



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR

THAYANA LUCY FREITAS ALBUQUERQUE

**ANÁLISE NUTRICIONAL E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO
*PLUKENETIA POLYADENIA.***

BELÉM

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR

**ANÁLISE NUTRICIONAL E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO
PLUKENETIA POLYADENIA.**

Thayana Lucy Freitas Albuquerque

Orientador: Prof^ª Dr José Luiz Martins do Nascimento

Co-orientadora: Prof^ª Dr^ª Gilmara Bastos

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas como requisito para a obtenção do título de Mestre em Neurociências e Biologia Celular.

BELÉM

2013

THAYANA LUCY FREITAS ALBUQUERQUE

**ANÁLISE NUTRICIONAL E ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÓLEO
*PLUKENETIA POLYADENIA.***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Neurociências e Biologia Celular.

BANCA EXAMINADORA

- 1 _____(Orientador)
Prof^ª Dr José Luiz Martins do Nascimento / UFPA
- 2 _____(Co-orientador)
Prof^ª Dr Gilmara Bastos / UFPA
- 3 _____(Banca)
Prof. Dr. Moises Hamoy / UFPA
- 4 _____(Banca)
Prof. Dr. José Antônio Picanço Diniz Júnior / UFPA

DATA: ____/____/____

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação ao meu filho Henrique Albuquerque e à todos os meus familiares que acreditaram e confiaram em mim, me ajudando pacientemente durante estes anos de dedicação à UFPA. Se hoje conquisto este sonho, é graças ao suporte da minha família, em especial dos meus pais José Maria da Silva Albuquerque e Antônia Fernanda Freitas Albuquerque e das minhas tias Lúcia de Fátima e Angélica Barbosa que cuidaram do meu filho enquanto eu desenvolvia minha pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, por ter me mostrado por meio de sonhos que este era o caminho que eu deveria seguir. Entreguei-me na fé de que tudo daria certo nesta escolha.

À minha mãe Antônia Fernanda, ao meu pai José Maria, meu filho Henrique, minha irmã Tássila, meu irmão Túlio, minhas tias Lúcia de Fátima, Angélica e Jacqueline, minha madrastra Fátima e meu cunhado José por terem sido meu porto seguro.

Aos meus amigos do peito Cecília Vilhena, Claudio Guimarães, Marta Gabriel, Éricka Elliane, Cassandra Bouças, Vanessa Nunes, Fúvio Farias por todo apoio e carinho quando eu mais precisei.

Agradeço à minha amiga Ana Karoline Martins que foi o instrumento de Deus para me mostrar o caminho.

Agradeço ao querido Prof^o Dr Cristovam Diniz, ao Prof^o Dr José Antônio Diniz e à Prof^a Dr^a Márcia Konkra que foram os primeiros a me receber de braços abertos e a me instruir no início desta jornada.

Agradeço a todos os amigos do laboratório de Neurodegeneração e Infecção que se tornaram grandes companheiros de luta: Lane, Alexandre, Márcio, Giovanni, Rodrigo, Albert, Sandro, Ellen e Daniel.

Aos meus amigos do Laboratório de Neuroinflamação: Anderson, Tiago, Amanda, Marcus por terem me acolhido com todo carinho na fase final.

Aos meus alunos da Esamaz: Sávio Kauê, Samara, Camila, Miriam e Lorena pela ajuda na realização dos experimentos.

Agradeço ao Prof^o Dr José Luiz do Nascimento e ao Prof^o Dr Hamoy pelas orientações fornecidas que contribuíram para a melhora da pesquisa. Ao Prof^o Guilherme Maia por ter nos concedido o óleo.

Um agradecimento todo especial a umas das pessoas mais importantes para a concretização deste sonho, minha querida Prof^a Dr^a Gilmara Bastos, que confiou em mim e enfrentou comigo todos os desafios. Ela foi muito mais que uma orientadora, foi um anjo em minha vida.

“Eu tentei 99 vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui. Nunca desista de seus objetivos mesmo que esses pareçam impossíveis, a próxima tentativa pode ser a vitoriosa.”

Albert Einstein

RESUMO

Este estudo investigou os efeitos nutricionais resultantes da administração crônica via oral do óleo de *Plukenetia polyadenia* em ratos sobre o peso, a ingesta de ração, a composição lipídica do sangue, e a histologia dos órgãos, além de investigar a toxicidade e a atividade antinociceptiva após administração de diferentes dosagens via oral em camundongos. A análise nutricional de peso e ingesta de ração mostrou que a administração crônica do óleo não interferiu nutricionalmente na homeostasia destas variáveis, independente das dosagens utilizadas (100 e 200mg/kg). As frações lipídicas do sangue como colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos também não sofreram alterações nos animais suplementados. Não foi encontrado edema, morte celular ou resposta inflamatória nas células hepáticas, cardíacas, pulmonares, gástricas, intestinais, pancreáticas e renais após a suplementação crônica em ambas as dosagens. No teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, o óleo administrado via oral (25, 50 e 100mg/kg) reduziu significativamente o número de contorções em comparação com o controle. No teste da placa quente, o tratamento com o óleo na dosagem de 200mg.kg/peso não induziu alterações no tempo de latência ao estímulo térmico, quando comparado com o controle. No teste da formalina, o tratamento oral nas doses de 50 e 100mg.kg/peso, mostrou um efeito antinociceptivo significativo, reduzindo o tempo de lambida somente na segunda fase (inflamatória). O óleo na dosagem de 200mg/kg não afetou a atividade comportamental dos ratos submetidos ao teste de campo aberto e não apresentou efeitos tóxicos. Nossos resultados demonstram que o óleo de *Plukenetia polyadenia*, apresentou atividade antinociceptiva sem promover toxicidade.

Palavras-chaves: *Plukenetia polyadenia*, Análise nutricional, Atividade antinociceptiva.

ABSTRACT

This study investigated the nutritional effects resulting from chronic oral administration of oil *Plukenetia polyadenia* in rats on weight, feed intake, blood lipid composition, and histology of the organs, and to investigate the toxicity and antinociceptive activity after administration of different dosages orally in mice. The nutritional analysis of food intake and weight showed that chronic administration of this oil did not interfere nutritionally in the homeostasis of these variables, regardless of the dosages used (100 and 200mg.kg/weight). The lipid fractions of blood as total cholesterol, LDL, HDL and triglycerides also are unchanged in the supplemented animals. Not found edema, cell death or cell inflammatory response in the liver, heart, lung, stomach, intestines, pancreas and chronic renal after supplementation in both dosages. In the writhing test induced by acetic acid, the oil administered orally (25, 50 and 100mg.kg/ weight) significantly reduced the number of writhes compared to the control. In the hot plate test, the treatment with oil at a dosage of 200mg.kg/weight induced no change in latency to thermal stimulus compared to the control. In the formalin test, oral treatment at doses of 50 and 100mg.kg/ weight showed a significant antinociceptive effect, reducing the time to lick only in the second phase (inflammatory). The oil in 200mg.kg/ weight dosage did not affect the behavioral activity of rats submitted to the open field test and showed no toxic effects. Our results demonstrated that *Plukenetia polyadenia* present antinociceptive activity without toxicity.

Keywords: *Plukenetia polyadeni*, Nutritional analysis, Antinociceptive activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Substâncias algésicas participantes na produção da nocicepção.....	16
Gráfico 1 - Sensibilidade dos receptores para calor e frio, indicando a frequência de atividade da fibra aferente, nos extremos do calor e frio os receptores geram sensações de dor.....	18
Figura 1 - Transmissão dos sinais dolorosos “rápido” e “lento” para a medula espinhal e através dela em direção ao encéfalo.....	19
Quadro 2 – Efeitos funcionais associados aos principais tipos de receptores opióides.....	24
Quadro 3 – AINEs de uso corrente.....	27
Gráfico 2 - Evolução do peso dos ratos durante 30 dias de experimento. Sem diferença estatística entre os grupos ($P>0,05$).....	42
Gráfico 3 - Evolução do consumo de ração dos ratos durante 30 dias de experimento. Sem diferença estatística entre os grupos ($P>0,05$).....	43
Gráfico 4 - Componentes lipídicos do sangue de ratos (HDL, Triglicerídeos, Colesterol Total, LDL) após o experimento. Sem diferença estatística entre os grupos ($P>0,05$).....	44
Figura 2- Histologia do rim nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).....	45
Figura 3- Histologia do coração nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).....	47
Figura 4- Histologia do estômago nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).....	49
Figura 5- Histologia do pâncreas nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).....	51
Figura 6- Histologia do fígado nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).....	53
Figura 7- Histologia do pulmão nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).....	55
Figura 8- Histologia do intestino nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).....	57
Gráfico 5 - Efeito da Plukenetia polyadenia sobre a nocicepção induzida pela injeção intraperitoneal de ácido acético. Média \pm epm * significativamente diferente do grupo controle ($p < 0,05$, ANOVA, Dunnett t-test) para um	

tempo dado.	59
Gráfico 6 - Curso temporal dos efeitos da <i>Plukenetia polyadenia</i> sobre a nocicepção térmica. Abcissa o tempo (min) após <i>Plukenetia polyadenia</i> (oral), morfina (sc). Ordenada tempo de latência (s) para a resposta a uma estimulação térmica ($55 \pm 0,5$ ° C. A média \pm SEM, n = 10) para cada dose <i>Plukenetia polyadenia</i> . * Significativamente diferente do controle (p <0,05, ANOVA, Dunnett t-test) para um tempo dado.	59
Gráfico 7 - Cada grupo representa média \pm epm, de 5 animais. * P <0,05 quando comparado com o controle (ANOVA, teste de Student-Newman Kuels ').....	60
Gráfico 8 - Cada grupo representa média \pm epm, de 5 animais. * P <0,05 quando comparado com o controle (ANOVA, teste de Student-Newman Kuels ').....	60
Gráfico 9 - Cada grupo representa em média \pm epm, de 5 animais. * P < 0.05 quando comparado com o controle. ** P < 0.05 quando comparado com o agonista mais o antagonista versus somente o agonista (ANOVA, teste de Student-Newman Kuels ').....	61

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	SOMESTESIA E NOCICEPÇÃO	12
1.1.1	Homeostase somestésica	12
1.1.2	Receptores (potenciais geradores)	13
1.2	DOR	13
1.2.1	Substâncias algésicas e analgésicas	14
1.2.2	Receptores da dor	17
1.3	VIAS PARA TRANSMISSÃO DOS SINAIS DOLOROSOS AO SISTEMA NERVOSO CENTRAL	18
1.3.1	Modulação da dor	20
1.4	SISTEMAS DE ANALGESIA	22
1.4.1	Analgésicos	22
1.4.1.1	Analgésicos Opióides	23
1.4.2	Peptídeos Opióides Endógenos	23
1.4.2.1	Receptores Opióides	23
1.4.3	Classificação dos Opióides	24
1.4.4	Morfina	25
1.4.4.1	Efeitos da Morfina e seus substitutos sobre sistemas de órgãos	25
1.4.5	Analgésicos não-opióides	26
1.5	ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES (AINES)	27
1.6	MODELOS EXPERIMENTAIS DE ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA	28
1.6.1	Teste da Formalina	28
1.6.2	Teste da Placa Quente	28
1.6.3	Teste de Contorções Abdominais induzida por Ácido Acético	29
1.7	ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS NAS VIAS METABÓLICAS DE INFLAMAÇÃO	29
1.8	PLANTAS MEDICINAIS: CONTEXTO HISTÓRICO	30
1.8.1	Óleos de plantas com atividade antinociceptiva	31
1.9	<i>PLUKENETIA POLYADENIA</i>	33
2	OBJETIVOS	35
2.1	GERAL	35
2.2	ESPECÍFICOS	35
3	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1	ÓLEO DE <i>PLUKENETIA POLYADENIA</i> DA PLANTA	36
3.2	ANIMAIS	36
3.3	ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE ÓLEO VIA ORAL	36
3.3.1	Análise nutricional de peso e ingesta de ração	37
3.4	ANÁLISE BIOQUÍMICA	37
3.5	ANÁLISE HISTOLÓGICA	38
3.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA	39
3.6.1	Animais	39
3.6.2	Drogas e produtos químicos	39

3.6.3	Contorção induzida por ácido acético	39
3.6.4	Teste da placa quente	40
3.6.5	Teste da formalina	40
3.6.6	Avaliação do mecanismo de ação	40
3.7	ANÁLISE COMPORTAMENTAL	41
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
4	RESULTADOS	42
4.1	ANÁLISE DO ÓLEO <i>PLUKENETIA POLYADENIA</i>	42
4.2	ANÁLISE NUTRICIONAL DO PESO	42
4.3	ANÁLISE NUTRICIONAL DA INGESTA DE RAÇÃO	43
4.4	ANÁLISE BIOQUÍMICA	43
4.4.1	Perfil Lipídico	43
4.5	ANÁLISE HISTOLÓGICA	44
4.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA	58
4.6.1	Contorção induzida por ácido acético	59
4.6.2	Teste da placa quente	60
4.6.3	Teste da formalina	61
4.6.4	Avaliação do mecanismo de ação do <i>Plukenetia polyadenia</i>	61
4.7	ANÁLISE COMPORTAMENTAL	61
5	DISCUSSÃO	62
6	CONCLUSÃO	67
	REFERÊNCIAS	68
	ANEXOS	78
	APÊNDICES	80

1 INTRODUÇÃO

1.1 SOMESTESIA E NOCICEPÇÃO

O sistema nervoso apresenta várias estruturas interconectadas que são convenientemente divididas em sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico. O primeiro é composto pelo encéfalo e pela medula espinhal e o segundo por nervos que se estendem entre o encéfalo e a medula espinhal, e os músculos corporais, glândulas e órgãos dos sentidos. Os neurônios, que são a unidade básica deste sistema, operam gerando sinais elétricos que se movem de uma parte a outra na mesma célula ou para uma célula vizinha. Os neurônios aferentes são os que conduzem informações dos tecidos e órgãos do corpo para o sistema nervoso central, os neurônios eferentes são os que conduzem informações do sistema nervoso central para as células efetoras, e por fim, os interneurônios são os que conectam neurônios dentro do SNC (WIDMAIER, 2006).

Os neurônios aferentes possuem receptores sensoriais que detectam aspectos úteis de fenômenos ambientais ao SNC. Esta interação recebe o nome de estímulo, e o efeito deste estímulo pode levar a uma resposta, que se for de forma proveitosa é chamado de transdução sensorial. A forma pela qual ocorre a transdução sensorial varia conforme o tipo de receptor. O sistema somatossensorial apresenta vários tipos de receptores sensoriais, como por exemplo, os nociceptores que respondem a estímulos que ameaçam ou danificam o organismo. Existem os nociceptores mecânicos A δ (supridos por fibras aferentes mielinizadas finas que respondem a estímulos mecânicos fortes) e os nociceptores polimodais C (supridos por fibras amielínicas que respondem a vários tipos de estímulos nocivos, incluindo mecânicos, térmicos e químicos) (LEVY; BERNE, 2006).

1.1.1 Homeostase somestésica

É o que mantém o organismo no estado de bem-estar ou conforto. Quando um estímulo altera mais severamente a homeostase somestésica o organismo é conscientemente levado ao ato de remoção da causa do desconforto, que pode ou não ser acompanhada de uma sensação dolorosa. Sendo assim, a dor passa a ser um constituinte geral de desconforto. A

informação somestésica ocorre quando os receptores informantes são excitados, por exemplo, após uma lesão ou um estímulo de intensidade supramáxima. Estes receptores são conhecidos por: mecanorreceptores (tato, pressão e vibração), termorreceptores (frio e calor) e quimiorreceptores (“sensação química”) (DOUGLAS, 2006).

1.1.2 Receptores (potenciais geradores)

Em resposta a um estímulo ambiental, as terminações nervosas sensitivas produzem alterações locais graduadas do potencial de membrana. Essas alterações de potencial em resposta à estimulação ambiental denominam-se potenciais geradores ou receptores porque servem para gerar potenciais de ação que são conduzidos continuamente da periferia para o SNC. Durante um estímulo é produzido um potencial gerador proporcional à intensidade do estímulo. Depois de atingido o limiar de despolarização, o aumento da amplitude do potencial gerador acarreta aumento da frequência com que os potenciais de ação são produzidos (FOX, 2007).

A ativação de uma fibra sensorial é uma condição necessária, mas não se constitui em uma condição suficiente para que se possa perceber o estímulo conscientemente, ou esboçar alguma resposta comportamental a ele. Sendo assim, o limiar para detecção perceptiva de um estímulo somestético é denominado limiar psicofísico, diferente do limiar associado à ativação de uma fibra aferente, denominado limiar biofísico. Vale ressaltar que a intensidade psicofísica não é meramente proporcional à frequência da descarga (CAMPBELL; MEYER, 2006).

1.2 DOR

A dor pode ser descrita como uma experiência emocional de sensação desagradável relacionada com a lesão tecidual (MILLAN, 1999). A dor é um sintoma clínico importante para a detecção e avaliação da doença, para induzir um comportamento de precaução e conseqüentemente limitar os possíveis danos.

A dor é uma percepção, uma experiência sensorial e emocional desagradável mediada pelo sistema nervoso central no qual possui receptores sensoriais especializados em certos tecidos, os nociceptores, ativados por danos nocivos aos tecidos periféricos (LENT, 2005).

A ativação do nociceptor é modulada por substâncias químicas locais, como histamina, prostaglandinas e K^+ , que são liberadas na ocorrência de dano tecidual. Estas substâncias químicas medeiam à resposta inflamatória no local da lesão e ativam ou sensibilizam nociceptores diminuindo seu limiar de ativação, o que favorece o aumento da sensibilidade à dor no local do dano, chamado de dor inflamatória (SILVERTHORN, 2010). Esta resposta mais intensa pode levar à hiperalgesia, que é caracterizada por um aumento da intensidade da dor. Esta é definida como o aumento da resposta a um estímulo nocivo e se manifesta com aumento da sensibilidade à dor (TREEDE et al, 1992; CAMPBELL; MEYER, 2006).

A ativação de interneurônios pelos aferentes nociceptores pode causar o que se chama de dor referida, na qual a dor é sentida em outros locais (vísceras) que não o tecido lesado ou doente. Isto acontece porque as aferências viscerais e somáticas com frequência se convergem sobre os mesmos neurônios na medula espinhal (WIDMAIER, 2006). A dor caracterizada pela sua localização bem definida e precisa é a dor trigeminal, é uma dor fulgurante e de intensidade elevada. Já a dor talâmica, tipo queimadura, apresenta localização indefinida e é conhecida por dor difusa (DOUGLAS, 2006).

A dor pode ser classificada em dois tipos principais: a dor rápida e a dor lenta. A primeira é sentida dentro de 0,1 segundo após o estímulo doloroso. A segunda começa somente após um segundo ou mais e aumenta lentamente. A dor rápida também é conhecida como dor pontual, dor em agulhada, dor aguda e dor elétrica. A dor lenta também pode ser conhecida por outros nomes, como dor em queimação, dor persistente, dor pulsátil, dor nauseante e dor crônica (GUYTON; HALL, 2006).

A dor também acompanha uma reação neurovegetativa de intensidade e características variáveis: hipertensão, taquicardia, sudorese, pele branca ou rubicunda, pele fria e úmida (ou quente), modificações da respiração, modificações do diâmetro pupilar, mudanças na motricidade gastrointestinal e inibição das secreções digestivas e exócrinas em geral (DOUGLAS, 2006).

1.2.1 Substâncias algésicas e analgésicas

Além da origem central ou neurogênica da dor, a mesma pode ser provocada por estímulos que agem sobre receptores diversos. Porém, os agentes algícos possuem características comuns para gerar a resposta algíca: provocam hipóxia celular. Assim, liberam-se das células lesadas substâncias químicas (algéicos endógenos), também de natureza variada, que podem evocar a resposta dolorosa pela estimulação de quimiorreceptores (DOUGLAS, 2006).

As principais substâncias que ativam o tipo químico de dor são: bradicinina, serotonina, histamina, íons potássio, ácidos, acetilcolina e enzimas proteolíticas. Além disso, as prostaglandinas e a substância P aumentam a sensibilidade das terminações nervosas (LE BARS et al., 2001). Estes mediadores estão intimamente relacionados com o processo inflamatório e algumas dessas substâncias alteram a excitabilidade neuronal por interagirem diretamente com canais iônicos na membrana dos nociceptores (prótons, ATP e serotonina, por exemplo), enquanto que outras (bradicinina e fator de crescimento nervoso) ligam-se a receptores metabotrópicos e exercem seus efeitos por meio de uma cascata intracelular mediada por segundos mensageiros (CONSTANZO, 2011).

As prostaglandinas aumentam bastante a resposta do receptor a estímulos nocivos (SHERWOOD, 2011). Após a lesão tecidual, o ácido aracdônico é liberado dos fosfolípidios da membrana, por fosfolipases. As prostaglandinas e os leucotrienos são produzidos pela degradação do ácido aracdônico, pela ciclo-oxigenase e pela lipo-oxigenase, respectivamente (DAVIES; BLAKELEY; KIDD, 2002). Foram descritas duas isoformas relacionadas das enzimas ciclo-oxigenases: a ciclo-oxigenase-1 (COX-1) que é responsável pela produção fisiológica de prostanoides, e a ciclo-oxigenase-2 (COX-2) que provoca a produção elevada de prostanoides em locais de doença e inflamação. A COX-1 regula os processos celulares normais, como a citoproteção gástrica, a homeostase vascular, a agregação plaquetária e a função renal. A COX-2 é expressa de maneira constitutiva em tecidos, como cérebro, rins e ossos. Diferentemente da COX-1, a expressão de COX-2 é inibida pelos glicocorticoides, e esta apresenta um canal de substrato maior e mais flexível, além de um espaço maior no sítio de ligação dos inibidores (FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010).

Pela destruição celular (anóxia) é favorecida a condição necessária para a formação de plasmacinas (bradicinina) no plasma, pela ação de uma enzima hidrolase tripsina-símile, que atua na fração α_2 -globulina do plasma. A bradicinina é o peptídeo mais ativo como agente algéico, mas outros peptídeos da mesma família das plasmacinas também evocam respostas dolorosas, que possuem em comum a presença de cadeia

nonapeptídica com a mesma sequência de aminoácidos da bradicinina. Deve-se ressaltar que a bradicinina é controlada pelas prostaglandinas, especialmente PGE2 (DOUGLAS, 2006).

A bradicinina ativa vias de dor lenta e os compostos relacionados não provocam apenas dor, mas também contribuem para as respostas inflamatórias à lesão do tecido (SHERWOOD, 2011). Os vasos ficam mais permeáveis, e, conseqüentemente, ocorre edema local e hiperemia da pele. Próximos do local da lesão os mastócitos liberam histamina, que ativa diretamente os nociceptores (COSTANZO, 2007).

Dois importantes neurotransmissores da dor são a substância P e o glutamato. A substância P é responsável por ativar vias ascendentes que transmitem sinais nociceptivos a níveis superiores, enquanto que o glutamato é um grande neurotransmissor excitatório, atuando em dois receptores diferentes da membrana plasmática dos interneurônios excitatórios do corno dorsal. Por meio do glutamato ocorre a geração de potenciais de ação nas células do corno dorsal, que transmitem a mensagem de dor a centros superiores. O glutamato também favorece a entrada de cálcio nos neurônios, o que torna a célula do corno dorsal mais excitáveis que o normal. Isto explica, parcialmente, a sensibilidade exagerada de uma área ferida à exposição subsequente a estímulos dolorosos ou até de um leve toque (FABRINI-SANTOS, 2010).

Atualmente, sabe-se que outro neurotransmissor também é importante na gênese da sensação dolorosa, é o peptídeo relacionado com o gene calcitonina ou CGRP, podendo inclusive ser o mecanismo químico fundamental na produção da dor. Além deste papel neurotransmissor, o CGRP participaria em outras etapas da sensação dolorosa, como nas vias aferentes do tálamo e formação reticular mesencefálica (DOUGLAS, 2006).

Quadro 1 – Substâncias algésicas participantes na produção da nocicepção

Peptídeos	Bradicinina (a plasmacinas) Taquicinas; substância P CGRP, ou peptídeo associado ao gene da calcitonina CK, colecistocinina Gelanina Somatostatina, SS VIP, peptídeo vasoativo intestinal
Monoaminas	Histamina Serotonina, 5-hidroxitriptamina
Espécies reativas de nitrogênio	Óxido nítrico, NO NOS, óxido nítrico sintetase
Citocinas	Interleucina, IL-1 β

	TNF α , fator necrotizante tumoral IFN γ , interferon- γ NGF, fator de crescimento nervoso Além de outros GFs
Derivados do ácido aracdônico	PGE $_2$, prostaglandinas Leucotrienos, LTC $_4$ LTD $_4$

Fonte: Douglas (2006).

