

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS

**Avaliação das atividades antinociceptiva,
antiinflamatória e antipirética do extrato
hidroalcoólico bruto de *Alternanthera CF
brasiliensis* (L) Kuntze em ratos**

Rotherdan Mecenas Cruz

**Goiânia - GO
2009**

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS

**Avaliação das atividades antinociceptiva,
antiinflamatória e antipirética do extrato
hidroalcoólico bruto de *Alternanthera CF
brasiliensis* (L) Kuntze em ratos**

Rotherdan Mecenas Cruz

Dissertação apresentada ao **Programa de Pós-Graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica**, oferecido numa associação entre a Universidade Católica de Goiás, a Universidade Estadual de Goiás e o Centro Universitário de Anápolis, para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. *Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza*

**Goiânia - GO
2009**

C957a Cruz, Rotherdan Mecnas.

Avaliação das atividades antinociceptiva, antiinflamatória e antipirética do extrato hidroalcoólico bruto de *Alternanthera CF brasiliana* (L) Kuntze em ratos / Rotherdan Mecnas Cruz. – Goiânia, 2009.

56 p. il.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Universidade Estadual de Goiás. Centro Universitário de Anápolis, 2009.

“Orientadora: Prof^a. Dra. Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza”.

1. Plantas medicinais. 2. Medicamentos fitoterápicos – terapêutica. 3. *Alternanthera brasiliana* – avaliação terapêutica. I. Título.

CDU: 615.2:633.88(043)



UNIVERSIDADE
Católica
DE GOIÁS

PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1071 • Fax: (62) 3946.1073
www.ucg.br • prope@ucg.br

DISSERTAÇÃO DO MESTRADO PROFISSIONAL EM GESTÃO,
PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM TECNOLOGIA
FARMACÊUTICA

DEFENDIDA PELO MESTRANDO ROTHERDAN MECENAS
CRUZ, EM 25 DE SETEMBRO DE 2009, CONSIDERADO
aprovado PELA BANCA EXAMINADORA.

1) Dra. Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza/ UEG (Presidente)

Fabiane B. V. de Souza

2) Dr. Gilberto Lucio Benedito de Aquino/UEG (Membro Interno)

Gilberto Lucio Benedito de Aquino

3) Dra. Mani Indiana Funez / UNB (Membro Externo)

mani funez

Dedicatória

A Deus, Criador de todas as coisas, sem Ele, nada seria. Obrigado por estar sempre ao meu lado e me dar sempre mais do que mereci.

Aos meus pais, Joaquim Mota da Cruz e Norma Luiza Mecnas Cruz, sempre presentes. Obrigado pelo amor, carinho, paciência; exemplos da minha vida em todos os sentidos. Amo vocês.

Às minha irmãs, Iana Kelly Mecnas Cruz e Luciana Mecnas Cruz, e ao meu sobrinho Gabriel, vocês são fundamentais em minha vida. Obrigado por vocês sempre me apoiarem e por fazerem sentir-me amado.

À minha noiva, Neurilene Oliveira Luz, pelo amor, compreensão e amizade. Companheira de todas as horas. Obrigado pela cumplicidade e por estar presente em minha vida.

Agradecimentos

À Capes, pelo apoio Financeiro.

À Profa. Dra. Fabiane Hiratsuka de Veiga Souza, pelo apoio, sempre paciente nos experimentos diante de minha iniciação como pesquisador e sempre presente quando necessitei de suas orientações;

Ao meu grande amigo, companheiro e parceiro de experimentos, Marcelino Santos Neto, meu especial agradecimento pelo apoio nos momentos de desânimo, sem sua ajuda tudo seria muito mais difícil;

À Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins, pelo apoio técnico e científico, em especial a Bruno, Fábio, Rebeca pelos conselhos e pela ajuda com o material sem o qual a realização desse trabalho não seria possível;

Ao Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos, Itpac, pelo apoio que me permitiu ausentar de meu trabalho para realização dessa pesquisa;

Ao pesquisador, colega de serviço e sempre Mestre, Hebert Batista, pelas orientações, ajuda e conselhos. Minha gratidão e sinceros agradecimentos;

Ao Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP-USP) e à Profa. Dra. Glória E. P. de Souza por gentilmente ceder suas instalações para realização dos experimentos;

Aos colegas de Laboratório, Alexandre Kanashiro, David Malvar, Juliano Martins, Renes Machado e Andréa Pessini pelo apoio nos experimentos e por nos ter acolhido com tanto respeito e companheirismo;

Aos Colegas do Mestrado Profissionalizante em Tecnologia Farmacêutica, pela companhia no decorrer desses dois anos;

A toda minha família, amigos e colegas de serviço pela paciência e incentivo e por todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram nessa empreitada;

Aos meus pais pelo apoio além de emocional, financeiro;

A todos os docentes do Mestrado pelo conhecimento a mim transferido.

Ao Professor Dr. Eduardo Ribeiro dos Santos pela identificação e catalogação da planta *Alternanthera brasiliana*.

Resumo

As plantas medicinais sempre foram utilizadas pelo homem para sanar problemas de saúde. Este tratamento é baseado principalmente na observação do comportamento dos animais frente as plantas e na passagem dos costumes de sua utilização de geração em geração. Muitos medicamentos fitoterápicos são atualmente utilizados na terapêutica depois de sua ação comprovada cientificamente, validando seu uso e eficácia. Tendo em vista os altos investimentos aplicados pelos grandes conglomerados farmacêuticos no desenvolvimento de novos fármacos e a descoberta relativamente lenta destes, as plantas são sem dúvida fontes pouco exploradas para esse fim já que existem poucos estudos quando comparado ao grande número de espécies da flora. O objetivo deste estudo foi avaliar as atividades antiinflamatória, antipirética e antinociceptiva do extrato bruto de *Alternanthera brasiliana* (EAB) no modelo de edema de pata induzido por carragenina, no modelo de febre induzida por substância pirogênica, Lipopolissacarídeo- LPS e no modelo de dor induzida por formalina em ratos, respectivamente. No teste de atividade antipirética, a inibição do EAB na concentração de 40mg/kg ocorreu em dois intervalos: 4,5h, inibição de 31,4% e 6h, 35,7% de redução. Já na concentração de 80 mg/Kg só ocorreu na 6ª hora, 42,8%. A dose de 160mg/kg inibiu a febre significativamente, 30,6%, apenas em torno de 4,5h após a injeção do LPS. As doses de 640 e 1280 mg/kg demonstraram ser eficientes em reduzir a febre principalmente entre a 2ª e 6ª horas, onde o pico de inibição na 3ª hora (47% para a menor dose e 35,2% para dose de 1280 mg). Nos resultados referentes a inibição do edema provocado por carragenina observa-se que as doses de 640 e 1280mg/kg foram eficazes na redução do edema entre as 3ª e 5ª horas, com pico de inibição de 36,8% na 3ª hora para a dose de 1280 mg e diminuição de 36,2% na 4ªh para a menor dose, demonstrando resultado semelhante a droga antiinflamatória utilizada como controle positivo, a indometacina. A administração do EAB no teste de nocicepção, nas doses de 640 e 1280mg, mostrou inibição significativa sobre o número de sacudida de pata nos ratos, tanto na fase neurogênica, entre 0 e 5 min, quanto na fase inflamatória, 15-20 min, onde o intervalo de inibição máxima aconteceu entre 15-19 min para a dose de 640 mg, 70,6% e entre 20-24 min para dose de 1280 mg, 54,4%. Este estudo indica que a planta estudada apresenta atividades antiinflamatória, antinociceptiva e antipirética.

