, 2001.

PATEL, K.N.; BONG, X.; **An itch to be scratched.** Neuron, vol. 68, P.334–339, 2010. Disponível em: [PubMed](#). Acesso em 18/09/2011.

PEREIRA, U.; MISERY, L.; **Understanding pruritus.** Keratin, vol.11, p.12-18, 2006.

PIETROVSKI, E.F.; ROSA, K.A.; FACUNDO, V.A.; RIOS, K.; MARQUES, M.C.; SANTOS, A.R.S. **Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3, 6, 16-trihydroxylup-20(29)-ene obtained from flowers of *Combretum leprosum* in mice.** Pharmacol. Biochem. Behav, vol.83, p.90–99, 2006.

PRADO - DEL BEL EA et al. **Induction of the c-fos proto-oncogene in the rat pineal gland during stress.** Braz J Med Biol Res, vol.26, p.975-981, 1998.

RAJA, S.N.; MEYER, R.A.; RINGKAMP, M.; CAMPBELL, J.N. **Peripheral neural mechanisms of nociception.** In: WALL, P.D; MELZACK, R. (Eds). Textbook of Pain, 4 ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, p.105-118, 1999.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE P.K. **Distúrbios neurodegenerativos. In: Farmacologia.** 7.Ed., Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, p.559-573, 2004.

REN, K.; DUBNER, R. **Central nervous system plasticity and persistent pain.** J Oralfacial Pain, Carol Stream, v.13, n.3, p.155-163, 1999.

ROCHA, N. F. M.; RIOS, E. R. V.; CARVALHO, A. M. R.; CERQUEIRA, A. A. L.; LEAL, L. K. A. M.; DIAS, M. L.; SOUSA, D. P.; SOUSA, F. C. F. **Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of (-)- α -bisabolol in rodents.** Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, vol.384, p.525-533, 2011.

SAKURADA, T.; KATSUMATA, K.; TAN-NO, K.; SAKURADA, S.; KISARA, K. **The capsaicin test in mice for evaluating tachykinin antagonist in the spinal cord.** Neuropharmacology, vol.31, p.1279-1285, 1992.

SALTER, M. W. **Cellular neuroplasticity mechanisms mediating pain persistence.** Jurnal of Orofacial Pain, vol.18, n.4, 2004.

SALTER, M. W. **Cellular signaling pathways of spinal pain neuroplasticity as target for analgesic development.** Current Topics in medicinal Chemistry, n.5, p.1-11, 2005.

SANTOS, N.K.A.; **Verificação das propriedades antibacteriana e farmacológica do Óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* (Asteraceae) Baker.** Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Bioprospecção molecular da Universidade Regional d Cariri, Brasil – 2009.

SCHEMELZ, M. **Itch and Pain.** Neurosci. Biobehav. Rev., vol.34, p.171-176, 2010.

SCHEMELZ, M. SCHMIDT, R.; BICKEL, A.; HANDWERKER, H.O. and TOREBJÖRK, H.E. **Speciic C - receptors for itch in human skin.** J. Neurosci, vol.20, p.8003-8008, 1997.

SCHMIDT, R.; SCHEMELZ, M.; FOSTER, C.; RINGKAMP, M.; TOREBJORK, H.E.; HANDWERKER, H.O. **Novel classes of responsive and unresponsive C- nociceptor units in human skin.** J. Neurosci., vol.15, p.333-341, 1995.

SCHMELZ, M. **A neural pathway for itch.** Nat. Neurosci, vol.4, p.9-10, 2001.

SCHMIDOTKO, A.; TEGEDER, I.; GEISLINGER. **No NO, no pain? The role of nitric oxide and cGMP in spinal pain processing.** Trends Neurosci, vol.32(6), p.339-46, 2005.

SILVA, É.A. **O extrato aquoso do barbatimão como cicatrizante em feridas cirúrgicas do tecido cutâneo em gatos.** Campo Grande: Universidade Castelo Branco. 13p. TCC, 2006. Disponível em: www.google.com.br. Acesso em: 14 de junho. de 2011.

SIKAND, P.; SHIMADA, S.G.; GREEN, B.G.; LAMOTTE, R.H. **Similar itch and nociceptive sensations evoked by punctate cutaneous application of capsaicin, histamine and cowhage.** Pain, vol.144(1-2), p.66-75, 2009.