1.2.2 Receptores da dor

A ativação dos nociceptores inicia respostas de adaptação que protegem o indivíduo. A dor nociceptiva é mediada por terminações nervosas livres que apresentam canais iônicos sensíveis a vários estímulos químicos, mecânicos e térmicos.

a) Nociceptor termossensitivo: é ativado por temperaturas acima de 45°C e no congelamento.

b) Nociceptor mecanossensitivo: são de alto limiar, sendo excitados mediante deformação nociva.

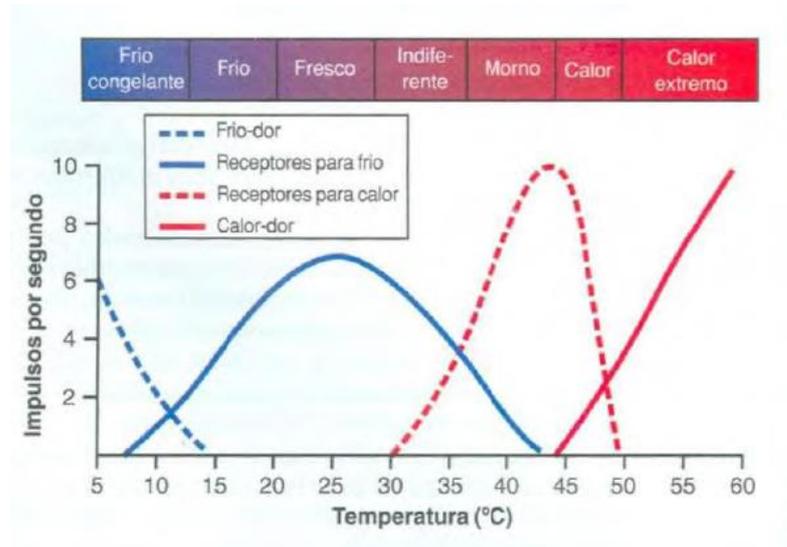
c) Nociceptores quimiossensitivos: excitados por substâncias químicas algésicas, também liberadas na lesão tecidual.

Sugere-se que os quimiorreceptores da dor estejam localizados no tecido conectivo pericapilar ou perivenular. Estes quimiorreceptores parecem ser terminações nervosas livres, sem mielina, do tecido conectivo, localizados nos capilares e vênulas, e são excitados por substâncias químicas diversas (K $^+$, aminas, peptídeos). Os sítios ativos destes receptores seriam ricos em elétrons (aniônicos), em contrapartida os agentes algésicos estão carregado de eletropositividade. Isto sugere que haja uma atração eletrofílica entre os receptores e os agentes algésicos. Desta forma, os receptores químicos da dor não seriam exatamente receptores, e sim axônios amielínicos onde agem os agentes algésicos (FABRINI-SANTOS, 2010).

Os termorreceptores encontram-se localizados abaixo da pele e são constituídos por terminações livres indiferenciadas histologicamente, existindo uma distribuição não homogênea dos receptores de calor e frio, a membrana dos termorreceptores tem a propriedade de produzir potenciais receptores quando a temperatura do tecido se afasta da temperatura corporal normal em torno de 36 – 37°C. Os sinais de calor são transmitidos pelas

fibras C, sendo sensível a temperaturas estáveis entre 40°C a 45°C. O receptor do frio responde a temperatura cutânea quando decresce em relação à temperatura basal, possui uma sensibilidade a perda de temperatura mais baixa que 25°C cessando ao redor de 10°C, estes sinais são transmitidos por uma terminação mielóide fina do tipo de fibra A δ . Os receptores ativados nos extremos de temperatura, ao ultrapassar os 45°C começa a haver lesão tecidual e em temperaturas baixas de 10°C torna-se um forte anestésico ativando assim estes extremos de temperatura os receptores de dor (BEAR, 2008).

Gráfico 1 - Sensibilidade dos receptores para calor e frio, indicando a frequência de atividade da fibra aferente, nos extremos do calor e frio os receptores geram sensações de dor.



Fonte: Guyton e Hall (2006).

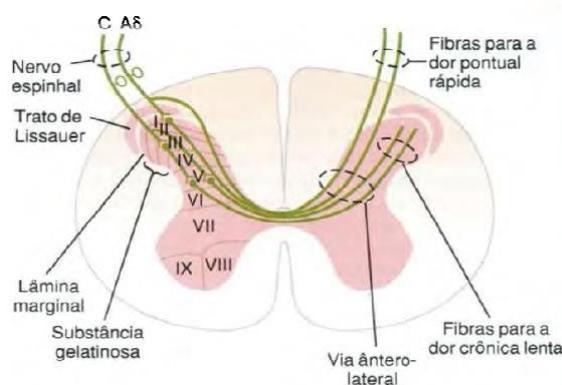
1.3 VIAS PARA TRANSMISSÃO DOS SINAIS DOLOROSOS AO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Toda sensação somática, bem como a dor, segue as vias somatossensoriais comuns. As aferências penetram na medula ou ponte através de raízes posteriores. O corno dorsal é a primeira estação intermediária que leva à formação de vias ascendentes longas, o cordão ântero-lateral e a coluna dorsal, e, por fim, conexões sinápticas para o encéfalo (MELO; DICKENSON, 2008).

Apesar de todos os receptores para dor serem terminações nervosas livres existe duas vias separadas para a transmissão de sinais dolorosos ao sistema nervoso central, e

correspondem aos dois tipos de dor: rápida e lenta. A dor aguda é desencadeada por estímulos mecânicos ou térmicos, transmitidos através de fibras A δ (maior velocidade), e a dor lento-crônica, desencadeada principalmente por estímulos químicos, é transmitida para a medula espinhal através de fibras tipo C (menor velocidade). Ao entrarem na medula espinhal, as fibras da dor terminam em neurônios-relé nos cornos dorsais (FABRINI-SANTOS, 2010). Na medula espinhal os sinais dolorosos bifurcam-se no trato neoespinalâmico e o trato paleoespinalâmico. No trato neoespinalâmico as fibras A δ terminam principalmente na lâmina I dos cornos dorsais e excitam os neurônios de segunda ordem, esta resposta cruza para o lado oposto da medula e ascendem para o encéfalo. Estas transmitem principalmente as dores mecânicas e térmicas agudas. A via paleoespinalâmica transmite a dor pelas fibras C, que terminam na medula espinhal nas lâminas II e III do corno dorsal, cujo nome é substância gelatinosa, o sinal passa através de neurônios de fibra curta antes de entrar na lâmina V também no corno dorsal (DOSTROVSKY; CRAIG, 2006).

Figura 1 - Transmissão dos sinais dolorosos “rápido” e “lento” para a medula espinhal e através dela em direção ao encéfalo.



Fonte: Guyton e Hall (2006).

Provavelmente, a discriminação sensorial da dor depende de projeções espinotalâmicas e trigeminotalâmicas para os núcleos ventrais-póstero-laterais (VLP) e ventrais-póstero-mediais (VPM). O processamento sensorial no tálamo e em níveis superiores do córtex cerebral irá resultar na percepção da qualidade da dor, da localização do estímulo doloroso, da intensidade da dor e da duração da dor. As respostas afetivo-emocionais dependem também dos tratos espinorreticular e espinomesencefálico, incluindo as áreas corticais do giro do cíngulo e a ínsula. Mais recentemente foram também descobertas vias que conectam a medula espinhal diretamente a áreas límbicas, como a amígdala, sem a sinapse talâmica (BERNE et al, 2004).

1.3.1 Modulação da dor

A dor pode ser modulada, ou seja, pode ser atenuada ou exagerada de acordo com os propósitos que visa a nocicepção concebida como mecanismo basicamente protetor (DOUGLAS, 2006). Os neurônios do trato espino-talâmico apresentam campos receptivos inibitórios, e assim, ativando esses mecanismos inibitórios, pode ser útil para o alívio da dor. Em teoria, um estímulo inócuo pode inibir as respostas dos neurônios do corno dorsal que transmite a informação para o encéfalo. A teoria chamada de “controle do portão da dor” afirma que a transmissão da dor pode ser prevenida por estímulos inócuos mediados pelas grandes fibras aferentes mielinizadas, enquanto que a transmissão da dor pode ser aumentada por estímulos que são mediados através de fibras aferentes finas. Os interneurônios inibitórios no corno dorsal servem como um mecanismo de controle (FIELDS; BASBAUM; HEINRICHER, 2006).

Outro componente do mecanismo de comporta da dor tem origem na substância cinzenta periaquedutal (PAG), assim chamada por contornar o aqueduto cerebral. A PAG recebe informações de várias regiões do encéfalo relativas ao estado emocional e posteriormente manda essas informações, por projeções descendentes, para a ponta dorsal da medula espinhal, onde elas, de forma efetiva, deprimem a atividade dos neurônios nociceptivos. É por meio desta via que a emoção intensa ou o estresse pode atenuar a percepção da dor. Nesta via foi encontrada uma substância neurotransmissora semelhante a morfina, chamada de endorfina (JOHNSON, 2000).

As endorfinas, encefalinas e dinorfina são opióides endógenos importantes no sistema analgésico natural do organismo e atuam como neurotransmissores analgésicos. A vinculação da encefalina, no interneurônio inibitório do corno dorsal, ao término da fibra aferente de dor suprime a liberação da substância P por meio da inibição pré-sináptica, bloqueando assim as transmissões do sinal de dor. A morfina liga-se a esses mesmo receptores opióides, e, além disto, sugere-se que opióides endógenos também são liberados centralmente para bloquear a via descendente supressora de dor, pois a injeção de morfina na massa cinzenta periaquedutal e no bulbo causa analgesia profunda (SHERWOOD, 2011).

Os soldados no campo de batalha, os atletas em competição, as vítimas de acidentes e outros indivíduos que enfrentam situações estressantes sentem, muitas vezes, pouca ou nenhuma dor no momento de ocorrência da lesão ou da fratura óssea. Mais tarde, entretanto, a dor pode ser grave. Embora as vias reguladoras descendentes responsáveis pelo controle da dor sejam parte integrante do sistema centrífugo mais

geral incumbido pela modulação de todos os tipos de sensação, o sistema de controle da dor é tão importante a ponto de ser reconhecido como um sistema especial de analgesia endógena (LEVY; BERNE, 2006, p. 101).

O sistema de analgesia endógena pode ser dividido em vias que liberam ou não opióides endógenos (encefalinas, dinorfina, a β -endorfina e as endomorfina). A analgesia opióide pode geralmente ser antagonizada pelo uso da naloxona (antagonista narcótico), utilizada para testar se a analgesia é mediada ou não por um mecanismo opióide.

Além da substância cinzenta periaquedutal outras regiões do sistema nervoso também estão associadas ao processamento da sensibilidade dolorosa, como por exemplo, conexões com os núcleos da rafe, com o núcleo do trato solitário (NTS) e com o hipotálamo, que possibilitam a integração da sensibilidade dolorosa com respostas vegetativas e neuroendócrinas. Os circuitos neurais do corno posterior da medula também desempenham um papel importante na modulação da aferência nociceptiva, uma vez que as projeções descendentes serotoninérgicas e adrenérgicas fazem contato com dendritos tanto de neurônios de projeção espinotalâmicos quanto de interneurônios inibitórios (FIELDS; BASBAUM; HEINRICHER, 2006).

Nos núcleos da rafe, muitos neurônios liberam serotonina como um neurotransmissor. A serotonina é capaz de inibir os neurônios nociceptivos desempenhando um papel importante na analgesia endógena. No tronco encefálico, outros neurônios liberam as catecolaminas como a norepinefrina que também inibem os neurônios nociceptivos (MAURER-SPUREJ; PITTENDREIGH; SOLOMONS, 2004)

A modulação nociceptiva é realizada por mecanismos diversos que integram o sistema antinociceptivo, que opera em diversos níveis do neuroeixo. A estimulação nociceptiva gera impulsos nervosos que são transmitidos a três sistemas medulares:

- a) Substância gelatinosa: localizada no corno dorsal ou posterior (lâminas 2 e 3).
- b) Sistema da coluna dorsal: seus axônios projetam impulsos para os centros superiores.
- c) Células T do corno dorsal (lâminas 4 e 5): constitui a primeira fase de transmissão central ou de ação nociceptiva.

A sensação de dor seria, então, modulada por estes três sistemas (DOUGLAS, 2006). O corno dorsal da substância cinzenta da medula espinhal é dividido em seis camadas ou lâminas numeradas, com base em sua aparência. Os aferentes da dor terminam nas lâminas I e II, e as fibras A δ têm projeções para as lâminas mais profundas. A lâmina II é a substância gelatinosa, pela sua aparência translúcida ao microscópio óptico (DAVIES; BLAKELEY;

KIDD, 2002). Na substância gelatinosa são encontradas pequenas células que formam uma unidade funcional ao longo da espinha, e estão ligadas entre si por curtas fibras de associação e também por outras fibras mais compridas. As fibras de associação da substância gelatinosa têm como finalidade modular a atividade sináptica dos impulsos nervosos aferentes que se dirigem às células centrais sensoriais (DOUGLAS, 2006).

As fibras grossas de condução rápida chegam até o corno dorsal (lâminas 4 e 5) e ativam as células T, que por sua vez, descarregam seguindo a via centrípeta. As mesmas fibras grossas enviam impulsos colaterais que facilitam a ação da substância gelatinosa, e através das fibras curtas, as células gelatinosas inibem pré-sinápticamente a atividade das células T. Ou seja, quando um estímulo de pressão leve é aplicado à pele, os impulsos predominantes percorrem as fibras grossas, que, além de estimular as células T, fecham a porta de entrada pela estimulação da substância gelatinosa, que, assim, inibe pré-sinápticamente as células T (KOHNO et al, 1999)

1.4 SISTEMAS DE ANALGESIA

1.4.1 Analgésicos

Os analgésicos são agentes que minimizam a dor, uma vez que aumentam o limiar da dor sem alterar o nível de consciência ou outras modalidades sensoriais. Um mecanismo pelo qual alguns analgésicos aliviam a dor é baseado na existência de receptores opióides em porções selecionadas do SNC relacionadas à regulação da dor. Os agentes analgésicos ativam certos receptores opióides que podem estar localizados no tálamo medial (que processa a dor profunda, crônica, em caráter de queimação), nos núcleos do vago do tronco cerebral (onde a tosse é deflagrada), e nas camadas I e II da medula espinhal (ponto onde os nervos aferentes de percepção da dor fazem a primeira sinapse). Alguns receptores opióides também são encontrados na amígdala (importante na regulação das emoções) (GENNARO, 2012).

1.4.1.1 Analgésicos Opióides

Os analgésicos opióides são usados há muitos anos no tratamento da dor aguda e crônica. Estes agentes passaram a ser utilizados em larga escala desde a identificação da morfina, em 1817, e a descoberta de outros alcaloides do ópio (SILVA, 2010). A papoula constitui a fonte do ópio, da qual foi isolado o alcaloide puro morfina, em 1803. A morfina é o protótipo dos agonistas opióides e continua sendo o padrão até hoje para comparar todas as drogas com acentuada ação analgésicas (ROSS et al. 2006; STEFANO et al. 2005; WALDHOER et al, 2004).

1.4.2 Peptídeos Opióides Endógenos

São ligantes naturais para receptores específicos, que abrange três grandes famílias: endorfinas (“morfina endógenas”), encefalinas (“com origem no cérebro”) e dinorfinas (originada de precursores polipeptídicos distintos: pré-pró-opiomelanocortina ou POMC, pré-pró-encefalina, e pré-pró-dinorfina). O peptídeo opióide principal derivado da POMC é a β -endorfina, mas produz também vários peptídeos não-opioides, o incluindo o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), a β -lipotropina e o hormônio melanócito estimulante. A partir da pró-encefalina, originam-se a leu-encefalina e a met-encefalina, e a partir da pró-dinorfina, a dinorfina A, a dinorfina B e as neoendorfinas (com alta afinidade e seletividade por receptores μ) (FUCHS; WANNMACHER; FERREIRA, 2006;).

1.4.2.1 Receptores Opióides

São classificados em cinco tipos: μ (mu), κ (kappa), δ (delta), σ (sigma), e ϵ (épsilon). Alguns desses receptores são subdivididos em vários subtipos: μ_1 , μ_2 , κ_1 , κ_2 , κ_3 , δ_1 , δ_2 . Alguns receptores quando acionados provocam analgesia em nível supraespinhal (μ_1 e κ_3) e espinhal (μ_2 e κ_1). Entretanto, quando os receptores sigma são estimulados ocorrem alterações comportamentais como euforia, alucinações, delírio e efeitos cardíacos. Experimentos com

animais mostraram que a ativação de receptores delta podem potencializar a analgesia induzida por receptores mu (SILVA, 2010).

Os três tipos de receptores opióides fazem parte da família de receptores acoplados à proteína G e inibem a adenilciclase. Estes receptores também estão associados a canais iônicos hiperpolarizando a célula pelo efluxo pós-sináptico de K^+ , ou impedindo o disparo neuronal e a liberação do transmissor pelo influxo pré-sináptico de Ca^{2+} (FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010). Os principais efeitos farmacológicos dos opiáceos estão resumidos no quadro 2.

Quadro 2 – Efeitos funcionais associados aos principais tipos de receptores opióides.

	μ	δ	K
Salto			
Supra-espinal	+++	-	-
Espinal	++	++	+
Periférica	++	-	++
Depressão respiratória	+++	++	-
Constricção pupilar (miose)	++	-	+
Redução da motilidade gastrointestinal	++	++	+
Euforia	+++	-	-
Disforia	-	-	+++
Sedação	++	-	++
Dependência física	+++	-	+

Fonte: Rang et al (2007).

1.4.3 Classificação dos Opióides

De acordo com Silva (2010), os opióides podem ser classificados em agonistas, antagonistas parciais, agonistas-antagonistas e antagonistas:

a) Agonistas: drogas que possuem alta afinidade com o receptor, e alta atividade intrínseca. Exemplos: morfina e codeína.

b) Antagonistas parciais: drogas que possuem baixa eficácia, ou seja, sua curva-dose-resposta produz um efeito teto menor que o máximo obtido com o agonista puro. Ou seja, o aumento de sua dose, não necessariamente resulta em aumento da resposta analgésica. Exemplos: buprenorfina e propoxifeno.

c) Agonista-antagonista: produz um efeito agonista em um tipo de receptor e uma ação antagonista em outro tipo de receptor. Exemplos: nalbufina e pentazocina.

d) Antagonista: não possui atividade farmacológica intrínseca, mas pode interferir na ação de um agonista. Os antagonistas podem competir pelo mesmo receptor opióide ou não. Exemplos: naloxona e naltrexona.

1.4.4 Morfina

É um agente analgésico, antitussígeno, adjuvante na anestesia e antidiarreico inespecífico. Além de potente analgésico, suprime a ansiedade e a apreensão, e tem afinidade para os receptores μ . É usada em doses pequenas a moderadas para o alívio da dor surda constante, e em doses moderadas a grandes para aliviar a dor aguda intermitente de origem traumática ou visceral. Em humanos, o efeito analgésico máximo ocorre em cerca de 20 minutos após injeção intravenosa, 50 a 90 minutos após injeção subcutânea e 30 a 60 minutos após injeção intramuscular. Quando administrada por via oral, é absorvida rápida, mas incompletamente e metabolizada igualmente rápido até glicuronídeo (GENNARO, 2012).

1.4.4.1 Efeitos da Morfina e seus substitutos sobre sistemas de órgãos

De acordo com Katzung (2005), a morfina e seus substitutos podem causar efeitos significativos sob o sistema nervoso central e periférico.

A. Efeitos sobre o sistema nervoso central:

a. Analgesia: os analgésicos opióides podem reduzir tanto os aspectos sensitivos como os efetivos da experiência dolorosa.

b. Euforia: sensação flutuante agradável com redução da ansiedade e do desconforto.

c. Sedação: sonolência ou turvação da consciência, com pouca ou nenhuma amnésia.

d. Depressão respiratória: ao inibir os mecanismos respiratórios do tronco encefálico.

e. Supressão da tosse: supressão do reflexo da tosse que, em contrapartida, pode propiciar o acúmulo de secreções e, assim, resultar em obstrução das vias aéreas e atelectasia.

f. Miose: constrição das pupilas, importante para o diagnóstico de superdosagem de opióides.

g. Rigidez do tronco: decorrentes de uma ação em níveis supraespinhais. A rigidez do tronco diminui a complacência torácica e, assim, interfere na ventilação.

h. Náusea e vômitos: ao ativar a zona de gatilho quimiorreceptora do tronco encefálico.

B. Efeitos periféricos:

a. Sistema cardiovascular: a maioria dos opióides não exerce efeitos diretos significativos sobre o coração, nem sobre o ritmo cardíaco.

b. Trato gastrointestinal: efeito constipante através de uma ação sobre o sistema nervoso entérico local.

c. Trato biliar: contração do músculo liso biliar, podendo causar cólica biliar.

d. Renal: depressão da função renal, provavelmente por uma redução do fluxo plasmático renal.

e. Útero: diminuição do tônus uterino.

f. Neuroendócrino: estimulação da liberação de ADH, prolactina e somatotropina, e inibição do hormônio luteinizante.

g. Prurido: produção de rubor e calor na pele, acompanhados algumas vezes de sudorese e prurido.

h. Outros efeitos: podem modular as ações do sistema imune.

1.4.5 Analgésicos não-opióides

Os analgésicos não-opióides possuem propriedades analgésica, antitérmica e anti-inflamatória no organismo, relacionadas à inibição do sistema enzimático das ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) que converte o ácido aracdônico em prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina. As prostaglandinas, em especial a PGE2, tornam o nociceptor periférico sensível à ação da bradicinina e da histamina, que estimula as terminações nervosas e promove a reação inflamatória local, respectivamente. Salicilatos e outros antiinflamatórios não-esteróides (AINEs) evitam a sensibilização dos receptores de dor (FUCHS; WANNMACHER; FERREIRA, 2006).

1.5 ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO-ESTERÓIDES (AINES)

São um grupo de fármacos quimicamente heterogêneo que se diferenciam na sua atividade antipirética, analgésica e anti-inflamatória. A principal forma de atuação dos AINEs é por meio da inibição das enzimas ciclo-oxigenases que catalisam o primeiro estágio da biossíntese de prostanoídes. O resultado é a redução da síntese de prostaglandinas, com efeitos desejados e indesejados (FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010).

De acordo com Hang et al (2007) todos os AINEs em maior ou menor grau podem trazer alguns efeitos adversos, baseados em seu mecanismo de ação, como por exemplo:

- Irritação gástrica, pela inibição da COX-1 gástrica que é responsável pela síntese de prostaglandinas que normalmente inibem a secreção de ácido e protegem a mucosa;
- Efeitos sobre o fluxo sanguíneo renal, pela inibição da biossíntese de PG2 que atua na vasodilatação compensatória renal;
- Inibição da função plaquetária, prolongando sangramentos;
- Aumentar a probabilidade de eventos trombóticos.

O quadro 3 apresenta a lista de anti-inflamatórios não-esteroides de uso corrente e sua via de inibição.

Quadro 3 – AINEs de uso corrente

INIBIDORES NÃO-SELETIVOS DE COX
DERIVADOS DO ÁCIDO SALICÍLICO Ácido acetilsalicílico Diflunisal Salicilatos não-acetilados: salicilato de sódio, trissalicilato de colina e magnésio, salsalato, ácido salicilsalicílico
ÁCIDOS INDOLACÉTICOS Indometacina Sulindaco
ÁCIDOS HETEROARILACÉTICOS Tolmelina Diclofenaco Cetorolaco
ÁCIDOS ARILPROPIÔNICOS Naproxeno Ibuprofeno Fenoprofeno Cetoprofeno Flurbiprofeno Oxaprozina
ÁCIDOS ANTRANÍLICOS

Ácido mefenâmico Ácido meclofenâmico
ÁCIDOS ENÓLICOS Piroxicam Meloxicam
ALCANONAS Nabumetona
INIBIDORES SELETIVOS DE COX-2 Rofecoxib Colecxib Parecoxib Valdecoxib
ÁCIDO INDOLACÉTICO Etodolaco
SULFONANILIDA Nimesulida

Fonte: Fuchs; Wannmacher; Ferreira (2006).

1.6 MODELOS EXPERIMENTAIS DE ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

1.6.1 Teste da Formalina

O teste de formalina é um modelo mundialmente utilizado para avaliar a nocicepção em roedores (ABBOTT; FRANKLIN; WESTBROOK, 1994). Apresenta duas fases distintas de nocicepção, a primeira fase ocorre imediatamente após a aplicação intraplantar da solução de formalina (cinco minutos iniciais) e a segunda fase corresponde aos vinte minutos após a injeção. A formalina é injetada na pata traseira de camundongos para determinar uma série de respostas motoras bem definidas que permite avaliar a intensidade da resposta nociceptiva. As duas fases do teste têm mediação química, porém a primeira fase possui caráter neurogênico, sensível à analgésico opióides e à alguns agonistas das vias descendentes. A segunda fase caracteriza a dor de origem inflamatória, sendo sensíveis à analgésicos antiinflamatórios não-esteroidais (DUBBUINSON; DENNIS, 1977).