Palavras-chave: Plantas medicinais, *Alternanthera brasiliana*, atividade antiinflamatória, atividade antinociceptiva e atividade antipirética

Abstract

Medicinal plants have always been used by man to solve health problems. This treatment is based mainly on observation of behavior of animals and plants in the front passage of the customs of its use from generation to generation. Many herbal medicines are currently used in therapy after his action proved scientifically, validating its use and effectiveness. Considering the high investments implemented by large conglomerates in the development of new pharmaceutical drugs and the discovery of these relatively slow, the plants are certainly sources little used for this purpose since there are few studies compared the number of species of flora. The aim of this study was to evaluate the activities antiinflammatory, antipyretic and antinociceptive of the crude extract of *Alternanthera brasiliensis* (EAB) in the model of paw edema induced by carrageenan, in the model of fever induced by substance pirogência, lipopolysaccharide-LPS and the type of pain induced by formalin in rats, respectively. The testing of antipyretic activity, inhibition of EAB in the concentration of 40mg/kg occurred in two intervals: 4.5 h, inhibition of 31.4% and 6h, 35.7% reduction. Already at a concentration of 80 mg / kg was only the 6th time, 42.8%. The dose of 160mg/kg significantly inhibited the fever, 30.6%, only around 4.5 h after injection of LPS. The doses of 640 and 1280 mg / kg shown to be effective in reducing fever mainly between the 2nd and 6th hours, where the peak of inhibition at the 3rd hour (47% for lower dose and 35.2% for a dose of 1280 mg) . In results for the inhibition of edema caused by carrageenan was observed that doses of 640 and 1280mg/kg were effective in reducing the swelling between the 3rd and 5th hours, with peak inhibition of 36.8% in the 3rd time for the dose of 1280 mg and a decrease of 36.2% in the 4th h for the lower dose, showing results similar to anti-inflammatory drug used as positive control, the indomethacin. The administration of the EAB test nociception at doses of 640 and 1280mg, showed significant inhibition on the number of shaken to paw in rats, both the neurogenic phase, between 0 and 5 min, and in the inflammatory phase, 15-20 min, where the range of maximum inhibition occurred between 15-19 min for a dose of 640 mg, 70.6% and between 20-24 min for a dose of 1280 mg, 54.4%. This study indicates that the plant studied presented anti-inflammatory activity, antinociceptive and antipyretic.

Keywords: Medicinal plants, *Alternanthera brasiliensis*, anti-inflammatory activity, antinociceptive activity and antipyretic activity

Lista de Figuras

- Figura 1- Detalhe da parte aérea *Alternanthera brasiliana* cultivada o horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO.....17
- Figura 2- Canteiro de *Alternanthera brasiliana* cultivada o horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO.....17
- Figura 3 -Fluxo de preparação do Extrato bruto de *A. brasiliana*.....45
- Figura 4 - Fluxo de Desenvolvimento dos ensaios farmacológicos.....46
- Figura 5- Efeito da indometacina e do extrato etanólico de *A. brasiliana* (EAB) sobre a febre induzida por lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) em ratos.....50
- Figura 6- Efeito de diferentes doses de extrato etanólico de *A. brasiliana* (EAB) sobre a febre induzida por lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) em ratos.....51
- Figura 7- Efeito da administração do extrato etanólico de *A. brasiliana* (EAB) nas doses de 640 e 1280 mg/kg sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina (Cg).....54
- Figura 8- Efeito da administração do extrato etanólico de *A. brasiliana* (EAB) nas doses de 640 e 1280 mg/kg sobre a resposta nociceptiva induzida por formalina.....56

Lista de Abreviaturas

- ΔT - Variação da temperatura
a.C- Antes de Cristo
AMPc- Adenosina monofosfato cíclica
APOHA- Área pré-óptica de hipotálmo anterior
B₁- Receptor de cininas tipo 1
B₂- Receptor de cininas tipo 2
Cg- Carragenina
COX- Enzima ciclooxigenase
CRF- Fator liberador de Corticotropina
CSF- Líquido cérebro-espinhal
DNA- ácido desoxirribonucléico
E.P.M- Erro padrão da média
EAB- Extrato de *Altenanthera brasiliana*
ET- Endotelina
FMT/TO- Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins
h- Hora
H- Receptores histaminérgicos
HDM- Hipotálamo dorso medial
HSP- Heat Shock Proteins
i.c.v.- Intracerebroventricular
i.p.- Intraperitoneal
ICAM- Molécula de adesão intracelular
IFN- Interferon
IL- Interleucina
KC- Quemocina de neutrófilo
LES- Lupus eritematoso sistêmico
LPS- Lipopolissacarídeo
MDP- Muramil-dipeptídeo
MIP- Proteína inflamatória de macrófago
MnPO- Área pré-óptica mediana
MPO- Área pré-óptica medial

MSH- Hormônio estimulante de melanócitos
NFκB- Fator de transcrição nuclear kappa B
NK- Células Natural Killer
NK1 -Receptor do tipo 1 das taquininas
NK2 -Receptor do tipo 2 das taquininas
NK3 -Receptor do tipo 3 das taquininas
NK4 -Receptor do tipo 4 das taquininas
NOS- Óxido nítrico sintase
NOS_e- Óxido nítrico sintase endotelial
NOS_i- Óxido nítrico sintase induzida
NOS_n- Óxido nítrico sintase neuronal
OVLT- Orga num vasculosum lamina terminalis
PCR- Proteína C reativa
PFAg- Proteína de Fase Aguda
PFPF- Fator pirogênico pré-formado em macrófagos
PGD₂- Prostaglandina D₂
PGE₂- Prostaglandina E₂
PGF_{2α}- Prostaglandina F_{2α}
PGI₂- Prostaglandina I₂
PGs- Prostaglandinas
PPT- Preprotaquininas
RFAg- Resposta de Fase aguda
RNAm- Ácido ribonucléico mensageiro
rRPa- Núcleo pálido da rafe rostral
SIDA- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SNC- Sistema Nervoso Central
T_c- Temperatura corporal
TGF- Fator transformador de crescimento
TNF- Fator de Necrose Tumoral
U-937- Linhagem celular de monócitos humanos
VHS- Velocidade de hemossedimentação
μm- Micrômetro