STÄNDER, S.; WEISSHAAR, E.; METTANG, T. et al. **Clinical classification of itch a position paper of International Forum for Study of itch.** Acta. Derm. Venereol, vol.87, p.291-294, 2007.

STANTE, M.; HANNA, D.; LOTTI, T. **Itch, pain and metasthetic sensation.** Dermatol. Ther, vol.18, p.308-313, 2005.

SZALLASI, A. and BLUMBERG, P.M.; **Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms.** Pharmacol. Ver, 51, p.159 – 212, 1999.

TAKATSUKA, F.S.; SILVA, I.D.; OLIVEIRA, M.F.; CZEPAK, C.; OLIVEIRA, C.M.A.; CUNHA, M.G. **Efeito do óleo essencial de alçafrão (*Curcuma longa*) sobre o desenvolvimento micelial de fungos.** 36º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Uberlândia, Brasil, v.28, p.361, 2003.

TANELIAN, D. L. **Cholinergic activation of a population of corneal afferent nerves.** Exp Brain Res, vol.86, p.414–420 1991.

TASKER, S.; KNOTTENBELT, C.M.; MUNRO, E.A.; STONEHEWER, J. et al. **A etiology and diagnosis of persistent nasal disease.** J Small Anim Pract, vol.40(10), p.473-8, 1992.

TEIXEIRA, M. J. **Mecanismos de ocorrência de dor.** Ver. Med. (São Paulo), 80 (Ed. Esp. PT.1), p.22-62, 2001.

TEIXEIRA, M.J. **A rizotomia percutânea por radiofrequência e a descompressão vascular do nervo trigêmeo no tratamento das algias faciais.** São Paulo, 425p. Dissertação (Mestrado) - São Paulo Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1984.

TEIXEIRA, M.J.; **A lesão do trato de Lissauer e do corno posterior da substância cinzenta da medula espinal e a estimulação elétrica do sistema nervoso central para o tratamento da dor por desaferentação.** São Paulo, tese (Doutorado), São Paulo Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 256 p, 1994.

TREDE, R.D.; MEYER, R.A.; RAJA, S.N.; CAMPBELL, J.N. **Mecanismos periféricos e centrais de hiperalgesia cutânea.** Prog. Neurobiol, vol.38(4), p.397-421, 1992. [[PubMed](#)].

VAZ, M. A.; ZHANG, Y. T.; HERZOG, W.; GUIMARÃES, A. C. S e MACINTOSH, B.R. **The behavior of human rectus femoris and vastus lateralis during fatigue and recovery: an electromyographic and vibromyographic study.** Electromyogr. Clin. Neurophysiol, vol.36, p.221-230, 1996.

VENÂNCIO, A. M. **Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* I. (manjeriço), em *mus Musculus* (camundongos).** Dissertação de mestrado da Universidade Federal de Sergipe, SE, 2006.

WALDICEU, A.V.J.; **Inter-Relação e Mecanismos Envolvidos na Hipernocicepção mecânica e migração de neutrófilos induzidos pela IL – 15.** Ribeirão Preto – SP, 2006. Tese de doutorado, disponível em: www.scielo.com.br. Acesso em 20/08/2011.

WALL, P.D., SWEET, W. H.; **Temporary abolition of pain in man.** Science, vol.155, p.108 – 109, 1999.

WARD, L.; WRIGHT, E.; MCMAHON, S.B. **A comparison of the effects of noxious and innocuous counterstimuli on experimentally induced itch and pain.** Pain, vol.64, p.129-138, 1996.

WILSON, S.R.; GERHOLD, K.A.; BIFOLCK, F.A.; LIU, Q.; PATEL, K.N.; DONG, X.; BAUTISTA, D.M. **TRPA1 is required for histamine-independent, Mas-related G protein-coupled receptor-mediated itch.** California USA, Nat Neurosci, vol.14, p.595-602, 2011.

WOOLFE, G. & MACDONALD, A.D. **The evaluation of analgesic action of pethidine hydrochloride.** J.Pharm. Exp. Ther, vol.80, p.300-30, 1944.

YANO S.; MATSUMOIR Y.; IKUTA K.; OGINO H.; DOLJINSUREN T.; SONE S. **Current status and perspective of angiogenesis and antivasular therapeutic strategy: non-small cell lung cancer.** Int J Clin Oncol, vol.11, p.73-81, 2006.