1.6.2 Teste da Placa Quente

Para verificar a dor térmica, os animais são colocados sobre uma placa aquecida à mais de 50°C para determinar a intensidade da resposta nociceptiva avaliando no animal a troca rápida do apoio dos pés, o levantar e o lambar de uma das patas nos grupos controle e experimental. Este teste fornece resultados consistentes com grupos de 5 a 6 animais para uma boa análise estatística (JAPA et al, 2003).

1.6.3 Teste de Contorções Abdominais induzida por Ácido Acético

Após injeção intraperitoneal de ácido acético que causa um estímulo nociceptivo, é possível verificar a resposta a intensidade da motora por meio da observação de contorções abdominais em camundongos, caracterizada por contração e rotação do abdome, seguida de extensão de uma ou ambas as patas traseiras. Este modelo avalia a dor química, sendo sensível a substâncias analgésicas de ação central e/ou periférica de diferentes mecanismos de ação (JAPA et al, 2003).

1.7 ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS NAS VIAS METABÓLICAS DE INFLAMAÇÃO

Os ácidos graxos são classificados em três grupos diferentes com base em sua estrutura: saturados, monoinsaturados (MUFAs) e ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs). PUFAs são ainda classificados em uma série ômega, conhecidas por ômega-3 e ômega-6, com base sobre a posição da primeira ligação dupla a partir da extremidade do grupo metila. As diferenças estruturais destes ácidos graxos também dão origem a diferenças funcionais, em termos dos seus efeitos sobre o metabolismo e inflamação. Por exemplo, a ingestão de ácido graxo saturado é associada ao aumento do risco de doença cardiovascular, em parte devido à as ações pró-inflamatórias dessas gorduras. Em contraste, os PUFAs possuem propriedades anti-inflamatórias, e a sua ingestão é associado à redução do risco de doença cardiovascular (KALUPAHANA et al, 2010).

No organismo, o ácido linoléico (ômega-6) é convertido em ácido araquidônico (AA) envolvido na via de formação de prostaglandinas. O ácido linolênico (ômega-3), por sua vez, é convertido em ácido eicosapentanóico (EPA), envolvido na via de formação dos leucotrienos e tromboxanos. Se por um lado, os ácidos graxos saturados contribuem para a inflamação do tecido adiposo, possivelmente devido à ativação de TLR-2 e TLR-4, juntamente com a ativação de vias de sinalização pró-inflamatórias incluindo a via de NF- κ B (KENNEDY et al, 2009), por outro lado os ácidos graxos poliinsaturados, principalmente o ômega-3 pode aliviar a inflamação do tecido adiposo em vários animal models da obesidade (KALUPAHANA; CLAYCOMBE; MOUSTAID-MOUSSA, 2011).

O ácido linolênico (ômega-3) funciona como um precursor dos ácidos EPA e DHA (ácido docosahexaenóico). O DHA pode ser convertido em EPA e sua principal função é manter a fluidez da membrana celular a nível do cérebro e da retina. O EPA forma a prostaglandina E3 que está relacionada à diminuição da produção de interleucinas 1, 2, 3 e 6 e do fator de necrose tecidual, à regulação de reações hiperimunes, à redução de LDL, triglicerídeos, além de diminuição de agregação plaquetária e risco de infarto do miocárdio. Os ácidos graxos ômega-6 estão relacionados a vasodilatação, indução de receptores de insulina, inibição de agregação plaquetária, regulação do sistema imunológico, prevenção da mobilização de ácido araquidônico da membrana celular e redução na formação de eicosanóides pró-trombóticos e pró-inflamatórios (RIBEIRO, 2005).

O ômega-3 quando comparado com o ômega-6 (ácido araquidônico), produz menos eicosanóides inflamatórios. Além disso, o ômega-3 reduz competitivamente a formação inflamatória eicosanóide (PGE2) mediada por ácido araquidônico (SIRIWARDHANAA et al, 2013).

1.8 PLANTAS MEDICINAIS: CONTEXTO HISTÓRICO

As plantas medicinais são utilizadas em comunidades tradicionais, como remédios caseiros, e são utilizadas como matéria-prima para fabricação de fitoterápicos e outros medicamentos (LEÃO; FERREIRA; JARDIM, 2007). A planta medicinal é toda planta que quando administrada ao homem ou animal, por qualquer via ou forma, exerce alguma ação terapêutica (LOPES et al, 2005).

A utilização de produtos naturais, com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Nas civilizações mais antigas, já se encontravam indícios do uso de plantas medicinais sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007).

É possível que o registro mais antigo do uso de plantas medicinais tenha sido na China há cerca de 5000 anos a.C. (MARTINS et al, 1995). Já nas antigas civilizações ocidentais o manuscrito egípcio “Papiro de Ebers” registrava em 1500 a.C. diversas espécies vegetais utilizadas na medicina egípcia (ALMEIDA, 2000).

Até o século XIX os recursos terapêuticos eram constituídos basicamente por plantas e extratos vegetais, ilustrado em diversas farmacopeias da época (SCHENKEL; GOSMAN; PETROVICK, 2000). Apesar da medicina já ter avançado bastante a partir do século XX, as plantas ainda são de grande contribuição para a manutenção da saúde e alívio de algumas enfermidades em países em desenvolvimento (SOUZA; FELFILI, 2006), sobretudo, pelas condições de pobreza e a falta de acesso aos medicamentos, associados à fácil obtenção e tradição do uso de plantas com fins medicinais (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005). Atualmente, a nova tendência da ciência é isolar os princípios ativos de diversas plantas para entender sua funcionalidade e seu mecanismo de ação (BRASIL, 2005).

1.8.1 Óleos de plantas com atividade antinociceptiva

As plantas medicinais têm sido utilizadas para o tratamento de diferentes doenças na maioria das culturas. Em um estudo paquistanês de Shah et al (2012) foi realizada uma análise dos constituintes químicos e do potencial antinociceptivo do óleo essencial de *Teucrium Stocksianum* bioss. O óleo essencial foi extraído de partes aéreas de *Teucrium stocksianum* por processo de hidrodestilação e a composição qualitativa e quantitativa de óleo essencial foi determinada com cromatografia gasosa / espectrometria de massa. A atividade antinociceptiva foi determinada pela contorção induzida por ácido acético, no qual 80 mg / kg diminuiu em 93% as contorções abdominais ($p < 0,001$), mostrando excelente atividade antinociceptiva. Os principais componentes encontrados foram δ -cadineno (12,92%), α -pineno (10,3%), mirceno (8,64%), β -cariofileno (8,23%), germacreno D (5,18%) e limoneno (2,36%). Este estudo sugere que a elevada potencia do óleo, inclusive maior que o diclofenaco

de sódio, pode ser devido ao efeito sinérgico dos vários componentes presentes no óleo essencial, mas que sua composição química e, portanto, seus efeitos podem variar na mesma espécie quando cultivadas em regiões e estações diferentes.

No estudo de Lima et al (2012), verificou-se o efeito antinociceptivo da administração por via oral de *Piper aleyreanum* (Eopa) em roedores submetidos aos modelos de formalina. Neste óleo foram identificados 35 compostos, como o Óxido de cariofileno (11,5%), β -pineno (9%), espatulenol (6,7%), canfeno (5,2%), β -elemeno (4,7%), myrtenal (4,2%), verbenona (3,3%) e pinocarvone (3,1 %). A antinocicepção causada por Eopa (100 mg / kg, po) não foi revertida pela naloxona (1 ou 5 mg / kg, ip) no teste de formalina, sugerindo potencial terapêutico antinociceptivo.

Propriedades antinociceptivas também foram encontradas no óleo essencial de *Ocimum micranthum* (EOOM). Em camundongos, EOOM (15-100 mg kg⁻¹, p.o.) reduziu ambas as respostas contorções induzidas por ácido acético e o tempo de lambeo induzido pela formalina, sendo inerte no teste da placa quente. Assim, EOOM exerce analgesia periférica na nocicepção de origem inflamatória (Pinho et al, 2012). O óleo essencial extraído de sementes de *Satureja hortensis* também demonstrou efeito antinociceptivo. A actividade analgésica foi avaliada em ratos machos (25-35 g), utilizando métodos padrão (ácido acético e os testes de formalina). O pré-tratamento dos ratos com 50, 100 ou 200mg /kg, reduziu significativamente contorções abdominais induzidas por ácido acético ($p < 0,001$), demonstrando claramente a actividade analgésica das sementes de *S. Hortensis* (HAJHASHEMI; ZOLFAGHARI; YOUSEFI, 2012).

Em estudo realizado na China, verificou-se que o óleo essencial das raízes de *I. lanceolatum*, obtido por hidrodestilação, demonstrou efeitos significativamente antinociceptivos após o teste com ácido acético. Os componentes principais foram miristicina (17,63%), α -asarona (17,23%), metil isoeugenol (11,19%), apiol (8,82%) e isolongifolol (5,94%). Os resultados indicam que o óleo essencial pode conter os componentes bioativos do *I. Lanceolatum* (LIANG; HUANG; WANG, 2012). No Irã, o óleo essencial de *Nepeta crispa* teve sua actividade antinociceptiva comprovada após estudo com ratos wistar machos. O óleo essencial dependentemente da dose produziu analgesia em modelos de dor aguda, incluindo a retirada da cauda ($p < 0,001$), e a primeira fase do teste de formalina ($p < 0,01$). Na fase final do teste de formalina, como um modelo de dor crónica, o óleo essencial reduziu significativamente o comportamento da dor induzida por ($p < 0,01$) (ALI et al, 2012).

Recentemente, um grupo de pesquisa de Sergipe demonstrou que o óleo essencial de *Lippia gracilis* possui ações antinociceptiva e anti-inflamatória e seu principal componente

identificado foi o timol (RIELLA et al, 2012). Já no Pará, uma planta conhecida popularmente como “carrapatinho” (*Peperomia serpens*) bastante vendida no mercado do Ver-o-Peso também apresentou eficácia analgésica após pré-tratamento oral (62,5-500 mg / kg) de óleo essencial, reduzindo significativamente o número de contorções evocada por injeção de ácido acético, com um valor ED (50), de 188,8mg/kg que foi utilizada posteriormente em todos os testes. Não houve nenhum efeito significativo no teste de placa quente, mas reduziu o tempo a lambar, em ambas as fases do teste da formalina, um efeito que não foi significativamente alterada pela naloxona (0,4 mg / kg, sc). Estes dados demonstram pela primeira vez que o óleo essencial desta planta tem um efeito significativo e periférico antinociceptivo que parece não relacionado com a interação com o sistema opióide (PINHEIRO et al, 2011).

Na última década, dezenas de óleos essenciais de plantas foram pesquisadas em diferentes países com o objetivo de avaliar sua atividade analgésica e antiinflamatória. No Brasil, entre as plantas analisadas com publicação de resultados de nível internacional estão a família *Labiatae* (DE SOUSA et al, 2011), o limão *citrus* (CAMPÊLO et al, 2011), a *citronellal* (QUINTANS-JÚNIOR et al, 2011), a *Hyptis fruticosa* (FRANCO et al, 2011), o alecrim-da-chapada ou *Lippia gracilis* (GUILHON et al, 2011), o canudinho ou *Hyptis pectinata* Poit (RAYMUNDO et al, 2011), a *Ocimum basilicum* L. (VENÂNCIO et al, 2011), a (-)- α -bisabolol (BISA) (LEITE et al, 2011), a *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) (LEITE ET AL, 2010), o (-)-linalool (BATISTA et al, 2010), na Malásia, a *Zingiber zerumbet* (KHALID ET AL, 2011), na Sérvia, a *Choisya ternata* Kunth (RADULOVIĆ et al, 2011), no Irã, a *Bunium persicum* (HAJHASHEMI; SAJJADI; ZOMORODKIA, 2011), no México, a *Hofmeisteria schaffneri* (Asteraceae) (ANGELES-LÓPEZ ET AL, 2010), além de muitos outros países.

1.9 PLUKENETIA POLYADENIA

A amêndoa do fruto pode ser encontrada no Município de Santa Isabel do Pará, possuindo também as seguintes sinonímias: *Elaeophora polyadenia* Ducke, *Elaeophora abutaefia* Ducke e *Plukenetia abutaefia* Ducke. Pertence à família Euphorbiaceae, que é uma das maiores e mais variáveis famílias de dicotiledôneas, com distribuição em todo mundo, mas, sobretudo nos trópicos e subtropicais. Além disto, espécies de *Euphorbiaceae* têm uma

grande importância econômica e social na Região Amazônica devido ao uso frequente da mandioca (*Manihot esculentum*) (RIBEIRO, 2005).

De acordo com os arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, as folhas, as inflorescências e a forma do fruto lembram o gênero *Plukenetia*, e o porte da planta e os grãos parecem com a *Omphalea diandra*, conhecido popularmente como comadre-do-azeite. E por esta semelhança, este óleo foi batizado popularmente de compadre-de-azeite (RIBEIRO, 2005).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Identificar a atividade nutricional e antinociceptiva do óleo *Plukenetia polyadenia* em roedores.

2.2 ESPECÍFICOS

- Investigar em *Ratos wistar* adultos o impacto da administração crônica via oral do óleo *Plukenetia polyadenia* sobre o peso corporal, a ingesta de ração e o perfil lipídico;
- Verificar o efeito toxicológico crônico do óleo *Plukenetia polyadenia* sobre a histologia do coração, pulmão, estômago, fígado, pâncreas, intestinos e rins e o comportamento;
- Analisar em camundongos albinos suíços se o óleo *Plukenetia polyadenia* possui atividade analgésica quando administrado via oral.
- Identificar possíveis mecanismos da atividade analgésica produzida pelo óleo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa trata-se de um estudo experimental, longitudinal, cujos efeitos da administração do óleo *Plukenetia Polyadenia* poderão ser medidos através da comparação do desfecho nos grupos experimental e controle. A metodologia utilizada encontra-se de acordo com diversos estudos nacionais e internacionais sobre a avaliação antinociceptiva de óleos de plantas.

Todos os procedimentos experimentais utilizados foram submetidos e aprovados pelo Comitê Institucional que regulamenta a utilização de animais em pesquisas científicas da Universidade Federal do Pará.

3.1 ÓLEO DE *PLUKENETIA POLYADENIA* DA PLANTA

O óleo foi gentilmente doado pelo Prof. Dr. Guilherme Maia, para estudo farmacológico.

3.2 ANIMAIS

Os animais utilizados para a avaliação nutricional foram provenientes do Biotério da Fundação Instituto Evandro Chagas (Belém, PA) e mantidos no Laboratório de Farmacodinâmica da UFPA, em ambiente climatizado, com ciclo claro/escuro de 12h, tratados com água *ad libitum* e ração balanceada com peso controlado para os grupos experimentais. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPAN) da UFPA, através do parecer BIO058-12 (ANEXO A).

3.3 ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA DE ÓLEO VIA ORAL

Foram utilizados 15 ratos adultos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos, pesando entre 80 e 100g inicialmente, divididos em 3 grupos de n=5 em cada um. O primeiro grupo foi o controle que recebeu diariamente um volume de água destilada e TWEEN 80 1% v/v correspondente a 0,1ml/100g de peso vivo, durante 30 dias consecutivos. O segundo grupo (G100) e o terceiro (G200) receberam diariamente, respectivamente, 100mg.kg.peso de óleo e 200mg.kg.peso de óleo via oral (gavagem), diluídos em água destilada e TWEEN 80 1% v/v durante 30 dias consecutivos. As doses foram administradas de acordo com o peso de cada animal. Nos 30 dias de experimentos os animais foram monitorados quanto a eventuais alterações comportamentais ou de natureza tóxica.

3.3.1. Análise nutricional de peso e ingesta de ração

Diariamente, o peso de cada animal foi registrado, assim como o peso total de cada grupo. A soma do peso dos animais de cada grupo foi utilizada para o preparo da solução com óleo. Toda a ração colocada em cada gaiola foi previamente pesada na mesma quantidade e ofertada sempre no mesmo horário, com intervalo de 24h entre as trocas. Em cada troca, a quantidade de ração não consumida neste período de 24h foi pesada em cada grupo para se calcular a quantidade média de ração ingerida pelos grupos através da diferença entre a quantidade média de ração ofertada e a quantidade média de ração não consumida. Todos os resultados obtidos de peso e consumo alimentar foram tabulados no *software* Excel e analisados estatisticamente utilizando o programa Biostat 5.0, comparando os grupos de experimento com o grupo controle e as diferenças testadas em um nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3.4 ANÁLISE BIOQUÍMICA

Para a realização da análise bioquímica, os animais foram submetidos a um procedimento anestésico para punção cardíaca, com coleta 4ml de sangue, acondicionados em frascos específicos e levados imediatamente a um laboratório de análises clínicas para análise de glóbulos vermelhos, leucócitos, plaquetas, colesterol total, HDL, LDL e triglicérides.

Todos os resultados bioquímicos foram tabulados no *software* Excel e analisados estatisticamente utilizando o programa Biostat 5.0. Uma vez que as medidas não apresentaram distribuição normal foram apresentados testes não paramétricos. O teste U de MAAN-WHITNEY que compara medidas de duas amostras independentes foi aplicado na comparação de cada um dos grupos de experimento com o grupo controle e as diferenças testadas em um nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Após a coleta de sangue para a análise bioquímica, foi realizada a necropsia para coleta de amostras do coração, pulmão, estômago, intestino delgado e fígado contendo um fragmento retangular da região central de cada órgão, medindo aproximadamente 3 cm. Essas amostras fixadas em solução de paraformaldeído 4% por 24 horas e encaminhadas para análises histológicas.

Após fixar, as amostras foram desidratadas em banhos crescentes de álcool, clarificadas em xilol e infiltradas por parafina a 60°. Finalizado este processamento, o material foi incluído em blocos de parafina, cortados em micrótomo (5 μ m) e montado em lâminas sinalizadas.

As lâminas foram desparafinizadas em xilol, hidratadas em banhos decrescentes de álcool até um banho em água destilada e coradas em Hematoxilina de Mayer por 10min e posteriormente em Eosina-Floxina por 5min. Após a coloração, as lâminas com as amostras foram desidratadas em banhos crescentes de álcool e clarificadas em xilol. Na sequência, as lâminas foram montadas com lamínulas e analisadas por microscopia óptica.

Os cortes corados pela hematoxilina e eosina foram analisados por microscopia óptica de forma qualitativa, sendo que para cada amostra foram capturados 4 campos com objetivas de 40X. Para análise histopatológica foram avaliados os se havia ou não os seguintes itens: (1) edema; (2) morte celular por apoptose ou necrose, e; (3) reações inflamatórias. As fotomicrografias foram capturadas utilizando câmera digital modelo Z-30 da marca Zeiss[®], 7.2 megapixels, com zoom digital 3.0 e as imagens foram digitalizadas para análise da área de estudada com ajuda do *software* Image J.

3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

3.6.1 Animais

Foram utilizados camundongos albinos suíços machos (20-25 g). Estes animais foram obtidos de colônias mantidas no Instituto Evandro Chagas (Belém, Brasil). Os animais foram alojados em grupos de 5 em condições ambientais controladas com livre acesso a água e comida padrão. O alimento foi retido durante a noite antes das experiências, enquanto a água foi ainda fornecida ad libidum. A manipulação e utilização de animais foram em conformidade com as orientações institucionais.

3.6.2 Drogas e produtos químicos

Os seguintes fármacos e químicos foram utilizados: morfina (Laboratório Cristália, Brasil), ácido acético (Vetec, Brasil), indometacina (Sigma, Brasil), formalina (Vetec, Brasil).

3.6.3 Contorção induzida por ácido acético

Este método foi utilizado para avaliar preferencialmente possíveis efeitos periféricos da *Plukenetia polyadenia* como substância analgésica. Grupos de 5 camundongos foram mantidos em jejum durante a noite antes do início da experiência, apenas com livre acesso a água. O *Plukenetia polyadenia* (25, 50 e 100 mg / kg), indometacina (5 mg / kg), ou volumes equivalentes de veículo (solução salina 0,9% e 1% de Tween 80) foi injetado 60 min antes da injeção de ácido acético (0,6%). A indometacina é um bem conhecido medicamento analgésico periférico e foi usado como um controle positivo na presente investigação. Os camundongos foram então colocados numa caixa de observação, e o número de contorções foi contado durante 10 minutos após a injeção de ácido acético durante 30 minutos.

3.6.4 Teste da placa quente

Os camundongos foram pré-seleccionados na placa quente a $55 \pm 0,5$ ° C. Os animais que mostraram um tempo de reação (latência para lambe as patas posteriores ou saltar) maior do que 20 s foram descartados. Os animais selecionados foram depois tratados com o veículo (solução salina), *Plukenetia polyadenia* (50, 100 e 200 mg / kg po) e morfina (10 mg / kg sc). O tempo de reação (s) de cada camundongo foi determinado sobre a placa quente antes e depois da administração do medicamento, a intervalos de 30 min. A duração total de 45 s foi seguido ao medir o tempo de reação (MACDONALD et al, 1946).

3.6.5 Teste da formalina

O teste de formalina foi descrito por Hunskaar e Hole (1987). Um volume de 20uL de formalina a 1% é administrada na região intraplantar de camundongos. Em seguida mudanças comportamentais nos primeiros 5 minutos e nos últimos 15 minutos do teste. Onde os 5 minutos corresponde a primeira fase ou fase neurogênica e os 15 minutos após o início da experiência corresponde a segunda fase ou fase inflamatória. Para avaliar a possível participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo da *Plukenetia polyadenia*, os animais foram pré-tratados com naloxona (1 mg / kg, ip), 15 min. Antes da administração de *Plukenetia polyadenia* (50 e 100 mg / kg, po), a morfina (4 mg / kg, sc) ou veículo (0,9% de NaCl, 10 ml / kg, po). As respostas álgicas foram avaliadas na primeira e na segunda fase do teste de formalina, 60 minutos após a administração da droga ou veículo. O outro grupo recebeu morfina 30 min antes da injeção de formalina.

3.6.6 Avaliação do mecanismo de ação

Para avaliar a possível participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do *Plukenetia polyadenia* (100 mg / kg), os camundongos foram pré-tratados com naloxona (5 mg / kg) 30 min antes da administração de óleo (100 mg / kg) e morfina (4 mg / kg), 15 min antes da administração de *Plukenetia polyadenia* (100 mg / kg). A resposta nociceptiva foi avaliada pelo número de contrações induzidas por ácido acético e a avaliação do mecanismo de acção foi determinada pela reversão do efeito antinociceptivo do *Plukenetia polyadenia*.

3.7 ANÁLISE COMPORTAMENTAL

Com o objetivo de avaliar alguns possíveis efeitos comportamentais da administração via oral do óleo sobre o sistema nervoso central, camundongos machos receberam uma dose de 200mg.kg/peso de óleo e, em seguida, foram colocados em um campo aberto (arena de madeira) com assoalho dividido em linhas brancas com 9 quadrantes. O grupo controle recebeu somente o veículo por via oral com solução salina.

Os animais foram colocados no quadrante central, sendo então permitido o livre deslocamento dos mesmos durante um período de 2h, onde o comportamento foi avaliado segundo protocolo que investiga itens como analgesia, euforia, sedação, depressão respiratória, miose, rigidez do tronco etc. Para a realização deste experimento utilizou-se local próprio e com níveis de ruído e iluminação adequados ao ensaio.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados são expressos como a média \pm S.E.M. A avaliação estatística foi feita utilizando ANOVA seguido de Student-Newman-Keuls, ou teste de Dunnet, e os valores foram considerados significativamente diferentes quando $P < 0,05$.

4 RESULTADOS

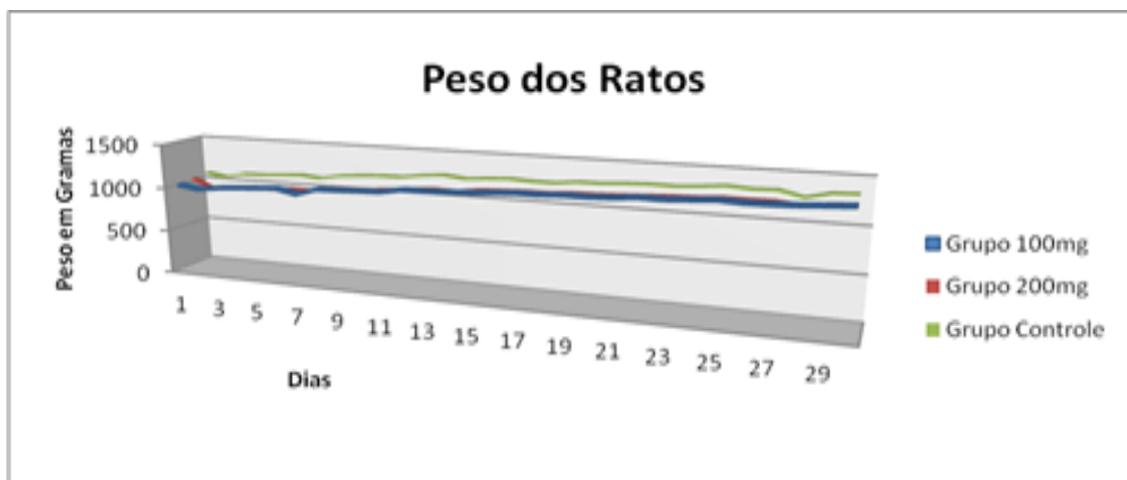
4.1 ANÁLISE DO ÓLEO *PLUKENETIA POLYADENIA*

Os resultados obtidos da análise química do óleo das sementes de *Plukenetia polyadenia* foram descrito detalhadamente na dissertação de mestrado Ribeiro (2005). A composição em ácidos graxos analisada por cromatografia em fase gasosa foi de 12,6% era composto de ácido oléico (ω -9), 48,5% de linolêico (ω -6) e 33,3% de linolênico (ω -3), totalizando 94,4% da composição deste óleo.