Sumário

Resumo	vii
Abstract	viii
Lista de Figuras	ix
Lista de Abreviaturas	x
1. Introdução	14
1.1. Plantas Medicinais	14
1.2. <i>Alternanthera CF brasiliana</i> (L) KUNTZE	16
1.3. Inflamação	19
1.3.1. Mediadores do processo inflamatório	21
1.3.1.1. Óxido nítrico	21
1.3.1.2. Citocinas	22
1.3.1.3. Cininas	23
1.3.1.4. Aminas vasoativas	23
1.3.1.5. Taquicininas	24
1.4. Febre	24
1.4.1. Papel da febre nas defesas orgânicas	24
1.4.2. Ações patológicas dos pirogênicos endógenos	28
1.4.3. Mediadores da resposta febril	29
1.4.3.1. Prostaglandinas (PGs)	30
1.4.3.2. Citocinas	31
1.4.3.3. Fator liberador de corticotropina (CRF)	31
1.4.3.4. Endotelinas (ET)	32
1.4.4. Patogênese da febre e das manifestações associadas	33
1.5. Dor	35
1.5.1. MECANISMOS NEURAIS DA DOR	39
1.5.1.1. Modulação Periférica	39
1.5.1.2. Modulação Central	39
1.5.2. Neurotransmissores da dor	40
1.5.2.1. Substância P (SP)	40
1.5.2.2. Glutamato	41

1.5.2.3. Prostaglandinas (PGs).....	41
2. Objetivos.....	43
2.1. Objetivo Geral.....	43
2.2. Objetivos Específicos.....	43
3. Materiais e Métodos.....	44
3.1. Preparação do extrato etanólico de <i>Alternanthera CF brasiliiana</i> (L) Kuntze (EAB).....	44
3.2. Ensaio farmacológico.....	45
3.3. Animais.....	46
3.4. Tratamentos.....	46
3.5. Ensaio de atividade antipirética no modelo de febre induzida por LPS, em ratos.....	47
3.6. Ensaio de atividade antiinflamatória no modelo de edema de pata induzido por carragenina, em ratos.....	47
3.7. Teste de atividade analgésica no modelo da formalina, em ratos.....	48
3.8. Análise Estatística.....	48
4. Resultados e Discussão.....	49
4.1. Efeito da administração oral do EAB sobre a febre induzida pelo LPS, em ratos.....	49
4.2. Efeito da administração oral do EAB sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina, em ratos.....	53
4.3. Efeito da administração oral do EAB sobre a nocicepção induzida por formalina, em ratos.....	55
5. Conclusões.....	60
Referências.....	61

1. Introdução

1.1. Plantas Medicinais

Desde as antigas civilizações, o homem tem confiado nas plantas como um arsenal profilático ou terapêutico para manter e restaurar a saúde. A referência mais antiga que se tem conhecimento do uso das plantas data de mais de sessenta mil anos. As primeiras descobertas foram feitas por estudos arqueológicos em ruínas do Irã. Também na China, em 3.000 a.C, já existiam farmacopéias que compilavam as ervas e as suas indicações terapêuticas. A utilização das plantas medicinais faz parte da história da humanidade, tendo grande importância tanto no que se refere aos aspectos medicinais, como culturais (REZENDE & COCCO, 2002).

Populações nativas de todo o mundo são responsáveis pelo grande elenco das plantas atualmente cultivadas para suprir necessidades alimentícias, industriais ou médicas, bem como por cultivares que ainda desconhecemos e são utilizados por essas populações. As investigações etnobotânicas realizadas no decorrer dos últimos 100 anos têm provado essas afirmativas (ALBUQUERQUE, 1997).

De acordo com Pitman (1996) o conhecimento sobre as plantas medicinais é proveniente, pelo menos, de três fontes principais: a observação cuidadosa dos efeitos de certos alimentos e condimentos, dando a idéia de como utilizá-los em caso de doenças; a observação das atitudes de animais e insetos perante as plantas, inspirando o ser humano a utilizar tais vegetais como elementos de cura; e a observação das características próprias das plantas e a formulação de idéias acerca das suas qualidades, seguidas da experimentação dos seus efeitos. Em resumo, por meio da tentativa e do erro, pouco a pouco os povos mais primitivos da história da humanidade passaram a conhecer as plantas de seu ecossistema e a reconhecer suas propriedades, inclusive as medicinais.

As plantas medicinais representam a principal matéria médica utilizada pelas chamadas medicinas tradicionais, ou não ocidentais, em suas práticas

terapêuticas, sendo a medicina popular a que utiliza o maior número de espécies diferentes (HAMILTON, 2003). A necessidade exige e a ciência busca a unificação do progresso com aquilo que a natureza oferece, respeitando a cultura do povo em torno do uso de produtos ou ervas medicinais para curar os males (ACCORSI, 2000). O conflito entre as formas de cura alternativa e o saber científico ocorre a partir do momento em que os leigos exerciam formas alternativas de cura, e este conhecimento era, em geral, desvinculado do saber acadêmico, sendo então considerado ilegítimo. O uso das práticas alternativas em saúde tem persistido, entre outros motivos, pela dificuldade no acesso à assistência de saúde para parte da população, que não tem suas demandas e necessidades atendidas, as quais são parcialmente supridas pelo uso das terapias alternativas e também por opção pessoal (REZENDE & COCCO, 2002).

As plantas são importantes fontes de substâncias naturais biologicamente ativas, muitas das quais podem ser utilizadas como modelo para a síntese de compostos ativos e/ou seletivos para o tratamento de determinada doença. A síntese é realizada por meio de estudos sobre a estrutura e a atividade biológica, visando determinar quais são os fatores mais importantes relacionados à determinada atividade (CORDELL, 1995). Embora muitos compostos derivados de plantas com efeitos medicinais possam ser sintetizados em laboratórios, tal síntese é complexa e os rendimentos, muitas vezes, são baixos e a produção economicamente inviável (FRANÇA, 2001).