ZEILHOFER, H.U. **Alterações na transmissão sináptica no corno dorsal da medula espinal desempenham um papel fundamental no desenvolvimento de dor patológica. Enquanto que o N-metil-D-aspartato (NMDA) e da actividade dependente de plás sinápticas.** Celular e Molecular Life Sciences CMLS, vol.10, p.5-18, 2005.

ANEXOS

Anexo 01: Efeito do OEVA sistêmico sobre a nocicepção cutânea induzida por formalina

Tratamento	1ª Fase (0-5min)		2ª Fase (15-30min)	
	Média ±E.P.M	Inibição (%)	Média ±E.P.M	Inibição (%)
Controle	57,67±1,892	-	96,17±6,954	-
Morfina	19,83±4,331****	65,37%	13,83±4,564****	85,62%
OEVA 25	32,00±6,272****	44,11%	49,33±7,962****	51,29%
OEVA 50	38,50±4,233****	32,76%	45,50±9,780****	52,69%
OEVA 100	34,83±5,816****	39,74%	36,50±11,432****	62,05%
OEVA 200	37,50±4,089****	34,50%	23,17±10,512****	75,91%

Tabela 02: Efeito antinociceptivo do Óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e Morfina no teste de formalina com tratamento sistêmico. Mostrando as duas fases que caracterizam esse teste. Dados expressos como média±E.P.M. **** $p < 0,0001$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 02: Efeito do OEVA tópico sobre a nocicepção cutânea induzida por formalina

Tratamento	1ª Fase (0-5min)		2ª Fase (15-30min)	
	Média ±E.P.M	Inibição (%)	Média ±E.P.M	Inibição (%)
Controle	99,83±5,958	-	41,75±8,077	-
Morfina	19,83±4,331****	80,43%	13,83±4,564****	66,88%
OEVA 25	106,8±10,03	13%	19,67±8,834***	49,71%
OEVA 50	81,83±6,534***	17,82%	4,667±4,279****	81,15%
OEVA 100	42,17±8,639****	56,97%	18,33±6,835***	52,70%
OEVA 200	26,75±2,522****	73,16%	24,83±4,362**	38,62%

Tabela 03: Efeito antinociceptivo do Óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e Morfina no teste de formalina com tratamento tópico. Dados expressos em média±E.P.M primeira fase teste de formalina tópico **** $p < 0,0001$ e *** $p < 0,001$ e ** $p < 0,01$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls) Dados expressos como média±E.P.M.

Anexo 03: Efeito do OEVA sobre a nocicepção cutânea induzida por capsaicina

Tratamento	Observação durante os cinco primeiros minutos	
	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Contole	45,17±5,250	-
Morfina	3,875±2,401****	91,63%
OEVA 25	22,75±3,483****	53,78%
OEVA 50	15,25±0,881****	67,03%

OEVA 100	6,375±1,438****	86,22%
OEVA 200	21,38±3,289****	49,18%

Tabela 04: Efeito antinociceptivo do Óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e Morfina no teste de capsaicina com tratamento sistêmico. Dados expressos como média±E.P.M. **** $p<0,0001$; quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 04: Efeito do OEVA sobre a nocicepção cutânea induzida por glutamato

Tratamento	Observação durante quinze minutos	
	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	43,83±6,498	-
Morfina	19,56±4,198**	60,23%
OEVA 25	48,00±11,81	-
OEVA 50	30,67±6,427	-
OEVA 100	53,33±13,60	-
OEVA 200	52,00±9,688	-

Tabela 05: Efeito antinociceptivo do Óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e Morfina no teste de glutamato. Dados expressos como média±E.P.M. ** $p<0,01$ para o controle positivo quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 05: Efeito do OEVA sobre a nocicepção térmica induzida pela placa quente