4.2 ANÁLISE NUTRICIONAL DO PESO

A evolução da média do peso de cada grupo foi gradativa e não houve nenhuma diferença estatisticamente significante entre os grupos (gráfico 2), apesar dos grupos que ingeriram óleo terem aumentado sua oferta calórica.

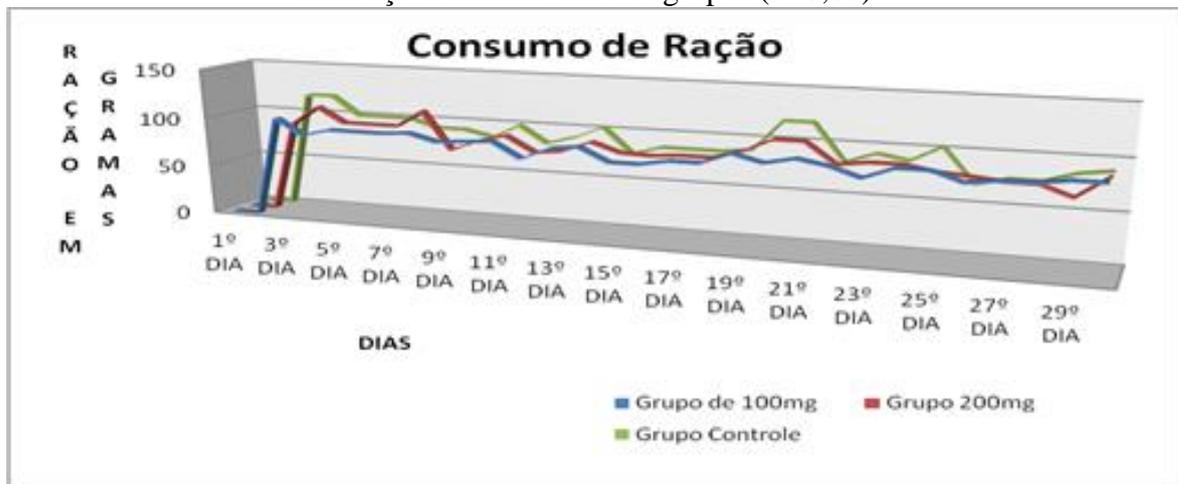
Gráfico 2 - Evolução do peso dos ratos durante 30 dias de experimento. Sem diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$).



4.3 ANÁLISE NUTRICIONAL DA INGESTA DE RAÇÃO

A média de consumo de ração não foi estatisticamente diferente entre os grupos (gráfico 3). Apesar de, teoricamente, a ingestão de ácidos graxos proporcionar maior poder de saciedade, isto não interferiu na quantidade de ração consumida em cada grupo.

Gráfico 3 - Evolução do consumo de ração dos ratos durante 30 dias de experimento. Sem diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$).

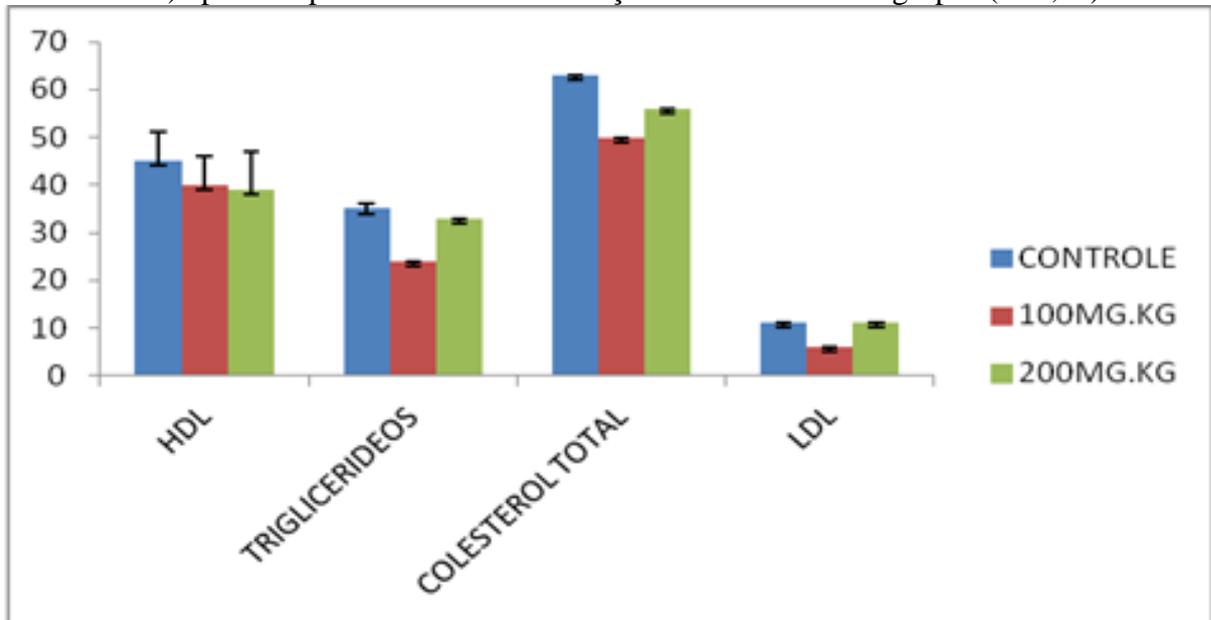


4.4 ANÁLISE BIOQUÍMICA

4.4.1 Perfil Lipídico

Na análise da composição lipídica (Colesterol Total, Triglicerídeos, HDL e LDL) não houve diferença estatística entre os grupos experimentais e controle após a administração crônica do *Plukenetia polyadenia* nos ratos. Foi utilizado o teste ANOVA (um critério) que compara mais de duas amostras, comparando somente as variações entre os grupos que podem ser de amostras de mesmo tamanho ou diferentes. Como o valor de F não foi significativo, não houve necessidade de complementar o exame com análise das diferenças entre as médias amostrais (gráfico 4).

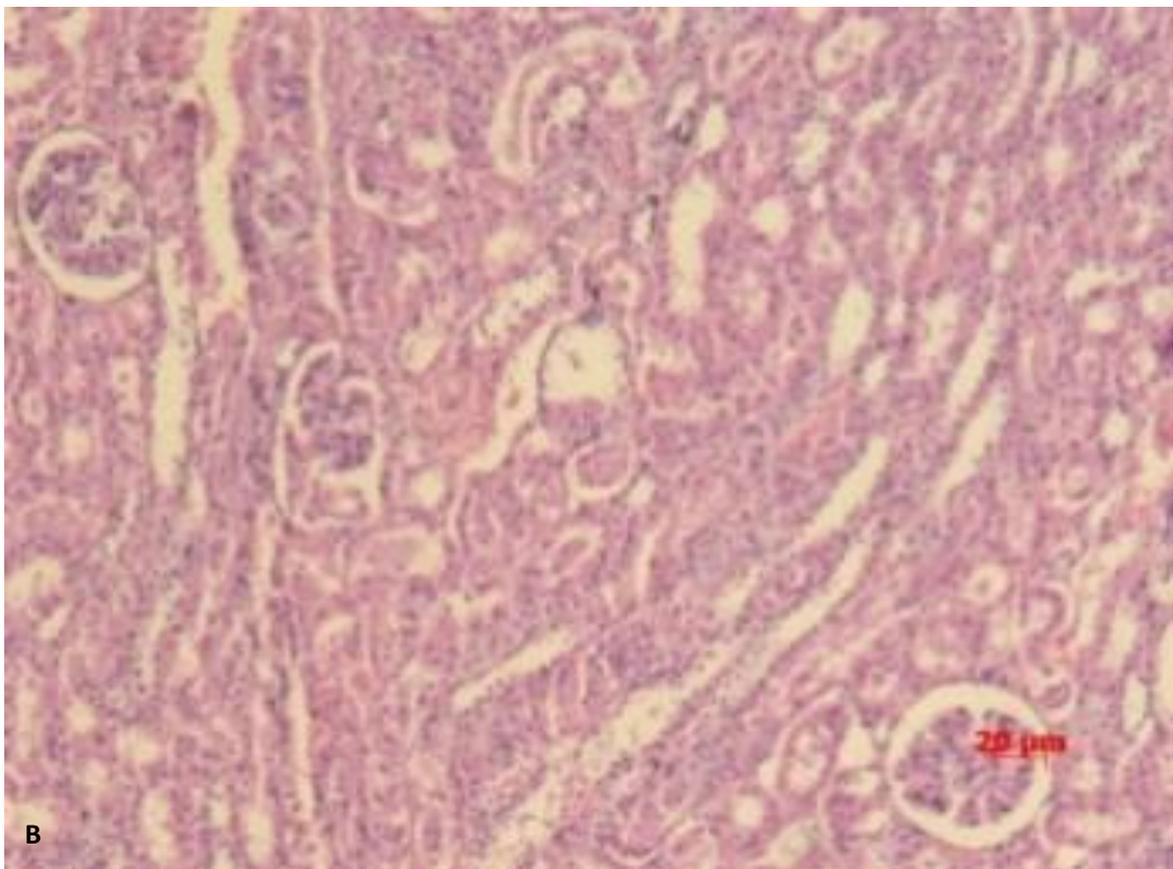
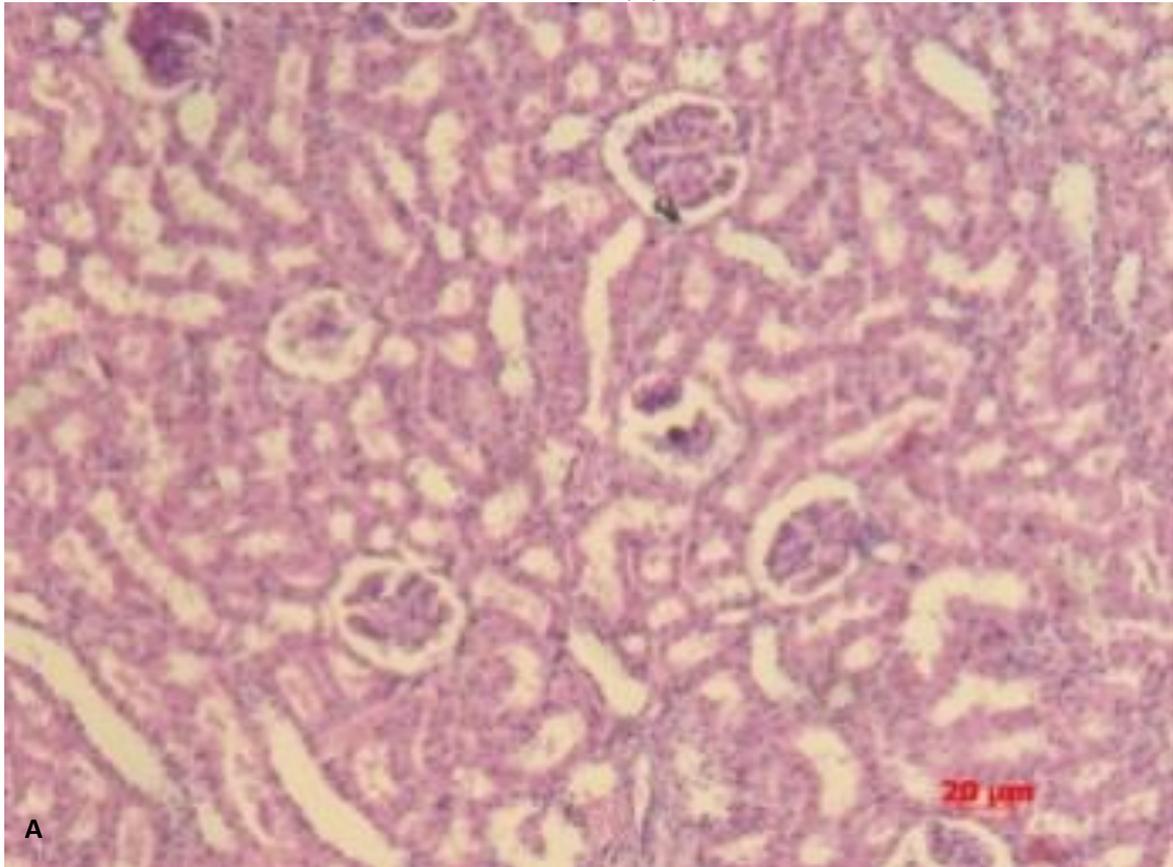
Gráfico 4 - Componentes lipídicos do sangue de ratos (HDL, Triglicerídeos, Colesterol Total, LDL) após o experimento. Sem diferença estatística entre os grupos ($P > 0,05$).



4.5 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Para a análise histopatológica são avaliados os itens edema, morte celular e resposta inflamatória (APÊNDICE A) em cada órgão analisado (rim, coração, pulmão, fígado, intestino e pâncreas), e nenhuma destas respostas foram encontradas em nenhum animal independente do grupo à qual pertencem.

Figura 2- Histologia do rim nos três grupos avaliados, 100mg./kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).



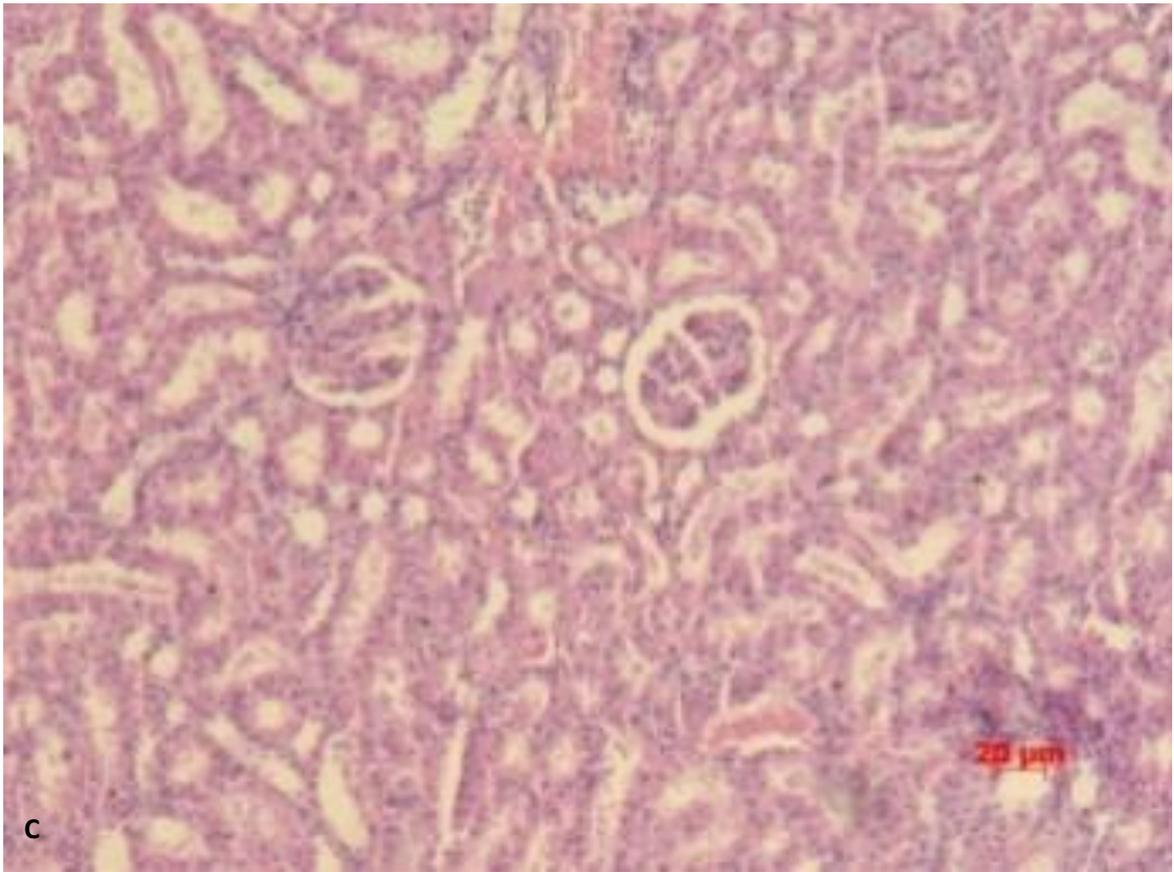
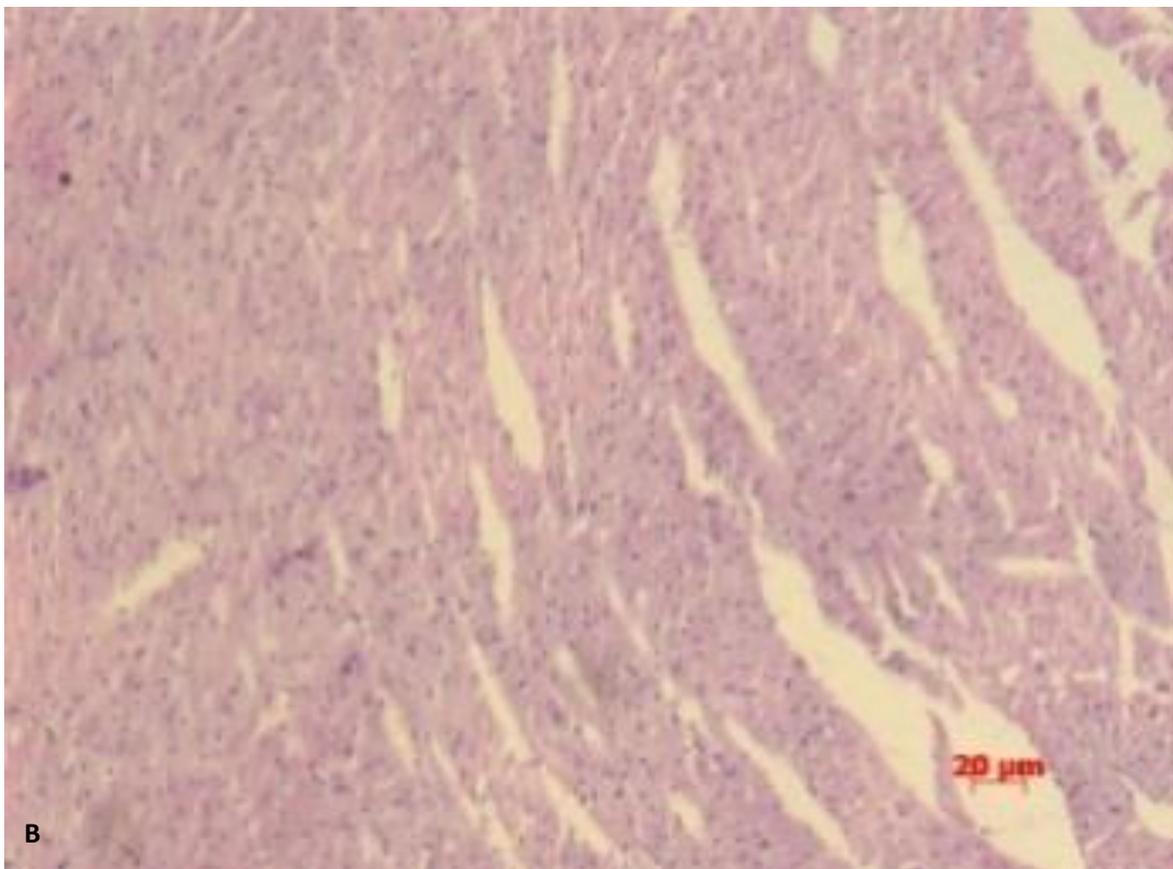
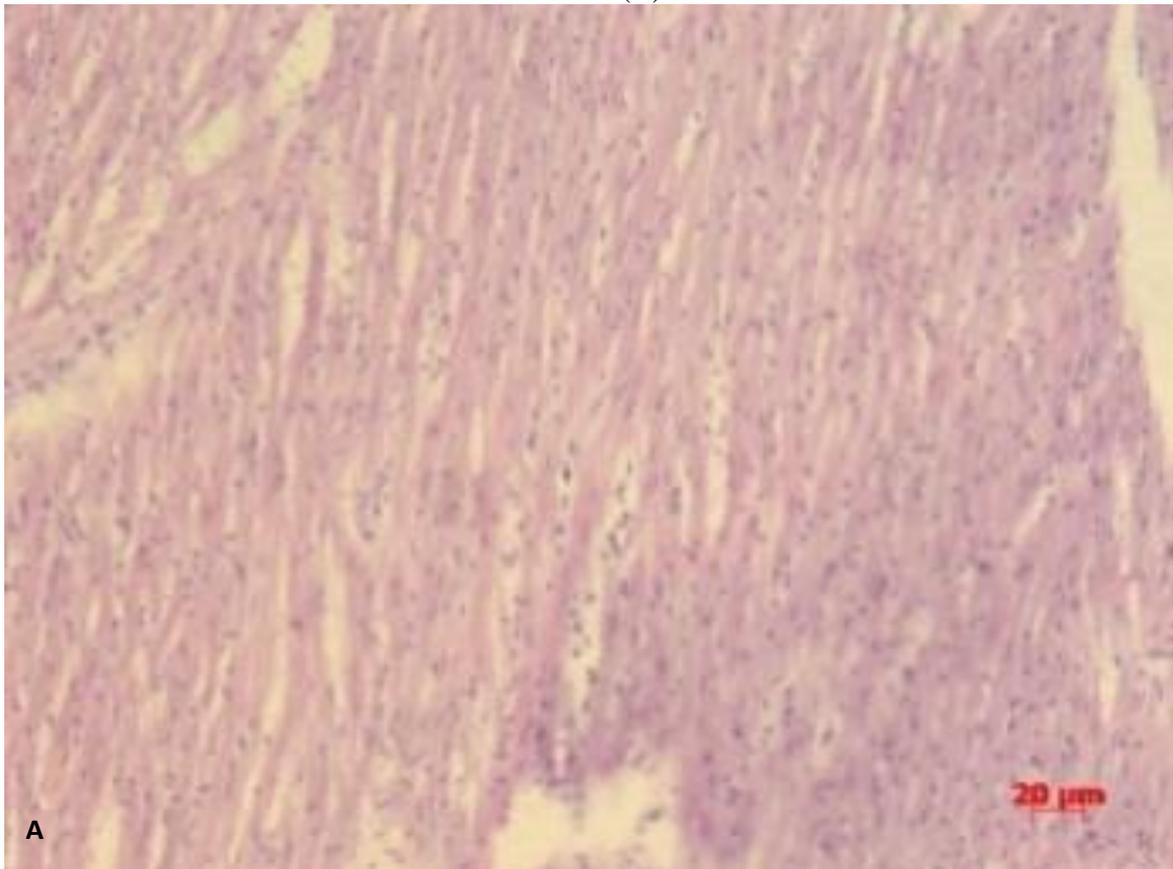


Figura 3- Histologia do coração nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).