No Brasil, a utilização de medicamentos fitoterápicos ou preparados extraídos de plantas é significativa, isto porque a biodiversidade da flora brasileira é grande e apresenta um importante potencial terapêutico. Além disso, o difícil acesso aos medicamentos convencionais, tendo em vista o alto custo, torna interessante o uso de terapias alternativas e o uso terapêutico de produtos naturais, especialmente aqueles derivados de plantas (RATES, 2001). É importante também ressaltar que a indústria farmacêutica no Brasil possui um faturamento significativo na faixa de U\$ 10 bilhões e estima-se que 25% deste faturamento seja originado de medicamentos derivados de plantas (GARCIA *et al.*,

1996). Estes fatos fazem com que muitos pesquisadores investiguem as propriedades químicas e biológicas de plantas.

Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada no. 48/2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, fitoterápicos são medicamentos preparados exclusivamente com plantas ou partes de plantas medicinais (raízes, cascas, folhas, flores, frutos ou sementes), que possuem propriedades reconhecidas de cura, prevenção, diagnóstico ou tratamento sintomático de doenças, validadas em estudos etnofarmacológicos, documentações tecnocientíficas ou ensaios clínicos de fase 3. Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia as plantas medicinais estão tendo seu valor terapêutico pesquisado e ratificado pela ciência e vem crescendo sua utilização recomendada por profissionais de saúde.

Pode-se observar as novas tendências no uso de produtos fitoterápicos, pois entre 1960 e 1980 a utilização era motivada pelo uso folclórico tradicional e os consumidores eram *hippies*, "advogados" da medicina alternativa. Em 1990, o mercado foi motivado pela combinação de folclore, pesquisas científicas e a mídia, e os consumidores eram idosos da classe média, procurando pela medicina natural e a manutenção da saúde. As vendas de fitoterápicos alcançaram cifras da ordem de bilhões de dólares na Europa, Ásia, Japão e Estados Unidos, num total de 12 a 15% das vendas de medicamentos no mercado mundial. O aumento nas vendas foi resultante das pesquisas científicas realizadas (WILKINSON, 1998).

Algumas características desejáveis das plantas medicinais são eficácia, baixo risco de uso, assim como reprodutibilidade e estabilidade. Entretanto, devem ser levados em conta alguns pontos para formulação dos fitoterápicos, necessitando do trabalho multidisciplinar para que a espécie vegetal seja selecionada corretamente, o cultivo seja adequado, a avaliação dos teores dos princípios ativos seja feita e para que a manipulação e a aplicação na clínica médica ocorram (NAKAZAWA, 1999).

No Brasil há cem mil espécies catalogadas, sendo apenas dois mil com uso científico comprovado (REZENDE & COCCO, 2002).

O aproveitamento adequado dos princípios ativos de uma planta exige o preparo correto, ou seja, para cada parte a ser usada, grupo de princípio ativo a ser extraído ou doença a ser tratada, existe forma de preparo e uso mais adequados. A maioria dos efeitos colaterais conhecidos, registrados para plantas medicinais, são extrínsecos à preparação (CALIXTO, 2000) e estão relacionados a diversos problemas de processamento, tais como identificação incorreta das plantas, falta de padronização, prática deficiente de processamento, contaminação, substituição e adulteração de plantas, preparação e/ou dosagem incorretas.

As informações técnicas ainda são insuficientes para a maioria das plantas medicinais, de modo a garantir qualidade, eficácia e segurança de uso das mesmas. A domesticação, a produção, os estudos biotecnológicos e o melhoramento genético de plantas medicinais podem oferecer vantagens, uma vez que tornam possível obter uniformidade e material de qualidade que são fundamentais para a eficácia e segurança (CALIXTO, 2000).

As plantas medicinais podem ser classificadas por categorias (RUDDER, 2002) de acordo com sua ação sobre o organismo, como: estimulantes, calmantes, emolientes, fortificantes, de ação coagulante, diuréticas, sudoríferas, hipotensoras, de função reguladora intestinal, colagogas, depurativas, remineralizantes e reconstituintes.

Por meio de uma análise histórica observa-se que a descoberta e desenvolvimento de vários medicamentos estão intimamente ligados às plantas. No início utilizavam-se sucos ou extratos brutos vegetais, antes do desenvolvimento de métodos de extração, purificação e identificação. Com o desenvolvimento tecnológico, algumas plantas passaram a ser empregadas como fonte para a extração direta dos princípios ativos, e estes serviam como material de partida para a síntese de derivados químicos ou mesmo como modelo para a síntese total de fármacos (SANTOS, 2006). Entretanto, em alguns casos, os princípios ativos responsáveis pela ação farmacológica são desconhecidos e o sinergismo entre as substâncias parece ser o principal responsável pela sua ação (KINGHORN, 2001). Assim, é possível que a atividade farmacológica seja

resultante da ação de mais de um componente, que podem eventualmente atuar sobre os mesmos processos bioquímicos, assim como de outras maneiras, modificando solubilidade, alterando fenômenos de absorção ou influenciando a estabilidade (SCHENKEL et al 2001).

O uso de produtos naturais na terapia continua vivo e presente devido a dificuldade crescente em se descobrir, e também desenvolver, novas entidades moleculares (VUORELA et al, 2004). Além disso, deve-se ressaltar que em uma única planta pode haver várias substâncias químicas diferentes, o que permite concluir que entidades moleculares novas contidas no reino vegetal ainda podem ser descobertas (HOSTETTMANN et al., 2003).

Mesmo a fitoterapia sendo eficaz, cabe aos profissionais de saúde orientar as pessoas quanto ao uso indiscriminado de algumas plantas medicinais. Sendo um assunto de Saúde Pública, caberia aos profissionais de saúde e aos programas nacionais de saúde (Programa Saúde da Família - PSF e Programa Agentes Comunitários de Saúde - PACS) esclarecer dúvidas da população, orientando a utilização correta de plantas medicinais nas Unidades de Saúde e nas visitas domiciliares (ARNOUS, *et al.*, 2005).

Desta maneira, é importante a participação dos profissionais de saúde nesta área, visando uma integração do conhecimento utilizado pelo sistema de saúde oficial ao popular, pois as terapias alternativas têm muito a oferecer, podendo contribuir com as ciências da saúde, além de possibilitar ao indivíduo relativa autonomia em relação ao cuidado com a sua saúde (REZENDE & COCCO, 2002).

1.2. *Alternanthera CF brasiliiana* (L) KUNTZE

Conhecida popularmente como meracilina, acônito-do-mato, caaponga, cabeça-branca, carrapichinho, carrapichinho do mato, ervanço, nateira, perpetua-do-mato, perpetua-do-brasil, quebra-branca, quebra panela, sempre-sisa, terramicina e doril, a *Alternanthera CF brasiliiana*(L) Kuntze é uma planta utilizada em ornamentações pelo colorido das folhas (Figuras 1 e 2).