Tratamento	Latência (s) – Média ± E.P.M					
	0 min	30 min	60 min	90 min	24 hrs	48hrs
Controle	14,96±1,211	13,14±1,255	13,53±1,671	14,46±0,729	13,15±0,635	15,03±1,112
Morfina	12,62±1,721***	24,50±1,500***	27,62±1,451***	24,62±1,349***	25,50±1,991***	22,62±1,463***
OEVA 25	10,68±0,450	17,75±1,176	13,21±0,895	14,46±1,050	10,15±0,515	10,65±0,957
OEVA 50	16,90±2,386	19,56±1,944**	14,31±0,699	13,53±0,869	14,46±1,308	11,31±0,588
OEVA 100	14,62±1,636	15,62±1,423	14,96±0,861	17,93±1,524	12,84±0,736	11,25±0,750
OEVA 200	9,656±0,733	14,87±1,526	20,50±1,319***	14,84±1,125	18,73±1,391*	11,50±0,559

Tabela 06: Efeito antinociceptivo do OE de *Vanillosmopsis arborea* e Morfina na dor induzida pelo teste de Hot-plate em camundongos. Dados expressos como média±E.P.M. *** $p<0,001$; $p<0,01$ ** e $p<0,05$ *. Quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 06: Efeito do OEVA a nocicepção cutânea induzida pelo teste de gota de acetona

Tratamento	Observação durante 20 segundos	
	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	91,00±4,219	-
Morfina	34,29±4,628***	62,32%
OEVA 25	52,00±5,837***	42,08%
OEVA 50	75,17±3,371*	78,96%
OEVA 100	42,00±6,325***	41,43%
OEVA 200	49,67±4,752***	45,42%

Tabela 07: Efeito antinociceptivo do OE de *Vanilismopsis arborea* e Morfina na dor induzida pelo teste de gota de acetona em camundongos. Dados expressos como média±E.P.M.*** $p < 0,001$; * $p < 0,05$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 07: Efeito do OEVA a nocicepção cutânea induzida pelo teste de dor corneal

Tratamento	Observação durante 30 segundos	
	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	20,33±0,666	-
Morfina	12,17±0,833****	47,72%
OEVA 25	15,33±0,918***	26,59%
OEVA 50	16,67±0,843**	20,17%
OEVA 100	16,67±0,666**	20,17%
OEVA 200	14,33±0,614****	32,33%

Tabela 08: Efeito antinociceptivo do OE de *Vanilismopsis arborea* e Morfina na dor induzida pelo teste de Dor corneal em camundongos. Dados expressos como média±E.P.M. **** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 08: Efeito do OEVA no prurido induzido por histamina.

Tratamento	Observação durante uma hora	
	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	45,17±5,250	-
Histamin	29,33±1,667****	64,93%
OEVA 25	56,00±8,037**	23,97%
OEVA 50	87,17±16,02	-

OEVA 100	90,00±21,142	-
OEVA 200	43,50±11,152**	4,00%

Tabela 09: Efeito antipruriginoso do OE de *Vanilomopsis arborea* e da Histamin (antihistamínico) no prurido induzido pela histamina em camundongos. Dados expressos como média±E.P.M. **** $p<0,0001$; ** $p<0,01$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 09: Efeito da Naloxona sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ±E.P.M	Inibição (%)
Controle	20,00±0,683	-
Morfina	1,83±1,078	
OEVA 50	1,83±1,078****	87,50%
Morfina + Naloxona	13,17±0,792****	37,50%
OEVA 50 + Naloxona	10,17±0,749****	45,75%

Tabela 10: Média erro padrão teste de mecanismo opióide na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. **** $p<0,0001$; quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 10: Efeito do vermelho de rutênio sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	12,50±0,670	-
OEVA 50	8,33±1,054*	38,55%
Vermelho de rutênio	5,83±2,330**	57,20%
OEVA + Vermelho rutênio	5,16±0,307**	64,23%

Tabela 11: Média erro padrão teste de mecanismo TRPV1 na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. ** $p<0,01$; * $p<0,05$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 11: Efeito da capsazepina sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	14,33± 0,714	-
OEVA 50	11,00± 0,577**	24%
Capsazepina	10,67± 0,760**	26%
OEVA + Capsazepina	12,83± 0,4773	10%

Tabela 12: Média erro padrão teste de mecanismo TRPV1 na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 12: Efeito da Ondasetrona sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	12,50±0,670	-
OEVA 50	8,33±1,054****	33,33%
Ondasetrona	5,00±0,516****	60,00%
OEVA + Ondasetrona	12,50±1,910	-