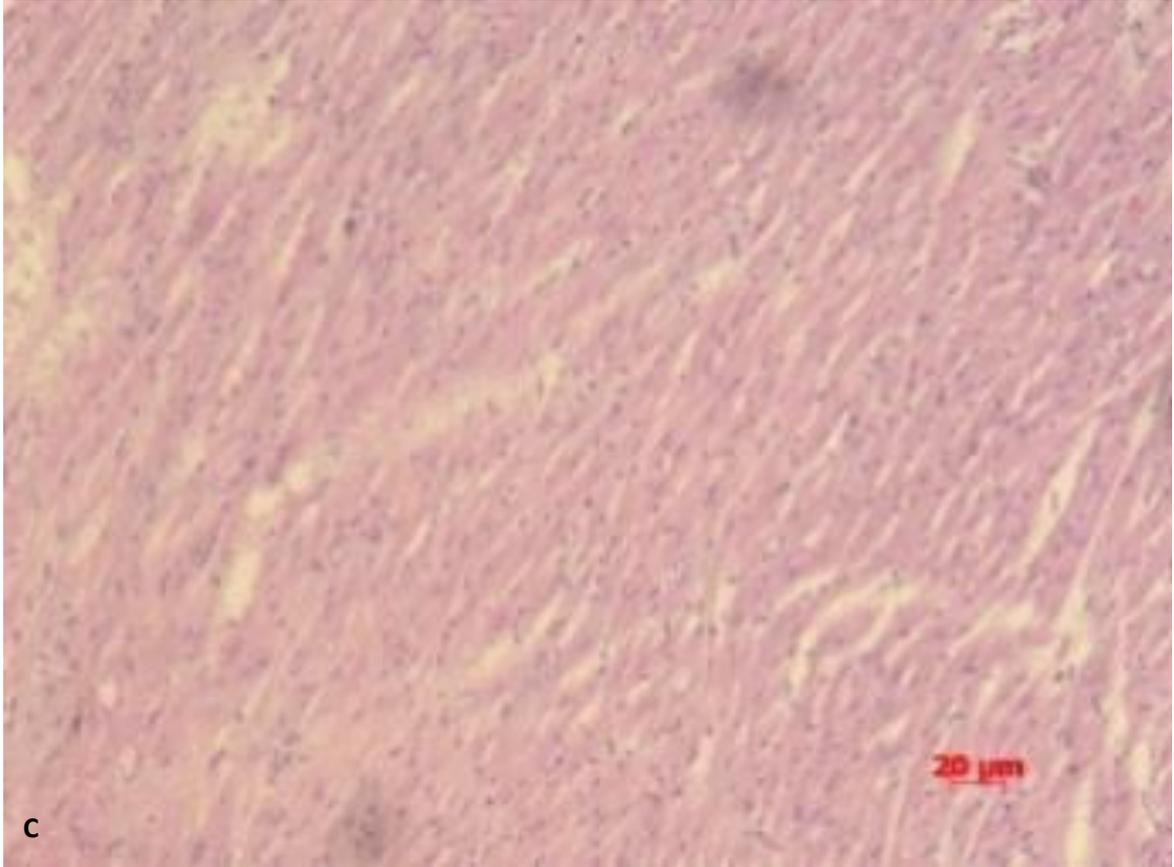
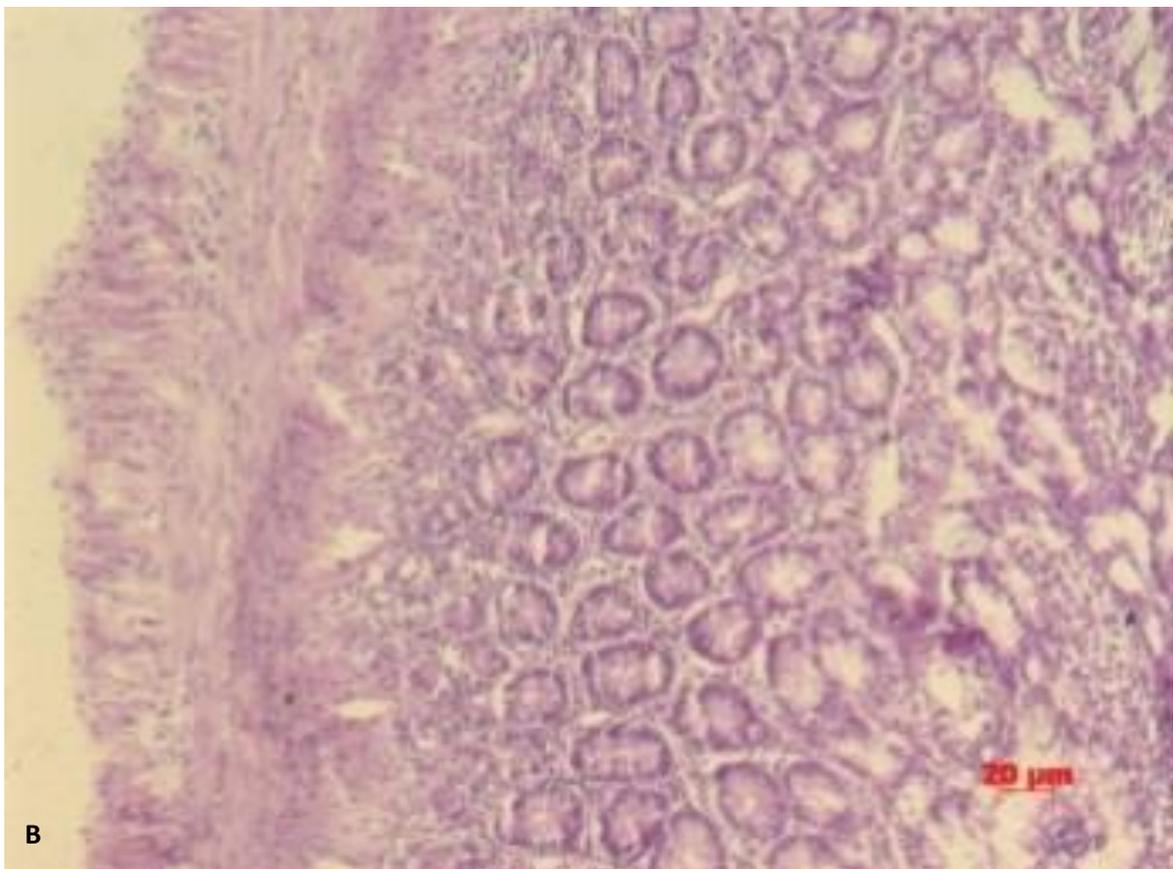
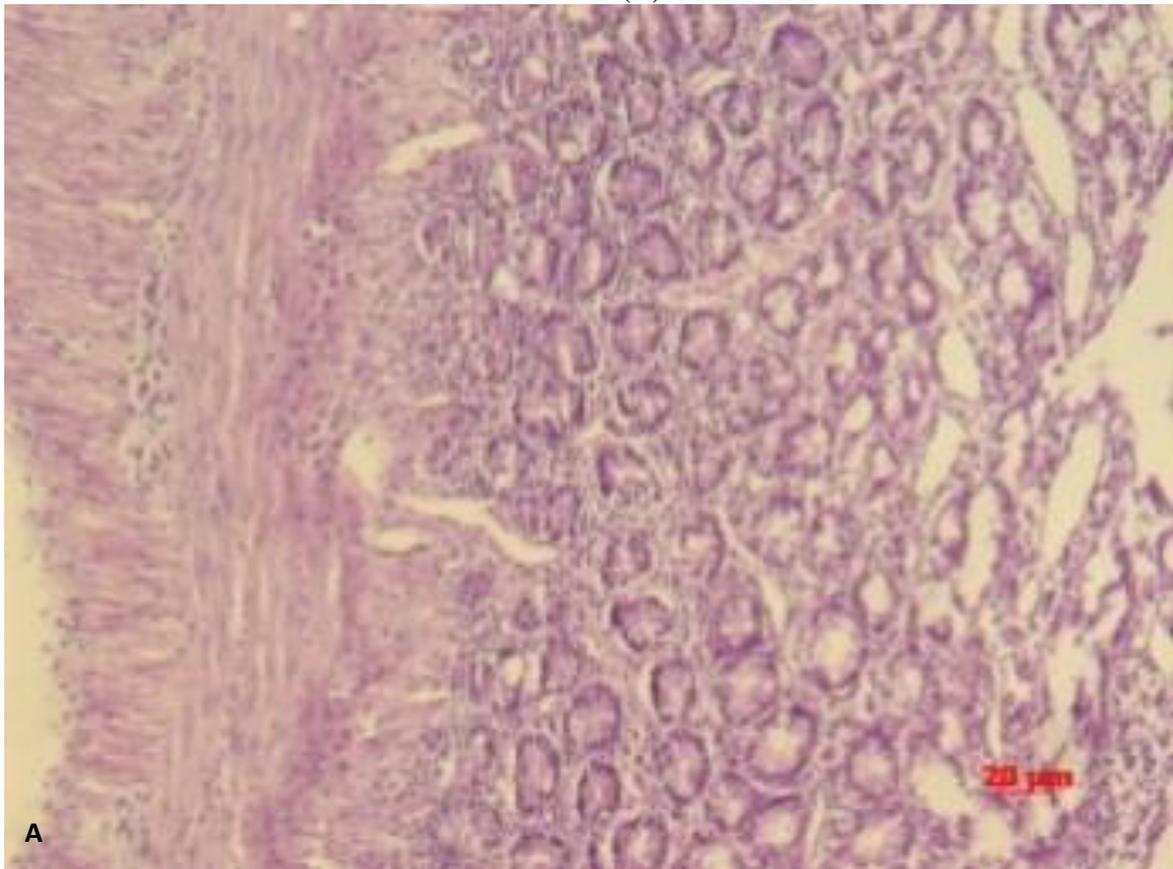


Figura 4- Histologia do estômago nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).



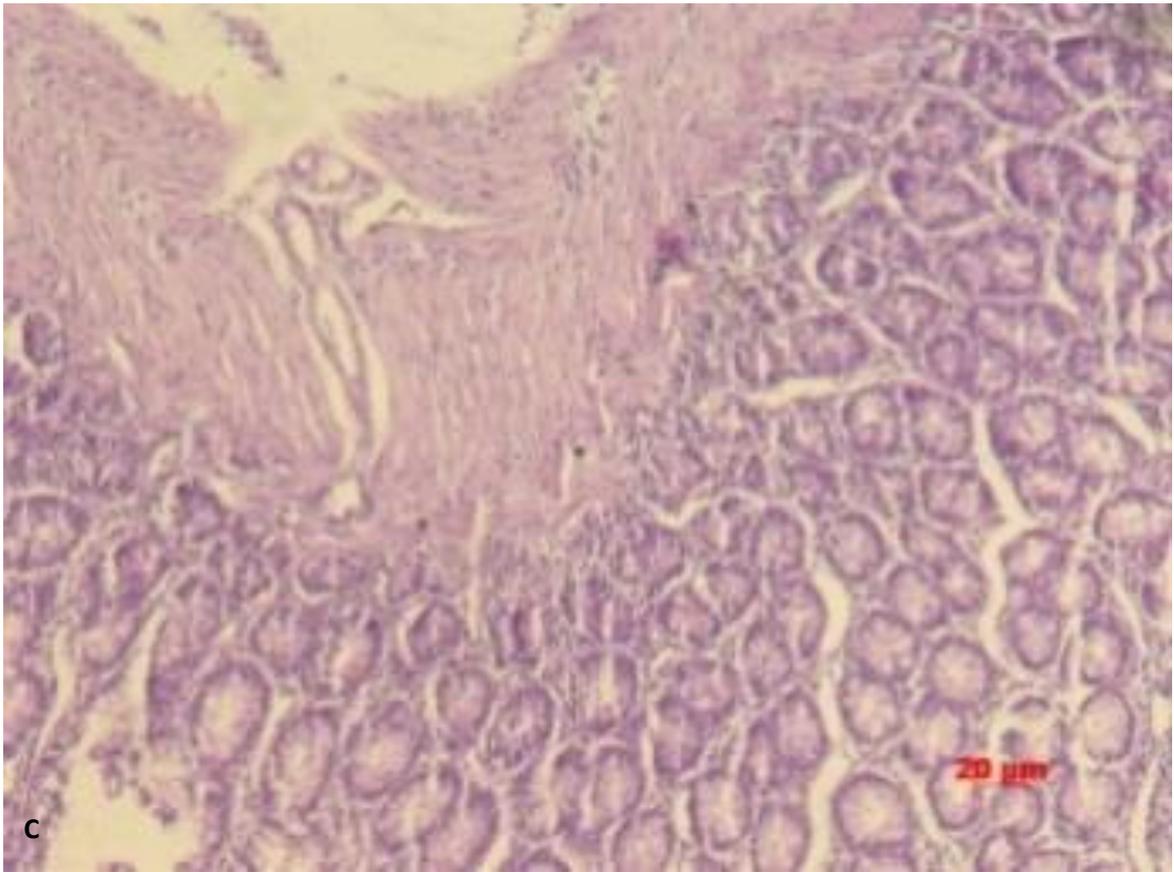
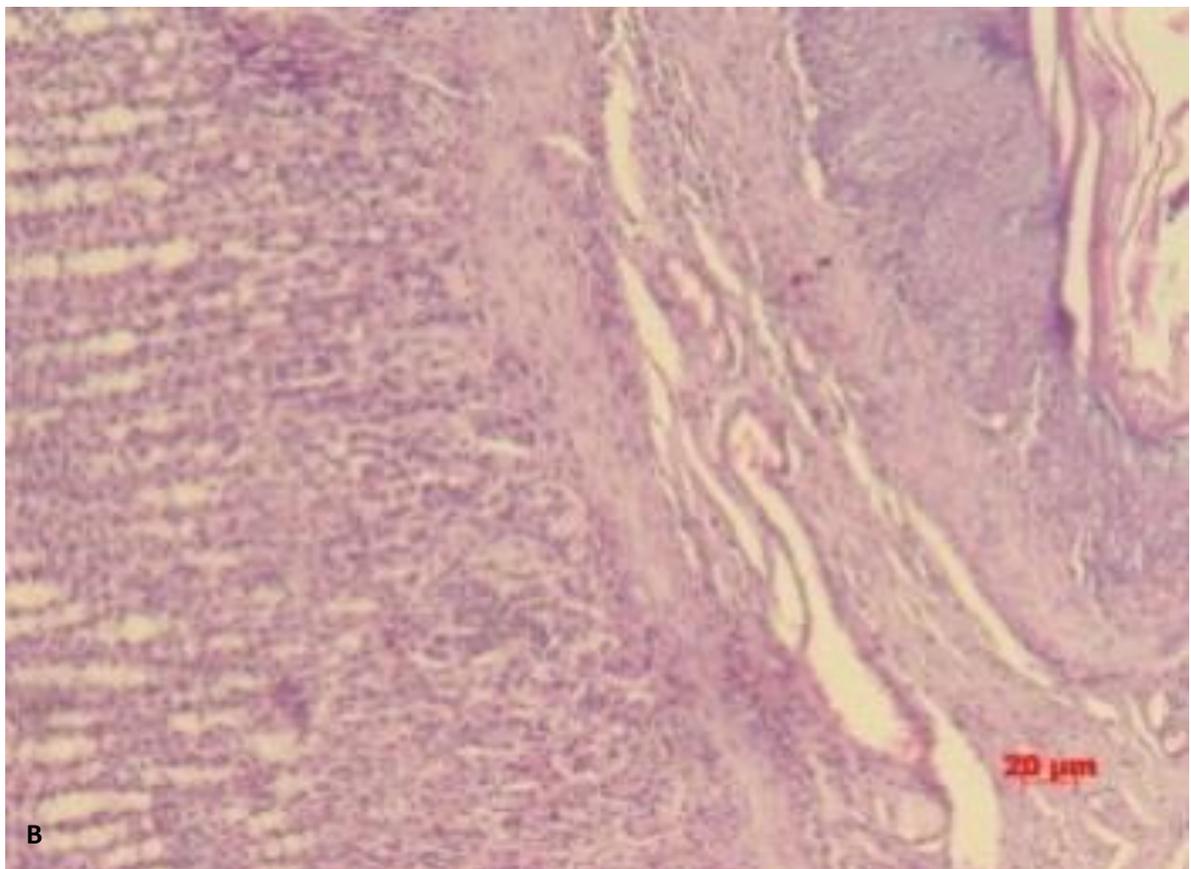
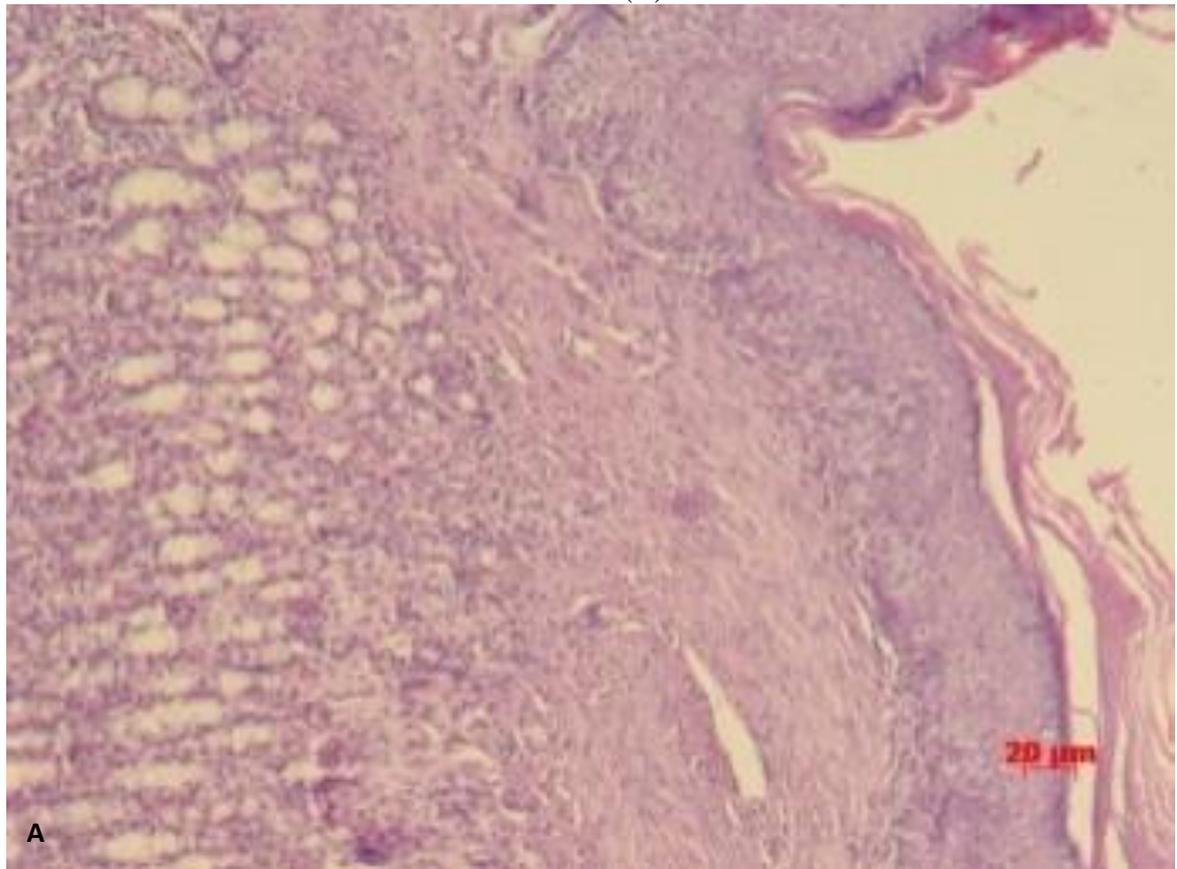


Figura 5- Histologia do pâncreas nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).



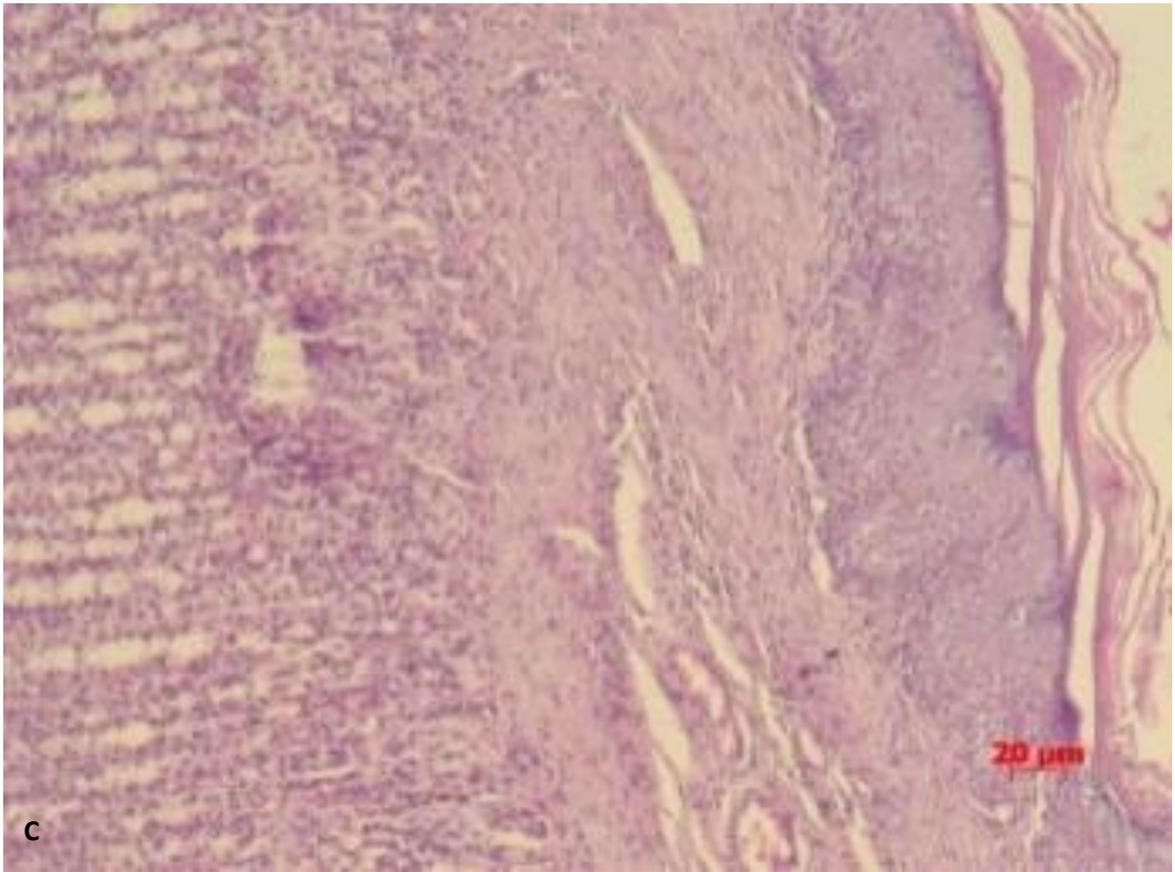
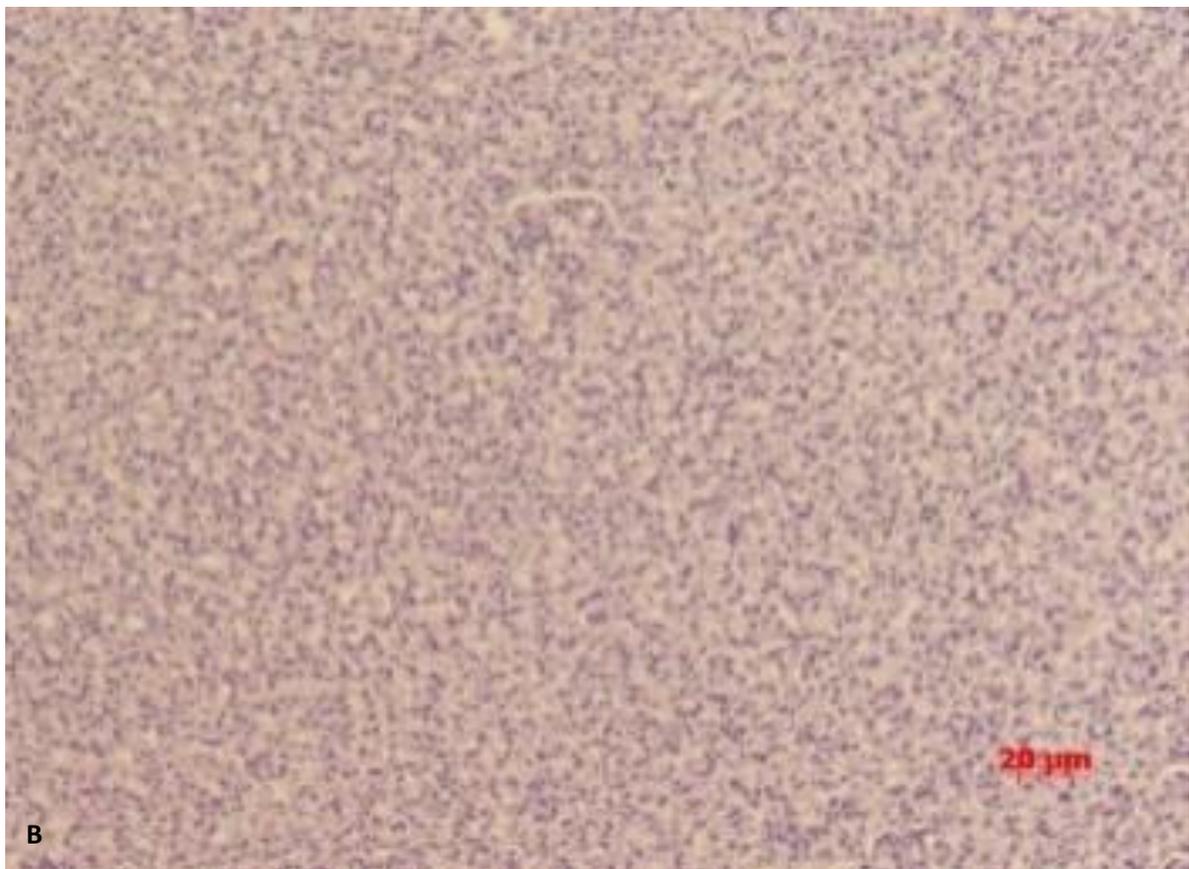
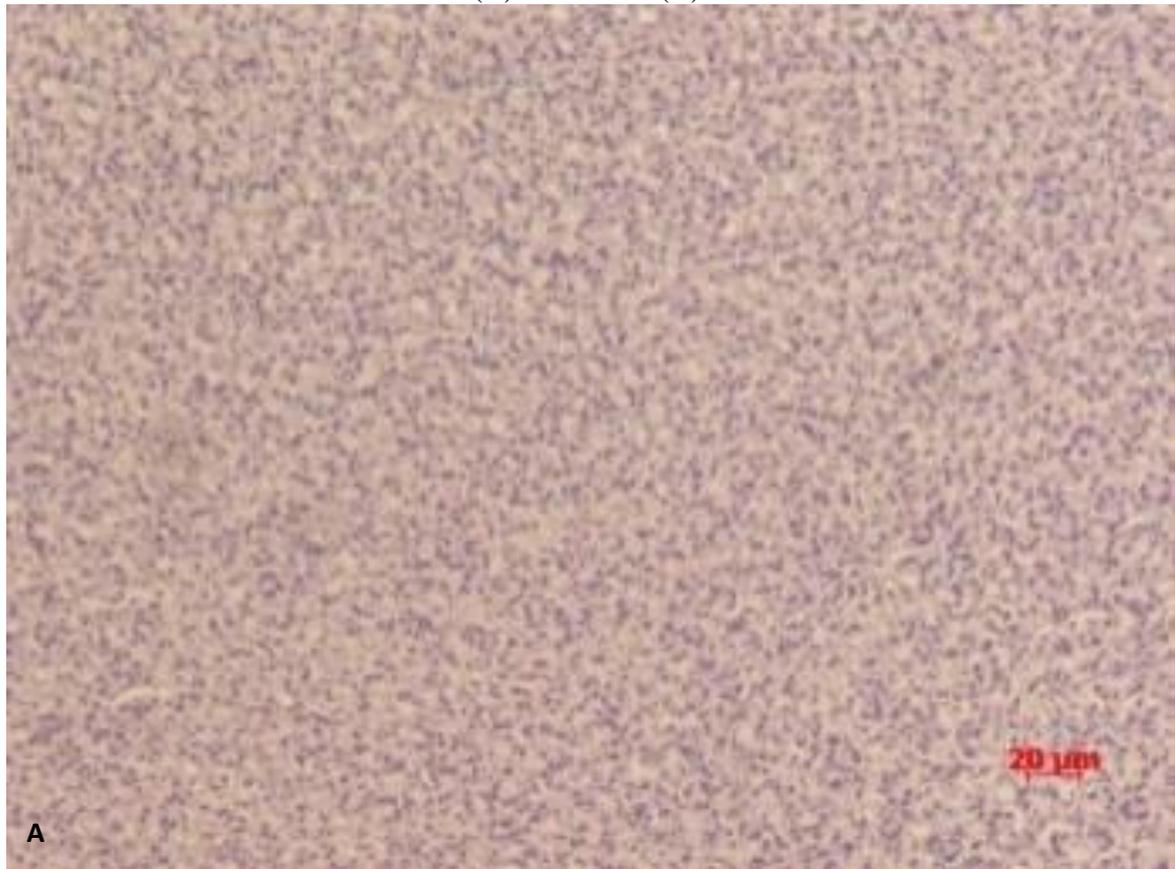


Figura 6- Histologia normal do fígado nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).