Trata-se de uma angiosperma da família Amaranthaceae, herbácea perene, de base lenhosa, com ramos decumbentes ou semi-erectos, de 0,60-1.20 m de altura, nativa de áreas abertas de quase todo o Brasil, principalmente da região litorânea e Amazônica. Possui folhas simples, as superiores subsésseis e as inferiores pecioladas algumas vezes de tons arroxeados, de 4-8 cm de comprimento, as flores são muito pequenas, reunidas em densos glómérulos no ápice dos ramos, que por sua vez formam uma panícula aberta (LORENZI & MATOS, 2001).

A meracilina é cultivada em grupos para efeitos de massa colorida a pleno sol, em canteiro de terra bem esterçadas, permeáveis e mantidas úmida através da irrigação periódica. É sensível a baixa temperatura, sendo indicada apenas para região tropical (SOUZA, 2001). A *Alternanthera CF brasiliana*(L) Kuntze, possui óleos essenciais composto principalmente por acetato de bornilo, acetato de elemenol, alcanfor, α - cimeno, α - pineno, α - terpineol, azuleno, canfeno, curcumeno, eudesmol, limoneno, linalol.



Figura 1 – Detalhe da parte aérea *Alternanthera brasiliana* cultivada o horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO.



Figura 2 – Canteiro de *Alternanthera brasiliana* cultivada o horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO

Outros óleos essenciais presentes nessa planta são: triterpenos do tipo esteroidal (α , γ , β – espinasterol); β -sitosterol e estigmasterol (frutos), leucoantocianidinas, alcalóides, saponinas (ácido aleánico como aglicona e raminose o glicose como açúcar) cloreto de colina (ALONSO, 1998).

A meracilina é uma planta medicinal amplamente utilizada no tratamento de certas doenças, incluindo inflamações e dores. Embora investigações fitoquímicas sobre a espécie sejam raras, alguns autores têm demonstrado que o gênero *Alternanthera* contenha muitos esteróides (SOUZA, 2001) e flavonóides (BROCHADO et al., 2003). Análises fitoquímicas preliminares indicam a presença de terpenos, esteróides e compostos fenólicos, sendo o constituinte mais importante, β -sitosterol (SOUZA, 2001; MACEDO et al., 1999).

Alguns estudos demonstram que *A. brasiliana* apresenta atividade *in vitro* contra vários vírus, incluindo o da *Herpes simplex* (LAGROTA et al., 1994), e extrato dessa planta extraído com solvente orgânico apresentou uma citotoxicidade em tumores e considerável atividade anti-tumoral (LORENZI & MATOS, 2001).

De acordo como Lorenzi & MATOS (2001), a infusão das folhas de *A. brasiliana* apresenta efeito diurético, digestivo, depurativo, sendo empregada para moléstia do fígado e da bexiga. Já a infusão da inflorescência é considerada béquica, suas folhas são usadas como adstringentes e antidiuréticos, enquanto que a planta inteira é macerada e usada contra prisão de ventre.

A toxicidade parece estar relacionada com a presença de Tujona no óleo essencial da planta, que, em altas doses ou por uso prolongado, pode causar quadros convulsivos, insônia, náuseas, vestígios e pesadelos (ALONSO, 1998).

A Família amarantaceae é composta por diversas espécies que possuem composições e atividades totalmente deferentes, *Alternanthera brasiliana* e *Pfaffia glabrata* possuem elementos como: P, S, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Sr, e Pb em ambas as espécies, podendo ser encontrado elementos como: Cl, Ti, Cr, Co, Ni, Br, Rb, Sr, Cd, Sn, Sb, e Ba em algumas delas (SALVADOR et al., 2004).

Em estudo realizado por Batista (2008) não se verificou atividade antimicrobiana da *A. brasiliana* sobre cepas ATCC e isoladas na comunidade de

bactérias gram-negativas e gram-positivas. Entretanto, Salvador (2004) observou que *A. maritima* apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. A concentração inibitória mínima variou de 25 a 500 µg/mL, sendo possível encontrar na análise cromatográfica esteróides, ácidos orgânicos, saponina, flavonóides, agliconas e flavonóides glicosídios. *A.pungens* possui atividade farmacológica similar à furosemida, que tem como função diminuir a reabsorção do cloreto de sódio e aumentar a excreção de potássio no túbulo distal.

1.3. Inflamação

A palavra inflamação, do grego *phlogosis* e do latim *flamma*, significa fogo, área em chamas. Descrições das características clínicas da inflamação foram encontradas em papiros egípcios, datados de aproximadamente 3000 a.C., mas o primeiro autor a listar os quatro sinais cardeais da inflamação foi Celsius, um escritor romano do século I, que relatou o aumento no fluxo sanguíneo e a dilatação dos pequenos vasos, rubor, o aumento da permeabilidade vascular, tumor, que levaria a um aumento na temperatura local, calor, e dor local (ROCHA e SILVA & GARCIA LEME, 2006). Em 1793 John Hunter, um cirurgião escocês, observou o que é óbvio para os tempos atuais: que a inflamação não é uma doença, mas uma resposta sem especificidade, com objetivos salutareos ao hospedeiro (KUMAR et al., 2005).

A reação inflamatória é um evento complexo que envolve o reconhecimento do agente/estímulo lesivo, para sua posterior destruição e tentativa de reconstruir o tecido danificado. O reconhecimento desencadeia a ativação e a amplificação do sistema imune resultando na ativação de células e na liberação de diversos mediadores responsáveis pela resposta inflamatória. No entanto, se a destruição do agente agressor e o processo de reparo não ocorrem de maneira eficiente e sincronizada, a resposta inflamatória pode levar a uma lesão tecidual persistente induzida pelo acúmulo de leucócitos, colágeno entre outras substâncias que podem ser prejudiciais ao organismo (NATHAN, 2002).

A resposta inflamatória pode ser dividida em três fases distintas. Inicialmente existe uma fase aguda, de duração variável, onde ocorre vasodilatação local e aumento da permeabilidade capilar, seguida de uma fase subaguda caracterizada por infiltração de leucócitos e de células fagocíticas e posteriormente, ocorre regeneração tecidual ou fibrose (SUZUKI *et al.*, 2003).

Na primeira fase da reação inflamatória, predominam os eventos vasculares: vasodilatação na área lesada, aumento do fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade e recrutamento de vasos normalmente hipofuncionantes. Além disso, pode ocorrer também elevação da temperatura local (calor) (LATEY, 2001). A vasodilatação se deve a liberação de diferentes mediadores: cininas, histamina, serotonina, leucotrienos, PAF-acéter, fração C5a do sistema complemento, prostaglandinas (PGD₂, PGE₂, PGI₂, PGF_{2α}) e substâncias liberadas localmente nas terminações nervosas (taquicinas e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina - (CGRP) (LECCI *et al.*, 2000). Este aumento da permeabilidade vascular culmina com a saída de um fluído rico em proteínas (exsudato) para o meio extravascular resultando em acúmulo deste, no local da lesão (edema) (PATTERSON e LUM, 2001). O exsudato formado facilita a liberação de outros mediadores que amplificam a resposta inflamatória.