Tabela 13: Média erro padrão teste de mecanismo Serotoninérgico na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. **** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 13: Efeito do PCPA sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	11,50± 0,845	-
OEVA 50	6,25± 0,163***	45%
PCPA	9,12± 0,833**	20%
OEVA + PCPA	14,13± 0,350	-

Tabela 14: Média erro padrão teste de mecanismo serotoninérgico na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 14: Efeito da prazosina sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	14,17±0,703	-
OEVA 50	8,33±1,054**	38,86%
Prazosina	12,33±0,802*	44,97%
Fenilefrina	7,66±1,308*	43,74%
Prazosina + Fenilefrina	12,67±1,308	29,07%
Prazosina + OEVA	13,33±0,954	20,54%

Tabela 15: Média erro padrão teste de mecanismo Adrenérgico α_1 na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. ** $p<0,01$; * $p<0,05$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 15: Efeito da Ioimbina sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	16,14±1,122	-
OEVA 50	12,29±0,778**	32,35%
Ioimbina	8,00±1,662***	51,89%
Clonidina	1,33±0,835***	91,98%
Ioimbina + Clonidina	13,57±0,869*	27,84%
Ioimbina + OEVA	9,33±0,519**	43,87%

Tabela 16: Média erro padrão teste de mecanismo Adrenérgico α_2 na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. *** $p<0,001$; ** $p<0,01$; * $p<0,05$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 16: Efeito do L-name sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	19,00±0,577	-
OEVA 50	11,25±0,670****	40,78%
L-name	17,50±0,846	-
L-arginina	8,53±0,666****	51,97%
L-name + L-arginina	16,83±1,249	15,10%
L-name + OEVA	12,83±0,654****	32,89%

Tabela 17: Média erro padrão teste de mecanismo Nitérgico na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. *** $p < 0,001$ e $p < 0,05$; quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 17: Efeito da atropina sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	17,00±0,856	-
OEVA 50	11,83±0,749***	32,35%
Atropina	10,83±0,872****	41,37%
Atropina + OEVA	14,83±0,542	12,02%

Tabela 18: Média erro padrão teste de mecanismo colinérgico-muscarínico na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. **** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$; quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 18: Efeito da teofilina sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	17,00±0,856	-
OEVA 50	10,33±0,557****	32,35%
Teofilina	7,33±2,060****	55,65%
Ciclopentiladenosina	0,50±0,500****	88,72%
Teofilina + Ciclopentiladenosina	11,67±0,421***	57,90%
Teofilina + OEVA	9,16±0,600****	48,13%

Tabela 19: Média erro padrão teste de mecanismo adenosinérgico na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. **** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$; quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

Anexo 19: Efeito da Glibenclamida sobre a antinocicepção do OEVA em modelos de dor corneal nocicepção corneal induzida por NaCl a 5 M.

Tratamento	Média ± E.P.M	Inibição (%)
Controle	17,00±0,856	-
OEVA 50	11,83±0,749***	32,35%
Glibenclamida	6,66±0,954****	57,90%

Diazóxido	8,66±0,881****	30,84%
Glibenclamida + Diazóxido	12,43±0,977***	42,44%
Glibenclamida + OEVA	11,50±0,846***	27,84%

Tabela 20: Média erro padrão teste de mecanismo K + ATP na ação antinociceptiva do OEVA pelo teste de dor corneal por NaCl; Dados expressos como média±E.P.M. **** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$ quando comparados com o grupo controle negativo (ANOVA e teste de Student – Newman – Keuls).

APÊNDICES



Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

Remetente:

Nº 18.2012

Remetente: UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
Laboratório de Farmacologia e Química Molecular - LFQM

Contato: Laura Hévila Inocência Leite

Destinatário:

Data: 23.08.2012

HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA - herbario@urca.br (HCDAL/URCA)

Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva

Universidade Regional do Cariri - URCA

Departamento de Ciências Biológicas

Rua: Cel. Antonio Luiz, 1161

Campos do Pimenta - Crato - CE

CEP: 63.105-100

Nº Amostras: 01

Tipo de Operação: Identificação Botânica

DOAÇÃO BOTÂNICA

	Nº HCDAL	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	DETERMINADOR	DATA
01	8725	Candeeiro	Asteraceae	<i>Vanillosmopsis arborea</i> (Gardner) Baker	Arlene Pessoa	13.08.2010

Cordialmente,

Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
Curadora do HCDAL

PUBLICAÇÕES

Artigos submetidos vinculados ao mestrado

Laura Hévila Inocência Leite; Gerlânia Oliveira Leite; Thales S. Coutinho; Severino Denício G. de Sousa; Renata S. Sampaio; José Galberto Martins da Costa; Irwin Rose Alencar de Menezes; Adriana Rolim Campos. **Tropical antinociceptive effect of *Vanillosmopsis arborea* Baker in acute corneal pain in mice.** European Journal of Pharmacology, 2012.