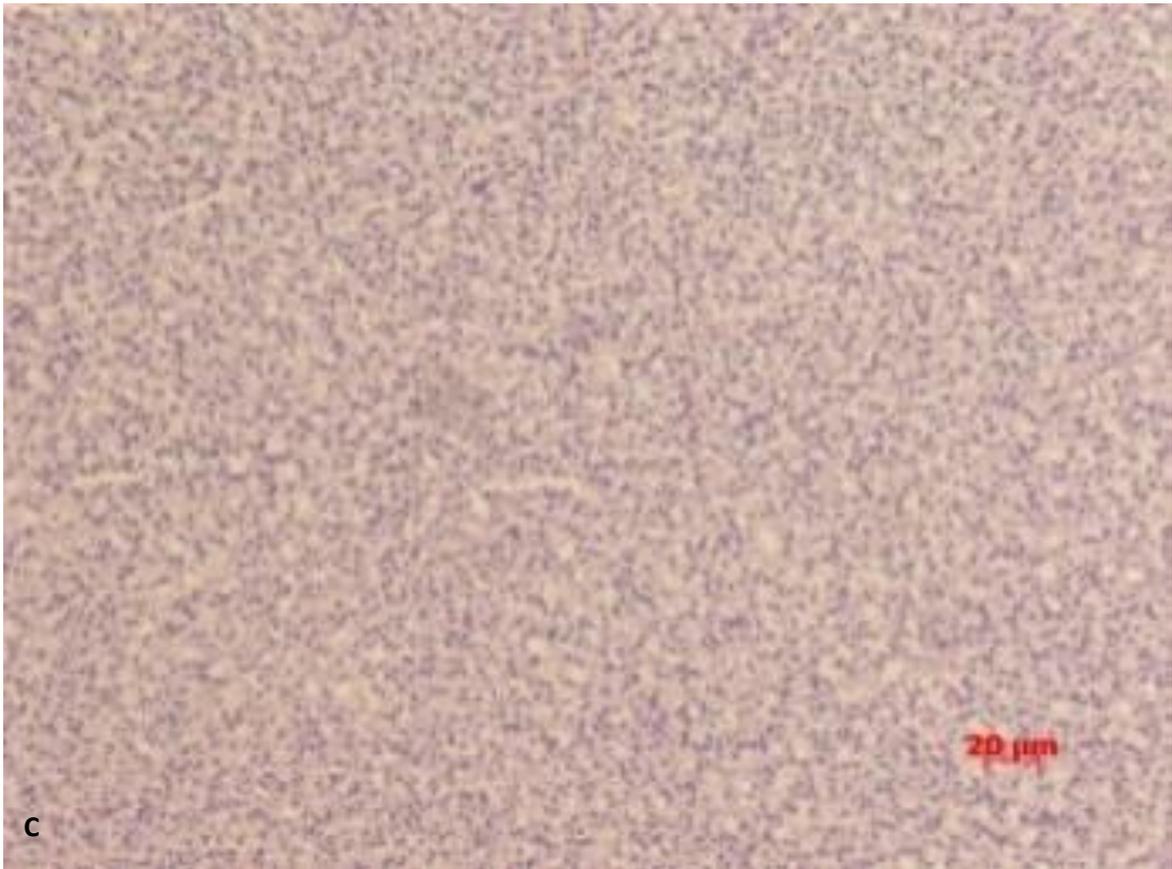
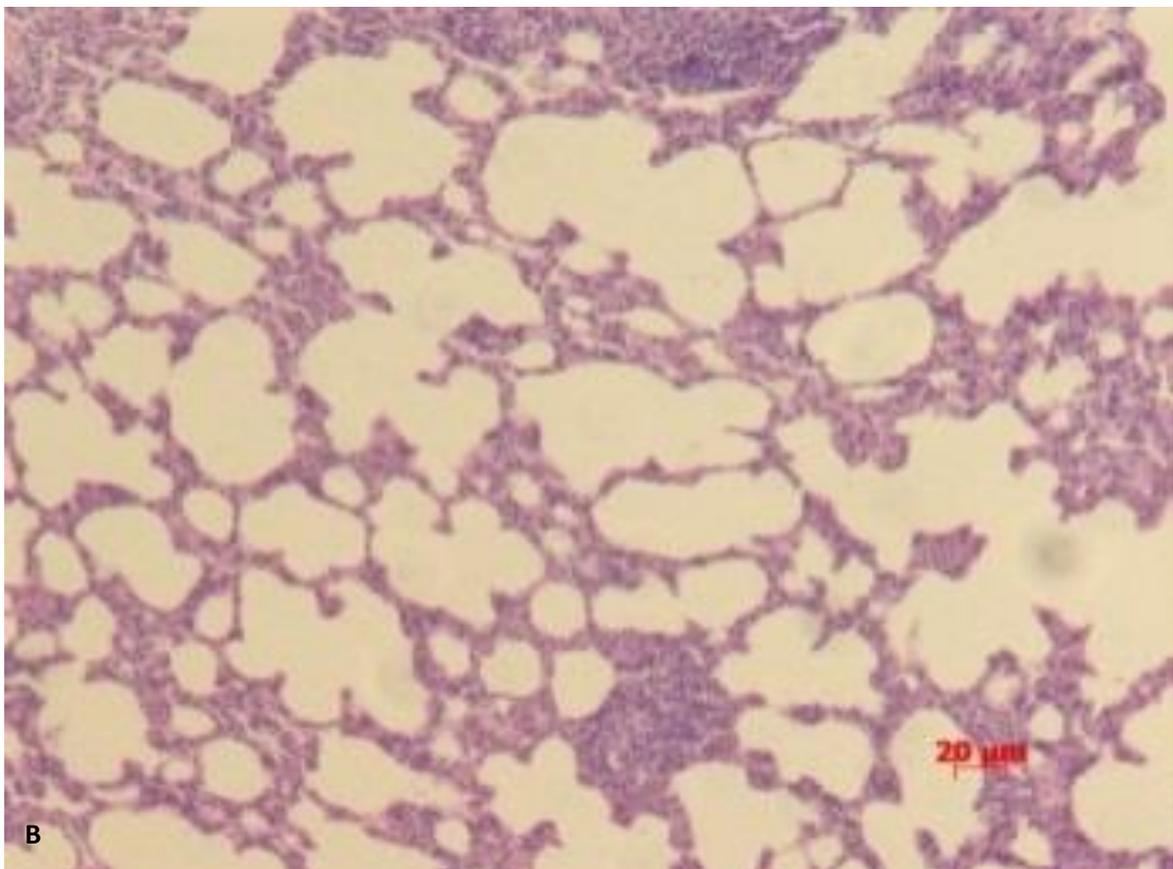
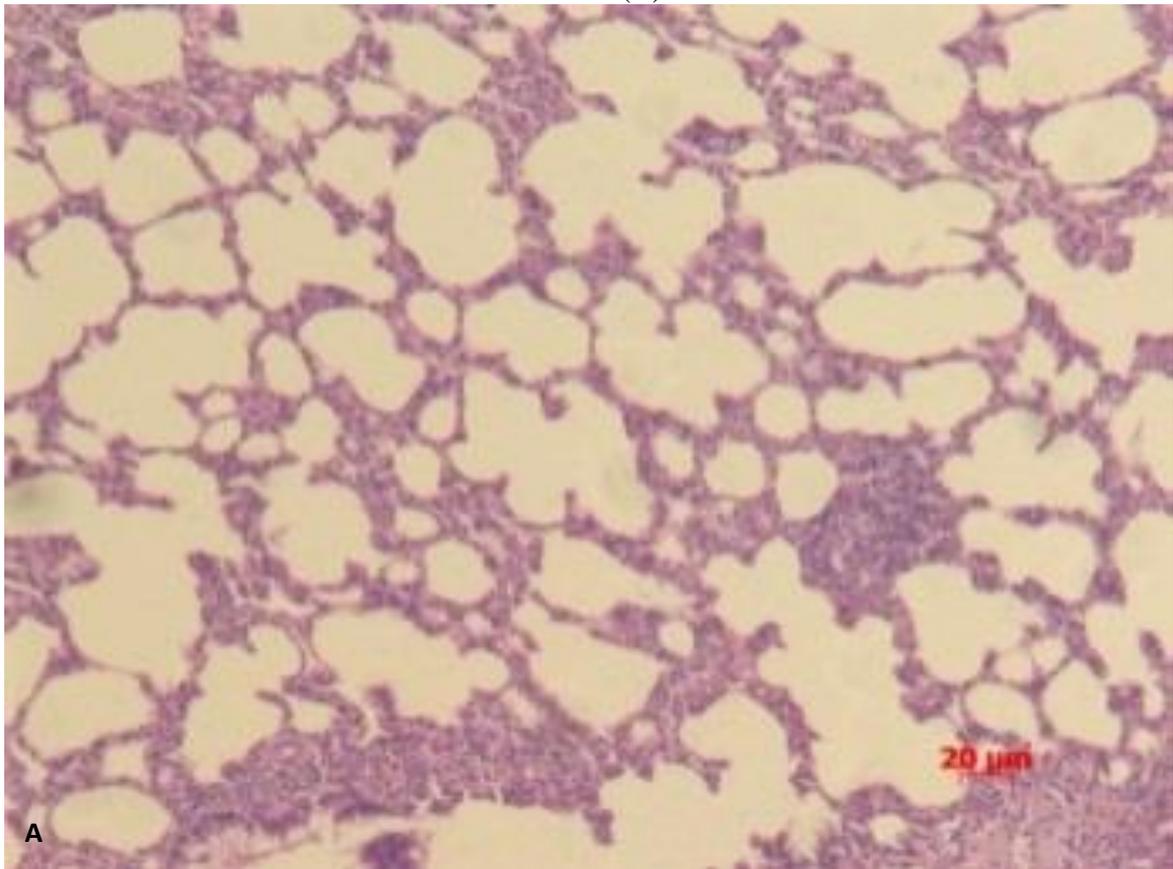


Figura 7- Histologia do pulmão nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).



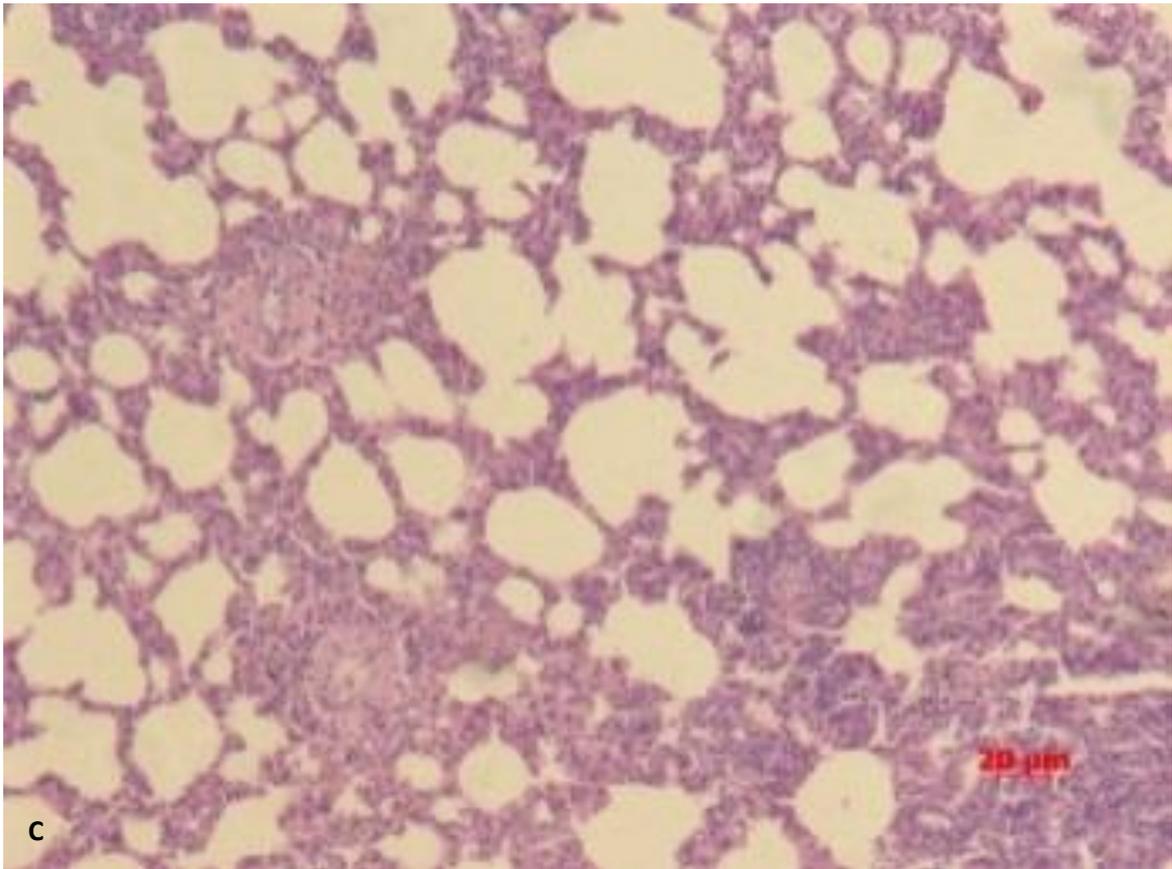
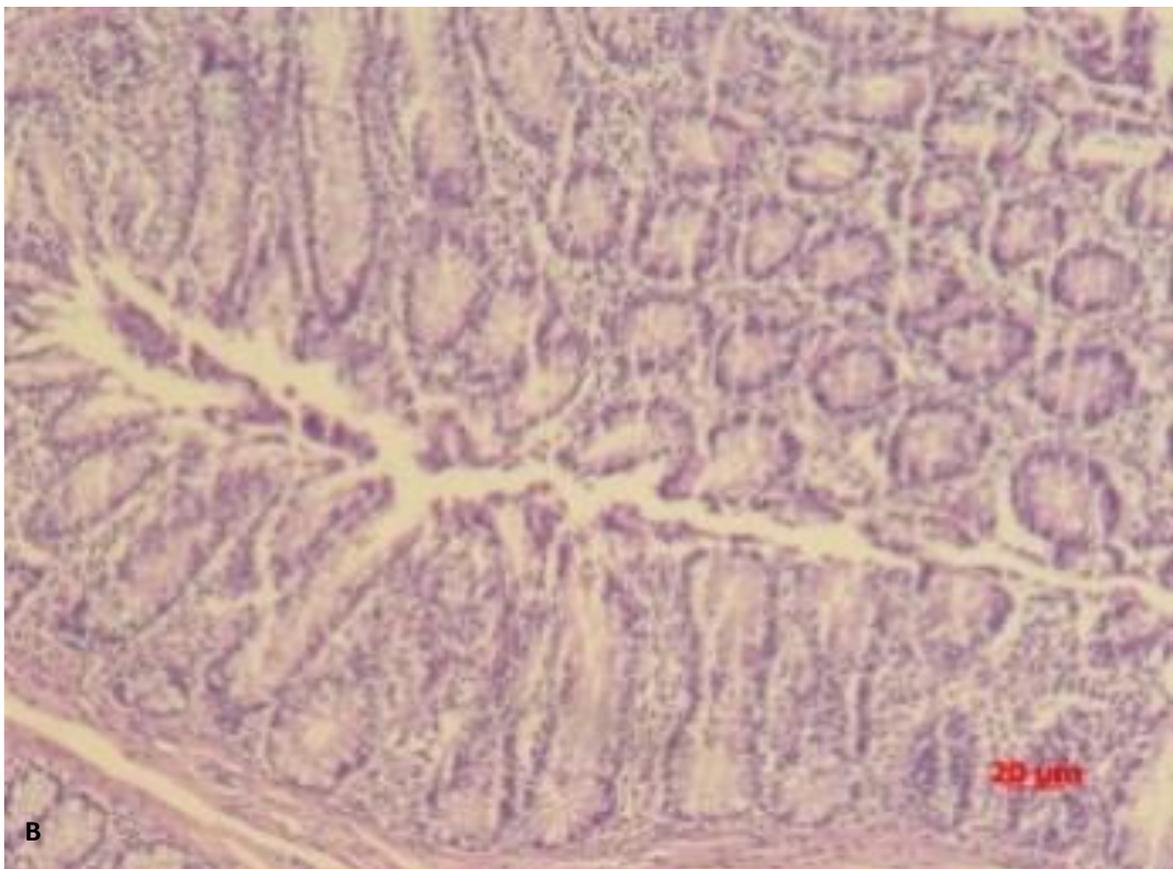
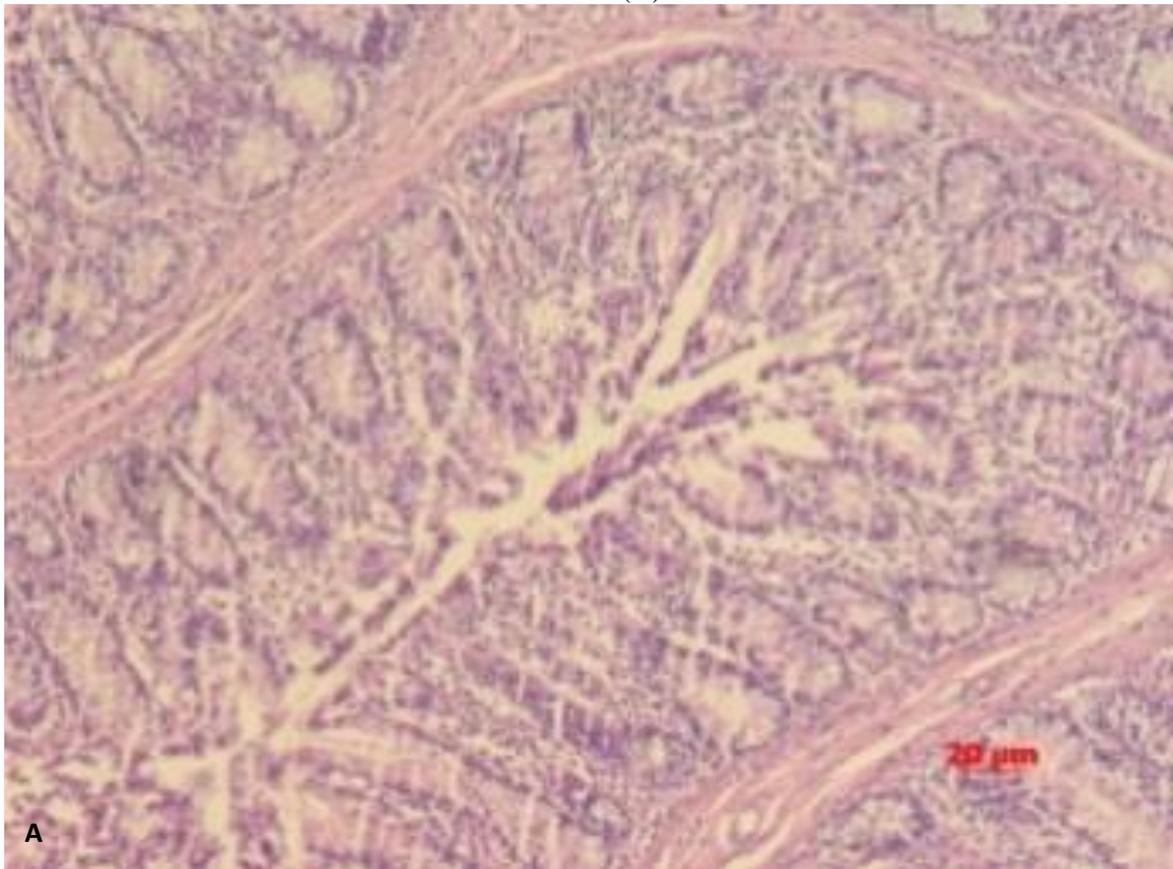
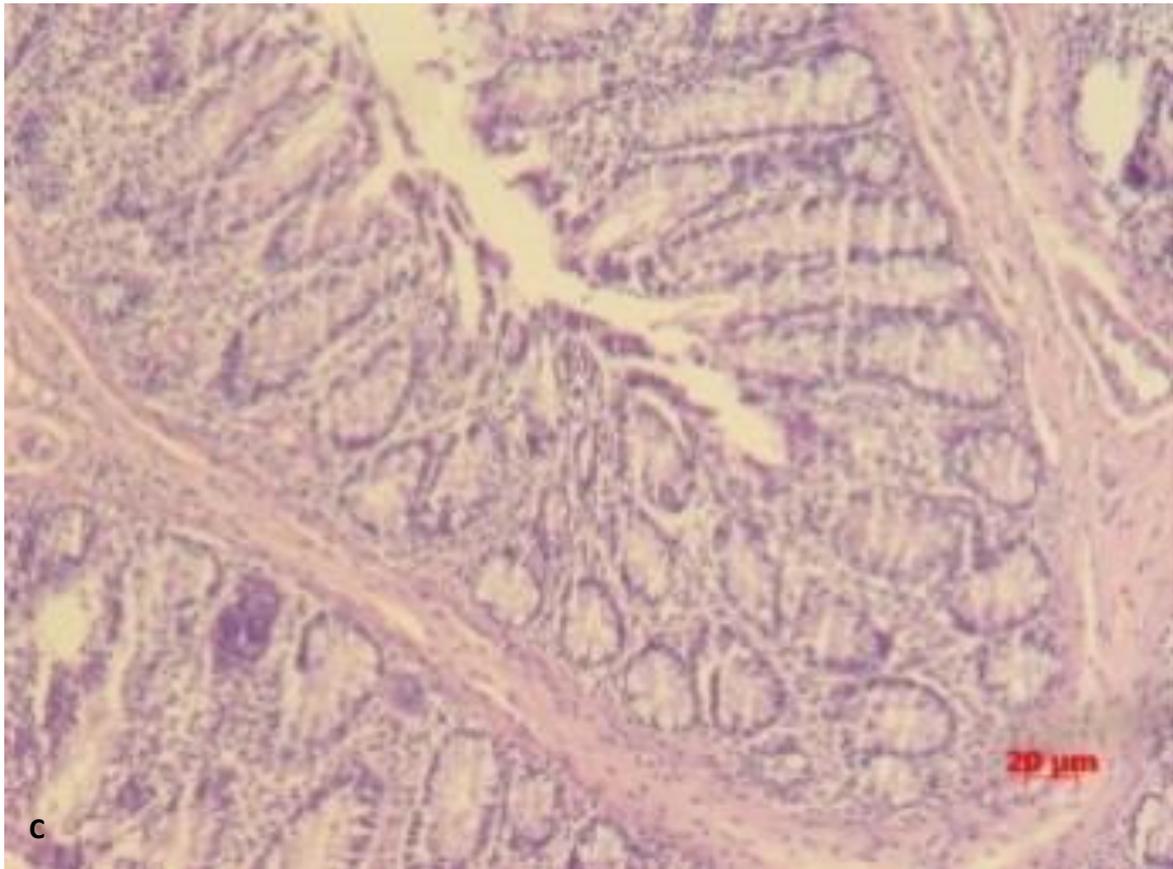


Figura 8- Histologia do intestino nos três grupos avaliados, 100mg/kg (A), 200mg/kg (B) e controle (C).