Já na fase subaguda ocorre a migração de leucócitos e de outras células fagocíticas para o sítio da lesão. Este evento celular é denominado de quimiotaxia. Os fatores quimiotáticos são gerados tanto na corrente sanguínea quanto no sítio da lesão. Assim, o sistema complemento e as cininas são considerados importantes fatores quimiotáticos de origem plasmática (FRANGOIANNIS *et al.*, 2002). A mobilização adequada dos leucócitos circulantes é fundamental para a defesa do organismo, devido a sua capacidade fagocítica e de destruição do agente nocivo.

Por fim, a inflamação dá passagem aos processos de reparo e cicatrização que permitem a recuperação integral da função tecidual, *restitutio ad integrum* (WALZOG e GAEHTGENS, 2000). Entretanto, uma reação inflamatória exacerbada pode levar à lesão tecidual e, se severa, causar descompensação fisiológica, disfunção orgânica e morte (SHERWOOD & TOLIVER-KINSKY, 2004).

A resposta imune pode ser dividida em respostas inatas e adaptativas. O sistema imune inato é ativado imediatamente após uma infecção, desencadeando a resposta do hospedeiro ao microorganismo infectante e emitindo um sinal de ativação para a resposta imunológica adaptativa. Eventos como a vasodilatação, permeabilidade vascular aumentada e infiltração celular são parte da resposta imune inata, e seus componentes celulares primários são os macrófagos, células dendríticas, células *natural killer* (NK) e neutrófilos. Proteínas efetoras circulantes como o sistema complemento, reagentes de fase aguda e a cascata da coagulação têm importante função na imunidade inata.

A resposta imunológica adaptativa ou específica, só é desencadeada após o reconhecimento do patógeno pela resposta imune inata. Deflagra todo um conjunto de reações singularmente específicas contra o invasor e também torna as ações dos componentes da resposta inata muito mais eficazes. Os linfócitos são os principais componentes celulares da resposta adquirida, sendo divididos em linfócitos B, responsáveis pela resposta humoral, isto é, produção de anticorpos; linfócitos T, que induzem a resposta e são responsáveis pelas reações imunológicas mediadas por células; e as células NK, células linfóides ativas na resposta inata (SHERWOOD & TOLIVER-KINSKY, 2004).

Esses mecanismos de resposta imunológica, baseados em funções sofisticadas dos leucócitos, também são responsáveis pela eliminação de células não funcionantes ou lesadas, e assim contribuem para a manutenção da homeostase tecidual. Dessa forma, os mecanismos de defesa não apenas protegem o organismo da infecção, mas também permitem a remoção de restos celulares e de componentes teciduais destruídos, originados, por exemplo, de isquemia ou trauma (WALZOG & GAEHTGENS, 2000).

1.3.1. Mediadores do processo inflamatório

1.3.1.1 Óxido nítrico

A vasodilatação que ocorre no processo inflamatório, induzida por diferentes agentes flogísticos (bradicinina, histamina, substância P, serotonina e trombina) é dependente da liberação de óxido nítrico (YOUSIF, 2005). O óxido nítrico é um gás solúvel derivado do metabolismo da L-arginina pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS). Esse mediador está envolvido no relaxamento vascular, na inibição da agregação plaquetária, na neurotransmissão e nas atividades antimicrobiana e anti-tumoral dos macrófagos (DJUPESLAND *et al.*, 2001). Outros efeitos deletérios do óxido nítrico são decorrentes da ação citotóxica de alguns de seus metabólitos, como o peroxinitrito e os nitrosotióis. Esses metabólitos são capazes de danificar o ácido desoxirribonucléico (DNA), os lipídeos microbianos e as células vizinhas saudáveis, sendo esse o mecanismo responsável pela maioria dos processos inflamatórios observados em doenças auto-imunes (SZABÓ, 2003).

1.3.1.2. Citocinas

As citocinas são fatores solúveis de baixo peso molecular, liberadas principalmente por células ativadas com a finalidade de mediar informações, bem como modular a função destas células por meio da ativação de receptores de superfície (HOLLOWAY *et al.*, 2002).

Esses mediadores são liberados por grande parte das células do organismo e tem uma variedade de funções (HOPKINS, 2003). O efeito biológico depende da citocina liberada e do tipo de célula envolvida. De um modo geral, as citocinas influenciam a ativação, a divisão, a apoptose e a quimiotaxia celular. Também podem estar envolvidas na diferenciação celular, na inflamação, na imunidade e no reparo tecidual (HANADA & YOSHIMURA, 2002).

As citocinas são classificadas em subgrupos, como: interleucinas, fatores de crescimento, quimiocinas, interferons e fatores estimuladores de colônia ou ainda podem ser classificadas conforme sua atividade biológica como, por exemplo: pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF α e TGF β) e antiinflamatórias (IL-1Ra, IL-4 e IL-10) (WONG & FISH, 2003).

1.3.1.3. Cininas

As cininas, como bradicinina e lisil-bradicinina (calidina), são oligopeptídeos formados endogenamente. Inúmeros estudos farmacológicos e bioquímicos têm demonstrado o envolvimento destas substâncias em processos fisiopatológicos, acompanhados de lesão tecidual e/ou inflamação (ZHANG *et al.*, 2004).

Em humanos, as cininas são formadas a partir dos cininogênios, α 2-globulinas de alto ou baixo peso molecular, ambas derivadas de um único gene, por ação de cininogenases. O principal local de síntese dos cininogênios é o fígado (BLAIS *et al.*, 2000).

A ativação do sistema cininas-caliceínas ocorre em diversos processos fisiológicos e patológicos. Além disso, esse sistema também promove a ativação de outros sistemas como, por exemplo, de renina-angiotensina, da coagulação e do complemento (MOREAU *et al.*, 2005).

Em humanos, a bradicinina exerce diversos efeitos dentre os quais destaca-se a indução da liberação de mediadores da inflamação como os prostanóides a partir de diversos tipos celulares, citocinas (IL-1 e TNF α) de macrófagos, além do óxido nítrico liberado das células endoteliais vasculares (ELIIS & FOZARD, 2002).

1.3.1.4. Aminas vasoativas

As aminas vasoativas mais relacionadas com o processo inflamatório são a histamina e a serotonina. Estes mediadores encontram-se em estoques formados previamente nas células. A serotonina é considerada um dos principais mediadores da dor e da inflamação, sendo produzida principalmente pelas células enterocromafins da mucosa gastrointestinal a partir do triptofano (VOOG *et al.*, 2000).