Artigos publicados não vinculados ao mestrado

LEITE, G. O; SAMPAIO, R. S; LEITE, L. H. I; MENEZES, I. R. A; COSTA, J. G. M; CAMPOS, A. R., **Attenuation of visceral pain in mice by the essential oil from *Vanillosmopsis arborea* Bark.** Rev Dor, São Paulo, 2011 jan-mar; 12(1): 46-9

LEITE, G. O; SAMPAIO, R. S; LEITE, L. H. I; ARARUNA, M. K. A; MENEZES, I. R. A; COSTA, J. G. M; CAMPOS, A. R., **α -bisabolol attenuates visceral nociception and inflammation in mice.** Fitoterapia 82 (2011) 208-211.

LEITE, G.O; LEITE, L.H.I; SAMPAIO, R.S; ARARUNA, M.K; RODRIGUES, F.F.G; MENEZES, I.R.A; COSTA, J.G.M;CAMPOS, A.R. **Modulation of tropical inflammation and visceral nociception by *Vanillosmopsis arborea* essential oil in mice,** Biopha-D-11-00103. Publicado em: Biomedicine & Preventive Nutrition.

Artigos aceitos para publicação não vinculados ao mestrado

Francisco Brito-Júnior, Dayanne Oliveira, Elizângela Bento, **Laura Hévila Inocência Leite**, Daniele Souza, Ana Luiza Siebra, Renata Sampaio, Anita Pereira, Andreza Ramos, Saulo R. Tintino, Luiz Lacerda-Neto, PATRÍCIA R.L. FIGUEIREDO, Larissa Oliveira, Cristina Rodrigues, Valter Sales; **Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Croton campestris* A. St.-Hill in rodents.**, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013.

Artigos submetidos não vinculados ao mestrado

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y MODULADORA DE *Cecropia pachystachya*-TRÉCUL.; Daniele Oliveira SOUZA, Saulo Relison TINTINO, Valterlúcio Santos SALES, Fernando Gomes FIGUEREDO, **Laura Hévila INOCÊNCIO**, Ana Luiza de Albuquerque SIEBRA, Cristina Kelly de Souza RODRIGUES, Larissa Rolim DE OLIVEIRA, Antônia Priscila PEREIRA, Maria Flaviana Bezerra MORAIS BRAGA, Cícero Francisco Bezerra FELIPE, José Galberto MARTINS DA COSTA, Henrique Douglas Melo CUITINHO, Irwin Rose Alencar DE MENEZES & Marta Regina KERNTOPF. Boletín latinoamericano y del aríbe De plantas medicinales y aromáticas, 2013.

Apresentação de trabalho em congresso vinculada ao mestrado

LEITE, L.H.I; LEITE, G.O.L; COUTINHO, T.S; SILVA, R.A.A; COSTA, J.G.M; MENEZES, I.R.A; CAMPOS, A.R. **The essential oil of *Vanillosmopsis arborea* reduces nociceptive behavior in mice in the corneal pain test.** Simpósio nacional de plantas medicinais, Bento Gonçalves – RS, 2012.

Apresentação de trabalho não vinculadas ao mestrado

LEITE, L.H.I; SOUZA, D.O; COUTINHO, T.S; SILVA, R.A.A; LEITE, G.O; SOUSA, D.G; SAMPAIO, R.S; MENEZES, I.R.A; COUTINHO, H.D.M; COSTA, J.G.M; KERNTOPF, M.R. **Chemical composition and study of antibacterial activity of *Bowdichia virgilioides* Kunth (Sucupira) – Fabaceae – Papilionoidae** Congresso internacional de farmacognosia, Ilhéus – BA, 2012.