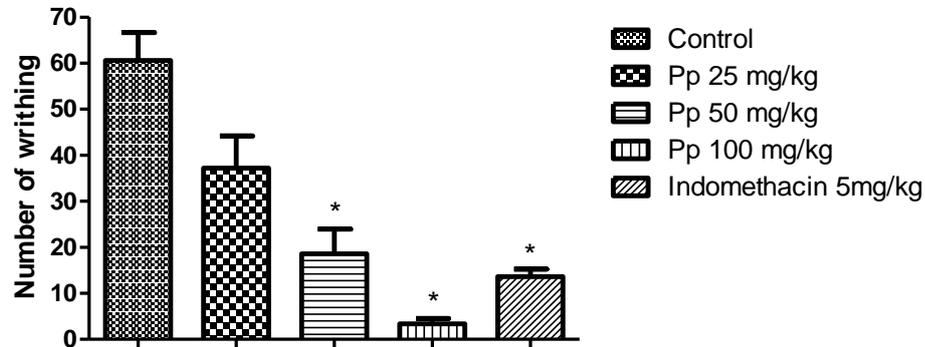


4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

4.6.1 Contorção induzida por ácido acético

A administração intraperitoneal de *Plukenetia polyadenia* (25, 50 e 100 mg / kg) reduziu significativamente o número de contorções induzida por ácido acético em camundongos em comparação com os animais que receberam apenas o veículo (gráfico 5). Estes efeitos de *Plukenetia polyadenia* foram dependentes da dose.

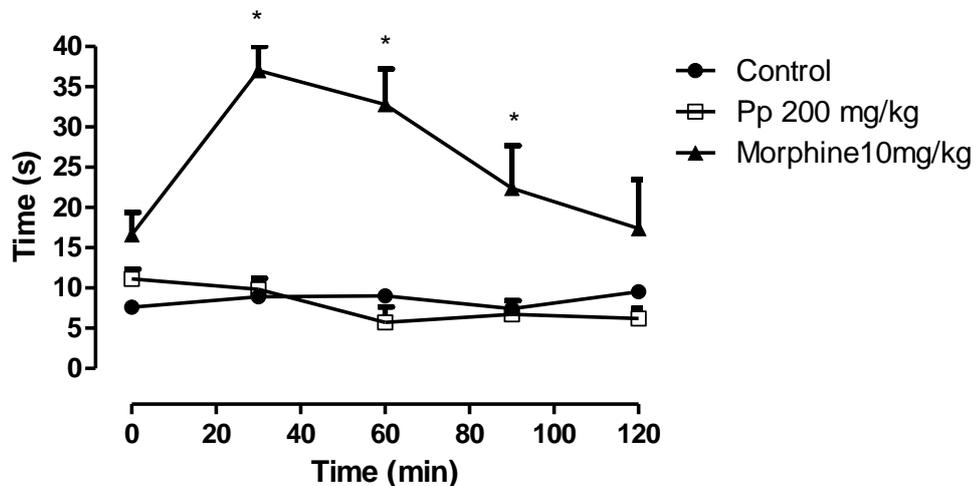
Gráfico 5 - Efeito da *Plukenetia polyadenia* sobre a nocicepção induzida pela injeção intraperitoneal de ácido acético. Média \pm epm * significativamente diferente do grupo controle ($p < 0,05$, ANOVA, Dunnett t-test) para um tempo dado.



4.6.2 Teste da placa quente

Usando o teste da placa quente, a administração de *Plukenetia polyadenia* na dosagem de 200 mg / kg não induziu alterações do tempo de latência, quando comparado com o controle (gráfico 6).

Gráfico 6 - Curso temporal dos efeitos da *Plukenetia polyadenia* sobre a nocicepção térmica. Abcissa o tempo (min) após *Plukenetia polyadenia* (oral), morfina (sc). Ordenada tempo de latência (s) para a resposta a uma estimulação térmica ($55 \pm 0,5$ °C. A média \pm SEM, n = 10) para cada dose *Plukenetia polyadenia*. * Significativamente diferente do controle ($p < 0,05$, ANOVA, Dunnett t-test) para um tempo dado.



4.6.3 Teste da formalina

O polyadenia Plukenetia (50 e 100 mg / kg), injectada po 60 min antes da formalina, mostraram um efeito antinociceptivo significativo, reduzindo o tempo de gosto, apenas na segunda fase (inflamatório) sobre a forma dependente da dose de teste (gráfico 7 e 8).

Gráfico 7 - Cada grupo representa média \pm epm, de 5 animais. * P <0,05 quando comparado com o controle (ANOVA, teste de Student-Newman Kuels).

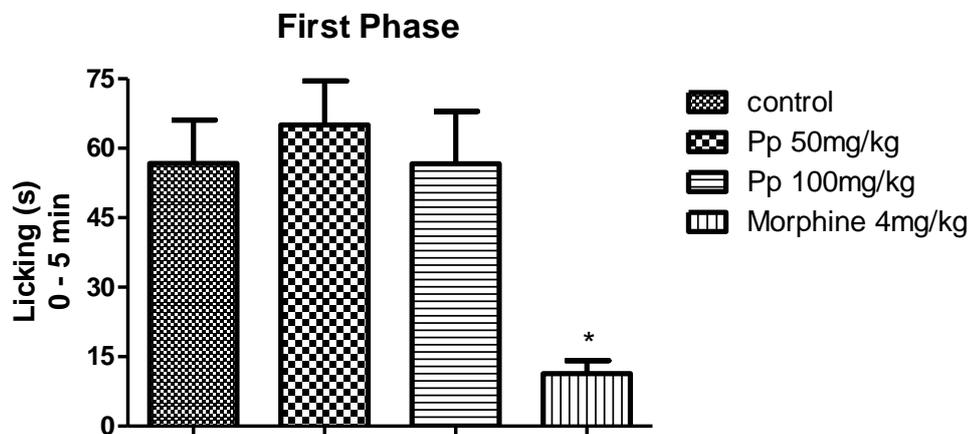
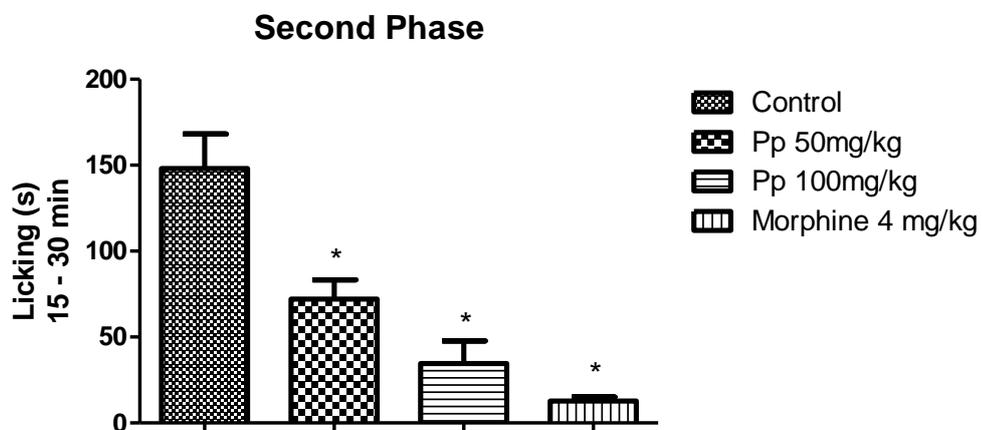
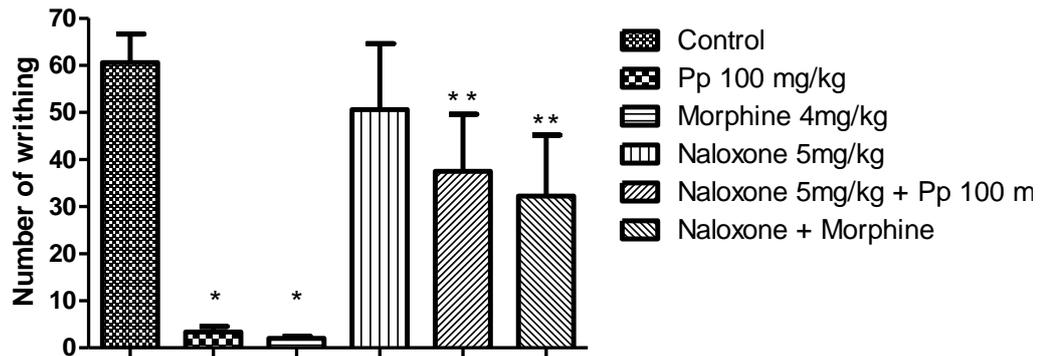


Gráfico 8 - Cada grupo representa média \pm epm, de 5 animais. * P <0,05 quando comparado com o controle (ANOVA, teste de Student-Newman Kuels).



4.6.4 Avaliação do mecanismo de ação do Plukenetia polyadenia

Gráfico 9 - Cada grupo representa em média \pm epm, de 5 animais. * $P < 0.05$ quando comparado com o controle. ** $P < 0.05$ quando comparado com o agonista mais o antagonista versus somente o agonista (ANOVA, teste de Student-Newman Kuels').



4.7 ANÁLISE COMPORTAMENTAL

Não foi observada nenhuma reação comportamental anormal que indicasse algum efeito colateral ou toxicidade após a administração de óleo via oral durante o período de 2 horas nos aspectos de analgesia, euforia, sedação, depressão respiratória, miose, rigidez do tronco etc.

5 DISCUSSÃO

O óleo de *Plukenetia polyadenia* é utilizado pela população em processos inflamatórios, desta forma devido a esta característica etnofarmacológica e a composição química deste óleo foram investigadas a atividade nutricional e analgésica deste óleo.

Nesta pesquisa foi analisada a evolução da média do peso e da ingesta de ração de cada grupo após a administração crônica de *Plukenetia polyadenia* (100 e 200 mg/kg) e veículo durante 30 dias de experimento. Neste contexto não houve nenhuma diferença estatisticamente significante entre os grupos (gráfico 2), apesar de cada grama de óleo oferecer 9kcal adicionais em relação ao veículo, o que aumenta a oferta calórica diária dos animais experimentais. A composição química do óleo com teor de 33,3% de ácido alfa-linolênico (ω -3) está intimamente envolvida neste processo uma vez que a mediação de EPA e DHA aumenta a oxidação de ácidos graxos e diminui da lipogênese levando, portanto, a um efeito anti-obesidade (SIRIWARDHANAA et al, 2013).

O ômega-3 pode reduzir a adiposidade por diversos mecanismos. Em primeiro lugar, o EPA e o DHA ativam a AMPK, que por sua vez promove β -oxidação de ácidos graxos no tecido adiposo (FIGUERAS et al, 2011). EPA e DHA são também conhecidos para promover a biogênese mitocondrial, que contribui potencialmente para o aumento do metabolismo da energia (KALUPAHANA et al, 2010).

Além disso, para o tecido adiposo, o EPA e o DHA também aumentam a oxidação de ácidos graxos no fígado (FLACHS et al, 2005), e do intestino delgado em roedores in vivo (VAN SCHOTHORST et al, 2009) . Finalmente, EPA e DHA inibem a lipogênese hepática em PPAR α (receptores ativados por proliferadores de peroxissoma) e AMPK modo dependente (HEIN et al, 2010).

EPA e DHA evitam consistentemente o ganho de excesso de peso e de gordura em roedores induzida por dieta hiperlipídica (RUZICKOVA et al, 2004). Alguns estudos humanos, também foram observados efeitos semelhantes de EPA e DHA na melhoria da adiposidade (COUET et al, 1997). Nossos resultados não apresentaram diferença significativa entre tratados e controle, mais experimentos futuros devem ser realizados para confirmar e validar os descritos aqui, já que a literatura demonstra que óleos com esta composição pode reduzir a adiposidade por diversos mecanismos (SIRIWARDHANAA et al, 2013).

Parte-se do pressuposto que o perfil lipídico de todos os grupos ao iniciar o experimento é estatisticamente igual e dentro dos valores de normalidade para ratos. Desta forma, levando em consideração a composição lipídica do *Plukenetia polyadenia*, que apresenta equilíbrio na proporção de ácido linoléico (48,5%) em relação ao ácido alfa-linolênico (33,3%) espera-se que o perfil lipídico destes roedores se mantenha nos níveis de normalidade.

Hoje em dia, as sociedades industrializadas são caracterizadas por um aumento de gordura saturada, de PUFA ômega-6, e a ingestão de ácidos graxos trans, bem como uma redução global em ingestão de ômega-3 (SIMOPOULOS, 2011). Considerando que os ácidos graxos ômega-3 e 6 competem pelas mesmas enzimas, o balanço entre Omega 6 e Omega 3 na dieta é de grande importância (MARTINS et al, 2008). O consumo elevado de ômega-6, juntamente com baixa ingestão de ômega-3, muda o estado fisiológico para um que é pró-inflamatório e pró-trombótico, com aumentos de vasoespasmos, vasoconstrição e a viscosidade do sangue e para o desenvolvimento de doenças associadas a estas condições (PATTERSON et al, 2012). Embora alguns autores considerem satisfatória a relação Omega 6 e Omega 3 de 10 a 5:119, as propostas mais recentes, com base em experimentação animal, é de 1:1 (Fürst, 2002).

O equilíbrio entre os ácidos graxos n-6/n-3 pode modular benéficamente o perfil lipídico. Ratos wistar alimentados com óleos vegetais na proporção de ácidos graxos n-6/n-3 de 2,3-2,6, apresentaram diminuição significativa nos níveis de colesterol total (CT), triglicérides (TG), LDL-C em comparação com ratos alimentados com outros óleos (UMESHA; NAIDU, 2012). A modulação do perfil lipídico a partir da suplementação de óleos fontes de PUFA's pode ser mais bem visualizada em modelos de animais com doenças crônicas (FERNANDES et al, 2012; AOUN et al, 2012).

Após a necropsia do rim, coração, pulmão, fígado, intestino e pâncreas, o tecido de cada órgão dos animais foi analisado para a identificação de edema, morte celular ou resposta inflamatória. A dosagem de óleo administrada nos grupos experimentais não produziu alteração da homeostasia das células a ponto de causar morte celular, edemas ou resposta inflamatória. Ao contrário, é esperado que os ácidos graxos poliinsaturados que compõem o *Plukenetia polyadenia* possuam efeito protetor nos tecidos.

De maneira geral, os PUFA's desempenham um papel importante na composição de todas as membranas celulares, onde mantêm a homeostase para a função correta da proteína de membrana, e a fluidez da membrana, regulando, assim, os processos de sinalização celular, as funções celulares e na expressão dos genes (DAS, 2006).

As enzimas da cadeia respiratória mitocondrial são complexos de proteínas de membrana, cuja função depende da composição e da fluidez da membrana lipídica mitocondrial. Estudos com suplementação de vários tipos de óleos (insaturados, saturados, trans) mostrou que a membrana mitocondrial do fígado de ratos pode ser profundamente alterada pela qualidade dos ácidos graxos e pela quantidade total de lipídios na dieta, causando impacto sobre a patogênese e desenvolvimento de doença hepática gordurosa não-alcoólica (AOUN et al, 2012).

Pesquisas em modelos de animais com falência renal crônica também revelou que a suplementação com ácidos graxos poli-insaturados apresenta efeitos benéficos sobre o prognóstico da doença. Os ratos que receberam suplementos de PUFA, além de modulação do perfil lipídico, apresentaram lesões histológicas significativamente menores em comparação com o grupo de controle (FERNANDES et al, 2012).

Estudos apontam que os derivados de PUFAs podem apresentar efeito antiinflamatório. A EPA também reduz a resistência à insulina e melhora a inflamação do tecido adiposo (mesmo quando o corpo e a massa de gordura não são alterados em ratos obesos induzidos por dieta) (KALUPAHANA et al, 2010). Ocorre uma melhora no perfil de adipocinas demonstrado pelo aumento das adipocinas anti-inflamatórias, tais como a adiponectina, e por diminuições de citocinas pró-inflamatórias, tais como TNF α , IL-6, MCP-1 e PAI-1. O efeito de EPA e DHA em normalizar os níveis de adiponectina no plasma parece ser em grande parte responsável por seu efeito insulino sensibilizante (NESCHEN et al, 2006).

Os adipócitos secretam eicosanóides, tais como as prostaglandinas, que possuem ações pró-inflamatórias. Eicosanóides AA-derivados, como PGE2 e tromboxano A2 tem uma maior atividade inflamatória do que os EPA-derivados. Desde que compete EPA com AA para incorporação nas membranas celulares, é possível que o aumento da ingestão de EPA reduz a produção de eicosanóides derivados de AA. De fato, mostramos previamente que a EPA impede AA secreção induzida por PGE2 de 3T3-L1 adipocytes in vitro (WORTMAN et al, 2009). Isto é potencialmente um outro mecanismo pelo qual o EPA alivia a inflamação do tecido adiposo. Existem outros mecanismos que contribuem por EPA e DHA que conferem ações anti-inflamatórias no tecido adiposo que vêm sendo atualmente elucidados (SIRIWARDHANAA et al, 2013).

Este estudo demonstra que *Plukenetia polyadenia* produz efeitos antinociceptivos em modelos de nocicepção (contorções abdominais induzidas por ácido acético, placa quente e

formalina) e os seus mecanismos de ação. Além disso, na composição do óleo desta semente descobrimos lípidos como os ácidos graxos linoleico, oleico, palmítico.

A reação de contorção induzida por ácido acético em camundongos tem sido largamente usada como ferramenta de rastreio para a avaliação das propriedades analgésicas ou anti-inflamatórias de novos agentes e foi descrito como um modelo típico para a dor inflamatória visceral (TJØLSEN; HOLE, 1997).

A irritação local provocada por um agente de teste na cavidade intraperitoneal provoca a ativação de uma variedade de mediadores, tais como a bradiquinina, substância P, e as prostaglandinas, especialmente, PGI₂, assim como algumas citocinas, tais como IL-1 β , TNF- α e IL-8 (CORREA et al, 1996;. RIBEIRO et al, 2000;. IKEDA et al 2001).. Estes mediadores activam nociceptores quimiosensitivos que contribuem para o desenvolvimento da dor inflamatória. A *Plukenetia polyadenia* foi capaz de reduzir as contorções abdominais nas doses de 25 e 50 mg / kg, sugerindo que o seu efeito antinociceptivo poderia estar relacionado com a inibição da liberação de mediadores em resposta ao ácido acético.

Os ácidos graxos podem inibir a produção de uma gama de proteínas inflamatórias, incluindo a COX-2, óxido nítrico sintase, TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 e IL-12 em culturas de células endoteliais, monócitos, macrófagos, e células dendríticas. Estes efeitos inibidores de cadeia longa n-3 de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) parecem envolver a diminuição de fosforilação de I κ B e a diminuição da ativação de NF κ B, efeitos que parecem envolver uma redução na ativação das principais proteínas de sinalização precoces, tais como proteína cinases, ativadas por mitogênicos (CALDER, 2012).

O teste da placa quente é um teste antinociceptivo central específico em que os agentes opióides exercem seus efeitos analgésicos via receptores supra espinhal e da coluna vertebral (NEMIROVSKY et al., 2001). O *Plukenetia polyadenia* não alterou o aumento da latência para saltar ou lambar. Estes resultados são sugestivos de uma ação antinociceptiva de *Plukenetia polyadenia* através de um mecanismo de ação periférico ao invés de um mecanismo central. Acredita-se que o teste da formalina é o que mais próximo se assemelha da dor clínica, em comparação com outros testes que empregam estímulos mecânicos ou térmicos (TJØLSEN; HOLE, de 1997; CAPONE; ALOISI, 2004). Este teste é um modelo de resposta nociceptiva em duas fases distintas, que envolvem mecanismos diferentes. A primeira fase (dor neurogênica) resulta da estimulação química direta de fibras mielinizadas e não mielinizadas aferentes nociceptivas, mas principalmente as do tipo C, que podem ser suprimidas por medicamentos analgésicos opióides como a morfina (AMARAL et al, 2007; GONÇALVES et al, 2008).

Na segunda fase, os mediadores inflamatórios nos tecidos periféricos, tais como as prostaglandinas, a histamina e serotonina, bradicinina, induzem alterações funcionais nos neurônios do corno dorsal da medula que, em longo prazo, promove a facilitação da transmissão sináptica ao nível espinal (FRANÇA et al, 2001; OLIVEIRA et al, 2008). Neste modelo, a *Plukenetia polyadenia* inibiu a resposta de lamber dos ratos na segunda fase, sugerindo que este composto exerça os seus efeitos antinociceptivos ligados a mecanismos de periféricos.

A naloxona, um antagonista de opióides, mostrou influência sobre a ação antinociceptiva do *Plukenetia polyadenia* (100 mg / kg). Isto sugere a participação do sistema opióide, na modulação da dor, provavelmente com o envolvimento da via NO/cGMP (JAVADI et al, 2013).

6 CONCLUSÃO

- Apesar do aumento da oferta calórica provida pelo *Plukenetia polyadenia*, os roedores do grupo experimental mantiveram seu peso semelhante ao grupo controle. Além disto, não foi verificada qualquer alteração significativa no apetite entre os grupos, já que todos mantiveram uma ingesta de ração semelhante.
- Como a administração crônica do *Plukenetia polyadenia* não provocou alterações significativas no perfil lipídico dos grupos experimentais em relação ao grupo controle, sugere-se que o *Plukenetia polyadenia* seja também testado em modelos de animais com doenças crônicas para se investigar seu potencial efeito sobre a modulação lipídica.
- As dosagens utilizadas não causaram alterações histológicas do tipo edema, morte celular ou inflamação.
- Demonstrou-se que o efeito antinociceptivo do *Plukenetia polyadenia* é dose-dependente, quando avaliada em modelos químicos, mas não térmicos de nocicepção em camundongos.
- O *Plukenetia polyadenia* tem atividade analgésica que, de acordo com os testes utilizados, é provavelmente de origem periférica. Os mecanismos envolvidos não são completamente compreendidos, no entanto, estes resultados sugerem que os receptores opióides estão envolvidos no efeito antinociceptivo da *Plukenetia polyadenia*.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, V.F.; FRANKLIN, K.B.J.; WESTBROOK, R.F. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. **Pain**, Netherlands, v.60, 1994.
- ALI T, JAVAN M, SONBOLI A, SEMNANIAN S. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. in experimental rat models. **Nat Prod Res.** 2012;26(16):1529-34. Epub 2011 Oct 10.
- ALMEIDA, M.Z. **Plantas Mediciniais**. Salvador, BA: Universidade Federal da Bahia, 2000.
- AMARAL J. F., SILVA M. I. G., NETO M. R. A., NETO P. F. T., MOURA B. A., MELO C. T. V., ARAÚJO F. L. O., DE SOUSA D. P., VASCONCELOS P. F., VASCONCELOS S. M., SOUSA F. C. F., 2007. *Biol. Pharm. Bull.*, 30, 1217—1220.
- ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.
- ANGELES-LÓPEZ G, PÉREZ-VÁSQUEZ A, HERNÁNDEZ-LUIS F, DÉCIGA-CAMPOS M, BYE R, LINARES E, MATA R. Antinociceptive effect of extracts and compounds from *Hofmeisteria schaffneri*. **J Ethnopharmacol.** 2010 Sep 15;131(2):425-32.
- AOUN M, FEILLET-COUDRAY C, FOURET G, CHABI B, CROUZIER D, FERRERI C, et al. Rat liver mitochondrial membrane characteristics and mitochondrial functions are more profoundly altered by dietary lipid quantity than by dietary lipid quality: effect of different nutritional lipid patterns. **Br J Nutr.** 2012 Mar;107(5):647-59.
- ASANUMA M, TOMLINSOM, A , WILLOUGHBY, D.A. Induction cyclo-oxygenase. **Advanced in Pharmacology**, 35: May, 1996.
- BALIKI MN, CHIALVO DR, GEHA PY, LEVY RM, HARDEN RN, PARRISHa TB, APKARIAN AV. 2006. Chronic pain and the emotional brain: Specific brain activity associated with spontaneous fluctuations of intensity of chronic back pain. **J Neurosci** 26(47):12165-12173.
- BATISTA, P.A et al. **The antinociceptive effect of (-)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice**. Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe, Campus Universitário Prof. Aloísio de Campos, São Cristóvão, SE, Brazil. *J Pain.* 2010 Nov;11(11):1222-9. Epub 2010 May 8.
- BEAR, M.F.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M.A. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso / Mark F. Bear, Barry W. Connors, Michael A. Paradiso; tradução Carla Dalmaz ... [et al] – 3 ed. – Proto Alegre : Artmed, 2008.**

BERNE, R M; LEVY, M N; KOEPPEN, B M; STANTON, B A. **Fisiologia**. Tradução de: Physiology, 5th ed; tradutores Nephtali Segal Grinbaum et al. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p. 105-121.