A histamina é uma amina primária básica, sintetizada a partir da histidina pela ação da histidina descarboxilase e armazenada dentro de grânulos secretores nos mastócitos e basófilos (MARONE *et al.*, 2003). Em humanos, a

histamina está armazenada em mastócitos e basófilos, linfócitos, monócitos, plaquetas, células enterocromafins do trato gastrointestinal e nervos histaminérgicos no SNC (MacGLASHAN, 2003). A histamina é um dos principais mediadores químicos envolvidos nas doenças alérgicas, principalmente nas urticárias crônicas (PAPADOPOULOU *et al.*, 2005).

1.3.1.5. Taquicininas

Em 1931 a primeira taquicininina (substância P) foi identificada por Von Euler e Gaddum em extratos de cérebro e intestino de eqüinos. Já em 1953, Lembeck propôs o possível papel da substância P como um neurotransmissor e em 1974 Takahashi e colaboradores propuseram a sua participação na inflamação neurogênica. Em mamíferos, as taquicinininas são derivadas de genes denominados preprotaquicinininas que dão origem a Substância P, neurocinina A e B, hemoquinina-1 e as endoquininas A-D (PENNEFATHER *et al.*, 2004).

Dentre os principais efeitos biológicos destes peptídeos destacam-se: vasodilatação, extravasamento plasmático, contração da musculatura lisa, secreção de muco e excitação das fibras nervosas sensoriais. Estes peptídeos também estão envolvidos em processos imunológicos, inflamatórios e na inflamação neurogênica (PENNEFATHER *et al.*, 2004).

Dentre as doenças nas quais verifica-se o envolvimento das taquicinininas destacam-se: pancreatite (LIDDLE & NATHAN, 2004), inflamação: do SNC (MARRIOTT, 2004), do trato respiratório, gastrointestinal e sistema muscular esquelético, além da artrite reumatóide (KEEBLE & BRAIN, 2004).

1.4. Febre

1.4.1. Papel da febre nas defesas orgânicas

A temperatura corporal (T_c) normal, em humanos, possui uma variação circadiana, oscilando aproximadamente entre 36,4°C, pela manhã, e 36,9°C, no

final da tarde (MACKOWIAK, 1998). A termorregulação se dá por um sistema complexo, que envolve várias estruturas cerebrais , incluindo a área pré-óptica do hipotálamo anterior (APOHA), onde se localiza o centro termorregulatório (BLATTEIS ., 2006). Os neurônios termossensíveis dessa região integram sinais aferentes da Tc central e periférica e induzem respostas comportamentais e fisiológicas, controlando a produção ou dissipação de calor (BOULANT, 2006).

Diversos mecanismos termorreguladores garantem a manutenção da Tc normal. De um lado estão os mecanismos de conservação e produção de calor, ou seja, a vasoconstrição na região da derme, a piloereção e a geração de energia na forma de calor pelos tecidos vivos (por meio de calafrios, excitação simpática da produção de calor e secreção de tiroxina), que é chamada de termogênese. Por outro lado, existem os mecanismos de dissipação de calor para o meio ambiente, que incluem a sudorese e a vasodilatação cutânea (BEUTLER & BEUTLER, 2001). Há ainda, em humanos, um sistema isolante térmico do corpo, que constitui um meio eficaz para manter a temperatura interna normal, embora permita que a temperatura da pele se aproxime da do meio ambiente. Esse isolamento entre as porções centrais do organismo e a superfície cutânea é realizado pela pele, tecidos subcutâneos e, em particular, pela gordura destes últimos (GUYTON e HALL, 2002).

Além dos mecanismos subconscientes para o controle da Tc, o organismo ainda apresenta o controle comportamental da temperatura. Dessa forma, toda vez que a Tc interna fica excessivamente alta ou baixa, gerando uma sensação de desconforto, o indivíduo pode fazer adaptações ambientais apropriadas para restabelecer sua sensação de bem-estar, como procurar uma sala aquecida ou resfriada, usar mais ou menos roupas, conforme a sensação for de frio ou calor, respectivamente (GUYTON e HALL, 2002).

Para que todos esses mecanismos de controle da Tc possam operar é necessária a presença de detectores de temperatura para determinar quando ela está se tornando excessivamente alta ou baixa. Essa função é exercida pelos receptores térmicos da pele e de alguns tecidos profundos específicos, como vísceras abdominais e grandes veias na parte superior do abdômen e no tórax

(GUYTON e HALL, 2002). São esses receptores que enviam os sinais aferentes a respeito da Tc periférica e central para o centro termorregulador no hipotálamo.

A febre ou pirexia é uma elevação regulada na Tc central, resultante de uma alteração no termostato endógeno (KLUGER, 1991). Sob a influência do hipotálamo, os mecanismos termorreguladores são estimulados, favorecendo a produção e a conservação de calor, até o organismo alcançar a temperatura elevada estabelecida pelo termostato central na febre (BOULANT, 2006). Diante desse conceito, é importante salientar que a febre não é equivalente a uma temperatura central elevada, e sim a um ponto de ajuste elevado. Isso porque, em muitas circunstâncias, que vão desde o esforço físico intenso até a imersão em líquidos quentes, a temperatura central pode estar elevada e, no entanto, não há febre (BEUTLER & BEUTLER, 2001).

A febre é definida como um estado de elevação da temperatura corporal, fazendo parte de uma complexa reação fisiológica de defesa dos organismos multicelulares contra a invasão de patógenos ou corpos estranhos (MACKOWIAK, 1998).

Desde os primórdios, a febre é conhecida como sinal de irregularidade no organismo e por isso, vários tipos de tratamento vêm surgindo ao longo do tempo. Entre esses tratamentos destacamos as drogas antipiréticas como a aspirina, que vem sendo usada desde o século XIX. Porém, os mecanismos pelos quais essas drogas aliviam a febre vêm sendo estudados e conhecidos apenas nas últimas décadas. Entretanto, algumas destas drogas promovem desconforto ao paciente (lesões gástricas), interferência no tratamento com antibióticos e ainda pré-disposição a efeitos adversos a outros medicamentos (ARONOFF & NEILSON, 2001).