BERNE,R; LEVY, M; KOEPPEN, B; STANTON, B **Fisiologia 4 edição**. Rio de Janeiro,Guanabara Koogan, 2000.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Política nacional de medicina natural e práticas complementares-PMNPC. Brasília, DF, 2005.

BRODY – **Farmacologia Humana / editors Kenneth P. Minneman , Lynn Wecker ; editor associado Joseph Larner, Theodore M. Brody; [tradução Vilma Ribeiro de Souza Varga... et al]** – Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

CALDER P.C. 2012 The Journal of Nutrition, 73, 592—599.

CAMPBELL JN, MEYER RA. Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron* 52(1):77-92.Fitzgerald M. 2005. The development of nociceptive circuits. **Nat Rev Neurosci**, 2006, 6(7):507-520.

CAMPÊLO LM, DE ALMEIDA AA, DE FREITAS RL, CERQUEIRA GS, DE SOUSA GF, SALDANHA GB, FEITOSA CM, DE FREITAS RM. **Antioxidant and antinociceptive effects of Citrus limon essential oil in mice**. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:678673. Epub 2011 May 31.

CAPONE F. & ALOISI, A. M., 2004. Refinement of pain evaluation techniques. The formalin test. *Ann Ist Super Sanità*, 40 (2): 223:229.

COLLIER, H.O., KINNEEN, L.C., JOHNSON, C.A., SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal of Pharmacology**, 1968, 32, 295-310.

CONSTANZO, S, L. **Fisiologia / Linda Constanzo; tradução Marcelo Carriao Araújo Rodrigues ... [et al]** – Rio de janeiro: Elsevier, 2011

CORREA CR, KYKE DJ, CHAKRAVERTY S, CALIXTO JB., 1996. Antinociceptive profile of the pseudopeptide B2 bradykinin and receptor antagonist NPC 18688 in mice. *Br J Pharmacol* 117:552–558.

COSTANZO, L. S. **Fisiologia**. Tradução: Vilma Ribeiro de Souza Varga. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 65-79.

COUET C, DELARUE J, RITZ P, ANTOINE JM, LAMISSE F. Effect of dietary fish oil on body fat mass and basal fat oxidation in healthy adults. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21:637–43.

CURI, RUI. **Fisiologia básica / Rui Curi, Joaquim Procopio de Araújo Filho**. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan , 2009.

DAS, U. N. “Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology,” **Biotechnology Journal**, vol. 1, no. 4, pp. 420–439, 2006.

DAVIES, A; BLAKELEY A.G.H; KIDD, C. **Fisiologia Humana**. Tradução: Charles Alfred Esbérard. Porto Alegre: Artmed, 2002. p. 265-275.

DIRIG, D.M.; SALAMI, A.; RATHBUN, M.L.; OKAZI, G.T; YAKSI, T.L. Characterization of variables defining hindpaw withdrawal latency evoked by radiant thermal stimuli. **Journal of Neuroscience Methods**, 76: 183 -191, 1997

DOSTROVSKY, O.J.; CRAIG, A.D. Ascending projection system. In: MAcMAHOM, S.B; KOLTZENBOURG, M. **Wall and Melzack's textbook of pain**. 5ª edição. Churchill Livingstone. Elsevier, 2006.

DOUGLAS, CARLOS ROBERTO. **Tratado de fisiologia aplicado às ciências médicas**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 182-205.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brainstem stimulation in rats and cats. **Pain**, Amsterdam, v.4, 1977.

EDDY N.B, LEIMBACH D: Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. **J Pharmacol Exp Ther**, 1953, 107, 385–393.

FABRINI-SANTOS, Y. **Papel do Complexo receptor glutamato/NMDA e óxido nítrico no corno dorsal da medula espinhal na antinocicepção induzida pelo medo**. Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências de Letras de Ribeirão Preto/USP. Ribeirão Preto, 2010.

FERNANDES MB, CALDAS HC, MARTINS LR, FERREIRA CC, BAPTISTA MA, FERNANDES IM, ABBUD-FILHO M. Effects of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in the treatment of experimental chronic renal failure. **Int Urol Nephrol**. 2012 Oct;44(5):1571-6

FIELDS, H.L.; BASBAUM, A.I.; HEINRICHER, M.M. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: MAcMAHOM, S.B; KOLTZENBOURG, M. **Wall and Melzack's textbook of pain**. 5ª edição. Churchill Livingstone. Elsevier, 2006.

FIGUERAS M, OLIVAN M, BUSQUETS S, LOPEZ-SORIANO FJ, ARGILES JM. Effects of eicosapentaenoic Acid (EPA) treatment on insulin sensitivity in an animal model of diabetes: improvement of the inflammatory status. **Obesity (Silver Spring)** 2011;19:362–9.

FINKEL, R; CABEDDU, LX; CLARK, MA. **Farmacologia ilustrada**. Revisão e tradução: Augusto Langeloh. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 159 – 170.

FLACHS P, HORAKOVA O, BRAUNER P, ROSSMEISL M, PECINA P, FRANSSEN-VAN HAL N, et al. Polyunsaturated fatty acids of marine origin upregulate mitochondrial biogenesis and induce beta-oxidation in white fat. **Diabetologia** 2005;48: 2365–75.

FOX, STUART IRA. **Fisiologia humana**. Tradução de Marcos Ikeda. 7 ed. Barueri, SP: Manole, 2007. p. 240-245.

FRANÇA D. S., SOUZA A. L. S., ALMEIDA K. R., DOLABELLA S. S., MARTINELLI C., COELHO M. M., 2001 *Eur. J. Pharmacol.*, 421, 157—164.

FRANCO, C.R. et al. **Bioassay-guided evaluation of antinociceptive properties and chemical variability of the essential oil of *Hyptis fruticosa***. Department of Physiology, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brazil. *Phytother Res.* 2011 Nov;25(11):1693-9. Epub 2011 Mar 28.

FUCHS, F D; WANNMACHER, L; FERREIRA, MBC. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. P 228 a 258.

FÜRST P. The striking diet of the island of Crete: lipid nutrition from the palaeolithic to the affluent modern society. *Clin Nutr.* 2002;21(Suppl 2):9-14.

GENNARO, A. R. **REMINGTON: A ciência e a prática da farmácia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

GOLAN,D.E; TASHJIAN, Jr, A.H.; ARMSTRONG, E.J.; ARMSTRONG,A.W. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia / David E. Golan, editor – chefe, Armen H.Tashjian, Jr, co-editor, Ehrin J Armstrong, April W. Armstrong, editores associados; [tradução Cláudia Lúcia Caetano de Araújo, Patricia Lydie Voeux; revisão técnica Sérgio Ulhoa Dani]** – Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2009.

GONÇALVES, J. C. R., OLIVEIRA, F. S., BENEDITO, R. B., SOUSA, D. P., ALMEIDA, R. N. & ARAÚJO, D. A. M. A. D., 2008. Antinociceptive activity of (-)-Carvone: Evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. *Biol Phar. Bull.* 31 (5), 1017–1020.

GUILHON, C.C. et al. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. Department of Chemistry, Faculty of Science and Mathematics, University of Niš, Višegradska 33, 18000 Niš, Serbia. *J Ethnopharmacol.* 2011 May 17;135(2):406-13. Epub 2011 Mar 21.

GUYTON, ARTHUR C; HALL, JOHN E. **Tratado de fisiologia médica**. Tradução de Bárbara de Alencar Martins. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 598-609.

HAJHASHEMI V, SAJJADI SE, ZOMORODKIA, M. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bunium persicum* essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. Secretaria de Estado da Saúde, Centro de Investigação Toxicológica, Aracaju, SE, Brazil. *Pharm Biol.* 2011 Feb;49(2):146-51. Epub 2010 Oct 13.

HAJHASHEMI V, ZOLFAGHARI B, YOUSEFI A. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Satureja hortensis* seed essential oil, hydroalcoholic and polyphenolic extracts in animal models. *Med Princ Pract.* 2012;21(2):178-82. Epub 2011 Nov 16.

HEIN GJ, BERNASCONI AM, MONTANARO MA, PELLON-MAISON M, FINARELLI G, CHICCO A, et al. Nuclear receptors and hepatic lipidogenic enzyme response to a HUNSKAAR, S., BERGE, O.G., HOLE, K. Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in the formalin test. *Pain*, 1986. 25, 125-132.

HUNSKAAR, S., HOLE, K., 1987. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, 30: 103-114.

IKEDA Y, UENO A, NARABA H, OH-ISHI S, 2001. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice. *Life Sci* 69:2911–2919.

JAPA, A.J; SOUCCAR, C; LIMA-LANDMAN, M.T.R; CASTRO, M.S.A; LIMA, T.C.M. Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. **Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2003

JAVADI, S. et al. Pioglitazone potentiates development of morphine-dependence in mice: Possible role of NO/cGMP pathway. **Brain Research**, 2013.

JOHNSON, L. R. **Fundamentos de Fisiologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 565-579.

KALUPAHANA NS, CLAYCOMBE K, MOUSTAID-MOUSSA N. (n-3) Fatty acids alleviate adipose tissue inflammation and insulin resistance: mechanistic insights. **Nutrition: Advances in**; 2011.

KALUPAHANA NS, CLAYCOMBE K, NEWMAN SJ, STEWART T, SIRIWARDHANA N, MATTHAN N, et al. Eicosapentaenoic acid prevents and reverses insulin resistance in highfat diet-induced obese mice via modulation of adipose tissue inflammation. **J Nutr** 2010;140:1915–22.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica**. Tradução de Penildo Silva e Patrícia Lydir Vouex. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p. 416 – 432

KENNEDY A, MARTINEZ K, CHUANG CC, LAPOINT K, MCINTOSH M. Saturated fatty acid mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. **J Nutr** 2009;139:1–4.

KHALID, M.H. et al. Antinociceptive effect of the essential oil of *Zingiber zerumbet* in mice: possible mechanisms. **J Ethnopharmacol**. 2011 Sep 1;137(1):345-51. Epub 2011 Jun 6.

KOHNO T, KUMAMOTO E, HIGASHI H, et al. **Actions of opioids on excitatory and inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord**. *J Physiol* 1999;518(Pt3):803-13.

LE BARS D, GOZARIU M, CADDEN SW. Animal models of nociception. **Pharmacol Rev**.2001;53:597–652.

LEÃO, R.B.A.; FERREIRA, M.R.C.; JARDIM, M.A.G. Levantamento de plantas de uso terapêutico no município de Santa Bárbara do Pará, Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 1, p. 21-25, 2007.

LEITE, B.L. et al. Assessment of antinociceptive, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Cymbopogon winterianus* leaf essential oil. Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, 63105-000 Crato, CE, Brazil. **Pharm Biol**. 2010 Oct;48(10):1164-9.

LEITE, G.D.E. O. et al. (-)- α -Bisabolol attenuates visceral nociception and inflammation in mice. Department of Pharmacology and Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. **Fitoterapia**. 2011 Mar;82(2):208-11. Epub 2010 Sep 27.

LENT, ROBERTO **Cem bilhões de neurônios? : Conceitos Fundamentais de neurociência** / Roberto Lent – 2 ed.- São Paulo:Editora Atheneu, 2010.

LEVY, MATTHEW. N; BERNE, ROBERT M. **Fundamentos de Fisiologia**; tradução de Nephtali Segal Grinbaum et al. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 87-103.

LIANG J, HUANG B, WANG G. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory properties of essential oil from the roots of *Illicium lanceolatum*. **Nat Prod Res**. 2012;26(18):1712-4. Epub 2011 Oct 14.

LIMA DK, BALLICO LJ, ROCHA LAPA F, GONÇALVES HP, DE SOUZA LM, IACOMINI M, WERNER MF, BAGGIO CH, PEREIRA IT, DA SILVA LM, FACUNDO VA, SANTOS AR. Evaluation of the antinociceptive, anti-inflammatory and gastric antiulcer activities of the essential oil from *Piper aleyreanum* C.DC in rodents. **J Ethnopharmacol**. 2012 Jun 26;142(1):274-82.

LOPES, C.R. et al. **Folhas de chá**. Viçosa: UFV, 2005.

MACDONALD, A.D. et al., 1946. Analgesic action of pethidine derivatives and related compounds. *British Journal of Pharmacology*, p. 1, 4-14.

MALMBERG, A.B., YAKSH, T.L., Antinociceptive actions of spinal nonsteroidal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 1992, 263, 136-146.

MARTINS, E.R et al. **Plantas Medicinais**. Viçosa: UFV, 1995.

MARTINS MB, SUAIDEN AS, PIOTTO RF, BARBOSA M. Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados – Omega 3 obtidos de óleo de peixe e óleo de linhaça. **Rev Inst Ciênc Saúde**. 2008;26(2):153-6.

MAURER-SPUREJ E, PITTENDREIGH C, SOLOMONS K. **The influence of selective serotonin reuptake inhibitors on human platelet serotonin**. *Thromb Haemost* 2004;91(1):119-28.

MELLO, R.D.; DICKENSON, H.A.; Spinal cords mechanisms of pain. **British Journal of Anaesthesia**, England, v. 101, 2008.

MILLAN, MJ. The induction of pain: An Integrative Review. **Progress in Neurobiology**,57: 1 – 164, 1999.

MORTEZA – SEMMANI, K; SAEEDI, M.; IKUKO TORII; MORIKAWA, S. Modulatory effect of fosfomycin on acute inflammation in the rat air pouch model. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 21: 334 – 339, 2003.

NEMIROVSKY A, CHEN L, ZELMA V, JURNA I., 2001. The antinociceptive effect of the combination of spinal morphine with systemic morphine or buprenorphine. *Anesthesiol Analgesic* 93:197–203.

NESCHEN S, MORINO K, ROSSBACHER JC, PONGRATZ RL, CLINE GW, SONO S, et al. Fish oil regulates adiponectin secretion by a peroxisome proliferator-activated receptor γ - dependent mechanism in mice. **Diabetes**, 2006; 55:924–8.

OLIVEIRA, F.S., SOUSA, D.P., ALMEIDA, R.N., 2008. Antinociceptive. Effect of Hydroxydihydrocarvone. *Biol. Pharm. Bull.*, 31 (4), 588—591.

OTUKI MF, LIMA FV, MALHEIROS A, CECHINEL-FILHO V, MONACHE FD, YUNES RA AND CALIXTO JB. Evaluation of the antinociceptive action caused by ether fraction and a triterpene isolated from resin of *Protium kleinii*. **Life Scie**, 2001, 69(19): 2225-2236.

PATTERSON, E.; WALL,R.; FITZGERALD,G.F.; ROSS,R.P, STANTON, C. Health Implications of High Dietary Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. **J Nutr Metab**. 2012;

PINHEIRO BG, SILVA A.S. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. **J Ethnopharmacol**. 2011 Nov 18;138(2):479-86.. Epub 2011 Sep 29.

PINHO JP, SILVA AS, PINHEIRO BG, SOMBRA I, BAYMA JDE C, LAHLOU S, SOUSA PJ, MAGALHÃES PJ. Antinociceptive and antispasmodic effects of the essential oil of *Ocimum micranthum*: potential anti-inflammatory properties. **Planta Med**. 2012 May;78(7):681-5. Epub 2012 Mar 12.

PRICE DD. Central neural mechanisms that interrelate sensory and affective dimensions of pain. **Mol Interv**, 2002, 2(6):392-403, 339.

QUINTANS-JÚNIOR L. et al. Antinociceptive action and redox properties of citronellal, an essential oil present in lemongrass. **J Med Food**. 2011 Jun;14(6):630-9. Epub 2011 Apr 11.

RADULOVIĆ, N. S et al. Identification of a new antinociceptive alkaloid isopropyl N-methylantranilate from the essential oil of *Choisya ternata* Kunth. Department of Biology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil. **J Ethnopharmacol**. 2011 Jun 1;135(3):610-9. Epub 2011 Mar 21.

RANG, H.P. et al. **Rang & Dale Farmacologia**. Tradução de Raimundo Rodrigues Santos e outros. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 558 – 609.

RANG, H.P; DALE, M.M; RITTER, J.M; MOORE, P.K. **Farmacologia**. H.P.RANG ...[et al]; tradutores: Patricia Lydie Voeux, Antonio José Magalhães da Silva Moreira. – Rio de Janeiro : Elsevier, 2004

RAYMUNDO, L.J et. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of the *Hyptis pectinata* (L.) Poit essential oil. Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Óxido Nítrico, ICB, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil. **J Ethnopharmacol**. 2011 Apr 12;134(3):725-32. Epub 2011 Jan 26.

REICHERT, J.A., DAUGHTERS, R.S., RIVARD, R., SIMONE, D.A. Peripheral and preemptive opioid antinociception in a mouse visceral pain model. **Pain**, 2001, 89, 221-227.

RIBEIRO, R.A., VALE, M.L., THOMAZZI, S.M., PASCHOALATO, A.B.P., POOLE, S., FERREIRA, S.H., CUNHA, F.Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **European Journal of Pharmacology**, 2000, 387, 111-118.

RIELLA, K.R. et al. **Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents.** *J Ethnopharmacol.* 2012 Sep 28;143(2): 656-63. Epub 2012 Jul 31.

ROSS JR, RILEY J, QUIGLEY C, WELSH KI. Clinical pharmacology and pharmacotherapy of opioid switching in cancer patients. **Oncologist**, 2006, 11(7):765-773.

RUZICKOVA J, ROSSMEISL M, PRAZAK T, FLACHS P, SPONAROVA J, VECK M, et al. Omega-3 PUFA of marine origin limit diet-induced obesity in mice by reducing cellularity of adipose tissue. **Lipids** 2004;39:1177-85.

SABOLOVIC, N; HEYDEL, J.M; Li, X; LITTLE, J.M.; HUMBERT, A.C.; dyslipidemic sucrose-rich diet and its reversal by fish oil n-3 polyunsaturated fatty acids. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 2010;298:E429-39.

RADOMINSKA, P.A.; MEGDALOU, J. Carboxyl nonsteroidal anti-inflammatory drugs are efficiently glucuronidated by microsomes of the human gastrointestinal tract, 2004. **Biochemica et Biophysica Acta**, 1675, 120-129.

RIBEIRO, F.A. **Análise química e toxicológica do óleo das amêndoas de *Plukenetia polyadenia* Mull. Arg. (Euphorbiaceae).** Dissertação de Mestrado em Química da UFPA. Belém-Pará, 2005.

SANTOS, A.R.S., CALIXTO, J.B. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neuropeptides**, 1997, 31, 381-389.

SANTOS, A.R.S., VEDANA, E.M.A., FREITAS, G.A.G.. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. **Inflammation Research**, 1998, 47, 302-307.

SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Cap. 15. Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000.

SHAH, S.M. et al. Analysis of chemical constituents and antinociceptive potential of essential oil of *Teucrium Stocksianum* bioss collected from the North West of Pakistan. **BMC Complement Altern Med**. 2012

SHERWOOD, LAURALEE. **Fisiologia humana: das células aos sistemas.** Revisão técnica Maria Elisa Pimentel Piemonte. Tradução: All Tasks. 7ª Edição. São Paulo: Cengage Learning, 2011. P. 183-194.

SILVA, P. **Farmacologia**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 467-480.

SILVERTHORN, DEE UNGLAUB. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**; tradução Aline de Souza Pagnussat et al. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 334-349.

SIMOPOULOS, A. P. "Evolutionary aspects of Diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain," **Molecular Neurobiology**, vol. 44, no. 3, pp. 203–215, 2011.

SIRIWARDHANAA, N; KALUPAHANA, N.S, CEKANOVA, M; LEMIEUX, M; GREER, B; MOUSTAID-MOUSSA, N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 2013; 613–623

SOUSA, D.P. de et al. Pharmacological activity of (R)-(+)-pulegone, a chemical constituent of essential oils. **Z Naturforsch C**. 2011 Jul-Aug;66(7-8):353-9.

SOUZA, C.D.; FELFILI, J.M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, v. 20, p. 135-142, 2006.

STEFANO GB, FRICCHIONE G, GOUMON Y, ESCH T. Pain, immunity, opiate and opioid compounds and health. **Med Sci Monit**, 2005, 11(5):MS47-MS53.

TAN, S.C.; PATEL, B.K.; JACKSON, S.H.; SWIFF, C.G.; HUTT, A. J., Stereo-selectivity of ibuprofen metabolism and pharmacokinetics following the administration of the racemate to healthy volunteers. **Xenobiotica**, 2002, 32, 683-697.

TJØLSEN A, HOLE K (Animal models of analgesia. In: Dickenson A, Besson J (eds) The pharmacology of pain, vol. 130. Springer Verlag, Berlin, pp 1–20, 1997.

TREEDE RD, MEYER RA, RAJA SN, CAMPBELL JN. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. **Prog Neurobiol**, 1992, 38(4):397-421.

UMESHA SS, NAIDU KA. Vegetable oil blends with α -linolenic acid rich Garden cress oil modulate lipid metabolism in experimental rats. **Food Chem**. 2012 Dec 15;135(4):2845-51.

VAN SCHOTHORST EM, FLACHS P, FRANSSEN-VAN HAL NL, KUDA O, BUNSCHOTEN A, MOLTHOFF J, et al. Induction of lipid oxidation by polyunsaturated fatty acids of marine origin in small intestine of mice fed a high-fat diet. **BMC Genomics** 2009;10:110.

VANE, J.; BOTTING, R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **FASEB J**, 1: 89 - 96, 1987.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. **Plantas medicinais: cura segura?** *Química Nova*, v. 28, p. 519-528, 2005.

VENÂNCIO, A.M et al. Chemical composition, acute toxicity, and antinociceptive activity of the essential oil of a plant breeding cultivar of basil (*Ocimum basilicum* L.). Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Óxido Nítrico, ICB, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil. **Planta Med**. 2011 May;77(8):825-9. Epub, 2010 Dec 14.

WALDHOER M, BARTLETT SE, WHISTLER JL. Opioid receptors. **Annu Rev Biochem**, 2004, 73:953-990.

WIDMAIER, ERIC P/ VANDER, SHERMAN LUCIANO. **Fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais** Eric P. Widmaier, Hershel Raff, Kevin T. Strang; colaboração de Mary Erskine; [revisão técnica Luciene Colovan; tradução Antonio Francisco Dieb Paulo, Luciene Coovan]. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 198-212.

WORTMAN P, MIYAZAKI Y, KALUPAHANA NS, KIM S, HANSEN-PETRIK M, SAXTON AM, et al. n3 and n6 polyunsaturated fatty acids differentially modulate prostaglandin E secretion but not markers of lipogenesis in adipocytes. **Nutr Metab (Lond)**, 2009;6:5.

YAMAMOTO T, NOZAKI-TAGUCHI N. Analysis of the effects of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 in spinal nociceptive transmission using indomethacin, a non-selective COX inhibitor, and NS-398, a COX-2 selective inhibitor. **Brain Research**, 1996, 739, 104-110.

ANEXOS

APÊNDICES



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
FACULDADE DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA – HISTOPATOLÓGICO

ANIMAL	EDEMA		MORTE CELULAR		RESPOSTA INFLAMATÓRIA		OBSERVAÇÕES
	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	NÃO	
R1		X		X		X	
R2		X		X		X	
R3		X		X		X	
R4		X		X		X	
R5		X		X		X	
R6		X		X		X	
R7		X		X		X	
R8		X		X		X	
R9		X		X		X	
R10		X		X		X	
R11		X		X		X	
R12		X		X		X	
R13		X		X		X	
R14		X		X		X	
R15		X		X		X	