Nos últimos 15 anos, inúmeros estudos têm demonstrado que pequenas elevações da temperatura corporal, semelhantes às observadas durante a resposta febril, potenciam a defesa do organismo contra agentes infecciosos e células neoplásicas. Muitos destes estudos foram realizados em animais inferiores, invertebrados ou vertebrados poiquilotérmicos. Em vertebrados

homeotérmicos, demonstrou-se a ação da febre nas seguintes funções da resposta imune (KLUGER, 1991):

- a)** Aceleração da quimiotaxia de neutrófilos e da secreção de substâncias antibacterianas (peróxidos, superóxidos, lisozima e lactoferrina);
- b)** Aumento da produção e das ações antiviral e antitumoral dos interferons;
- c)** Estimulação das fases de reconhecimento e sensibilização da resposta imunológica, resultando em uma interação mais eficiente entre macrófago e linfócito T e maior proliferação destes últimos. As fases efetoras da resposta imune, como a citotoxicidade de linfócitos T e NK, são inalteradas ou mesmo deprimidas pelo aumento de temperatura;
- d)** Diminuição da disponibilidade de ferro, a qual limita a proliferação bacteriana e de alguns tumores. Este fenômeno é causado pela hipotransferrinemia que ocorre durante a resposta de fase aguda (RFAG), pelo aumento da afinidade do Fe pela lactoferrina intracelular e pela menor produção de proteínas quelantes de ferro pelas bactérias.

É importante ressaltar que febre é um processo distinto de hipertermia. Nesta, o ponto de regulação hipotalâmico não é alterado e o aumento da temperatura corporal observado é decorrente do comprometimento dos mecanismos de dissipação de calor ou de situações em que a dissipação não é suficiente para a manutenção da temperatura em níveis normais, devido a uma produção excessiva de calor ou a temperaturas externas muito elevadas (BLATTEIS, 2006).

Recentemente, demonstrou-se também que a febre e alguns estímulos inflamatórios estimulam a produção de uma família de proteínas conhecidas como "proteínas de choque térmico" ("heat shock proteins", HSP), presentes em toda a escala animal e exibindo amplas interações com o sistema imunológico específico e inespecífico (VOLTARELLI, 1994). Entre estas, destaca-se a proteção conferida pelas HSP às células expostas à própria hipertermia e a mediadores inflamatórios lesivos, como os radicais livres oxidantes e o TNF (POLLA, 1988). Pelo menos uma destas proteínas, a HSP70, parece funcionar como um verdadeiro termômetro celular, regulando a produção de outras HSP e, indiretamente,

desencadeando mecanismos de termoproteção (CRAIG E GROSS, 1991). Deste modo, as HSP constituem uma classe peculiar de proteínas de fase aguda intracelulares com propriedades antioxidantes e sua síntese na resposta inflamatória poderia explicar, pelo menos em parte, o valor adaptativo da febre.

1.4.2. Ações patológicas dos pirogênios endógenos

A maioria das ações benéficas da febre sobre as defesas orgânicas, mencionadas acima, são mediadas indiretamente por citocinas de efeito pirogênico secretadas na RFAg, principalmente IL-1 e TNF. Entretanto, estas e outras citocinas, aliadas a substâncias pró-inflamatórias como as prostaglandinas, produzem várias manifestações adversas, tanto na fase aguda como na fase crônica da reação inflamatória. Muitas destas manifestações (sonolência, astenia, mialgia, lombalgia, artralgia, cefaléia e anorexia) constituem apenas sintomas desconfortáveis da reação febril aguda, sem grandes conseqüências patológicas. Por outro lado, em estados febris de longa duração, como na SIDA e em várias outras doenças crônicas, as ações metabólicas dos pirogênios podem ter significativa morbidade, causando desnutrição, osteoporose, anemia da doença crônica e fibrose em tecidos inflamados (GELFAND et al., 1994). Além disto, um episódio único de febre (> 37,8 °C) no primeiro trimestre da gestação duplica o risco de malformações do tubo neural no feto (GELFAND et al., 1994).

O mecanismo patogênico destas alterações é multifatorial e incompletamente desvendado. A anemia da doença crônica, por exemplo, pode ser atribuída à inibição central da eritropoese mediada pelo TNF e à hipotransferrinemia induzida pela reação de fase aguda hepática, enquanto a fibrose associada à inflamação crônica pode ser decorrente da estimulação da síntese de colágeno e da proliferação fibroblástica. A caquexia observada em neoplasias e outras condições inflamatórias crônicas resulta da combinação entre anorexia, diminuição da síntese de albumina, miólise/lipólise, hipoglicemia e anemia (STRASSMAN et al., 1992), cada um destes distúrbios sendo mediado por um conjunto de citocinas, com participação variável das prostaglandinas. Nem

sempre é possível atribuir se uma propriedade biológica a uma citocina individualmente, devido à complexa rede de interações entre elas. O TNF e a IL-1, por exemplo, induzem não só sua própria secreção como a de IL-6 e IL-8, as quais poderiam mediar ações biológicas inicialmente atribuídas àquelas citocinas. A administração terapêutica de IL-2, por exemplo, produz febre por meio da secreção de TNF, pois a IL-2 por si não tem propriedades pirogênicas (VOLTARELLI, 1994), o mesmo ocorrendo com o GM-CSF. De modo geral, a IL-1 e o TNF têm propriedades superponíveis, pirogênicas e pró-inflamatórias e a IL-6 é a mais potente indutora de proteínas de fase aguda e a que melhor se correlaciona com a magnitude da febre e com a gravidade de doenças infecciosas. Por outro lado, ela inibe as ações inflamatórias da IL-1 e do TNF, pois é secretada por linfócitos do tipo Th2. Os IFN, por sua vez, inibem as atividades osteoclástica e fibroblástica da IL-1 e parecem ter papel pirogênico e pró-inflamatório predominantemente em infecções virais e doenças auto-imunes.

1.4.3. Mediadores da resposta febril

As substâncias que induzem febre são designadas de pirogênios e podem ser divididos em exógenos e endógenos. Em geral, a maioria dos pirogênios exógenos é oriunda de produtos gerados por microorganismos como vírus, bactérias, fungos e parasitas (ZEISBERGER, 1999). Os pirogênios endógenos compreendem as proteínas termosensíveis e os mediadores lipídicos. Sua produção é geralmente estimulada pelos pirogênios exógenos, mas também por lesões, traumas e estresse. Em 1948, Beeson apresentou a primeira evidência de que os pirogênios exógenos atuam por meio da produção e/ou liberação de pirogênios endógenos pelas células do hospedeiro. Estes, por sua vez, seriam os responsáveis pela ativação das regiões encefálicas envolvidas na regulação da temperatura corporal, promovendo elevação desta (ATKINS, 1960). Atualmente, entretanto, a ação direta de pirogênios exógenos não pode ser descartada, pois existem receptores específicos para componentes da parede celular bacteriana (DINARELLO, 2004). Entre os pirogênios exógenos mais estudados podemos citar

o LPS (lipopolissacarídeo de bactérias Gram negativas) e o MDP (Muramildipeptídeo, componente da parede celular de bactéria Gram positivas). Entre os principais pirogênios endógenos estão as citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, fator liberador de corticotropina (CRF) e endotelina (FABRÍCIO et al., 2005).

1.4.3.1. Prostaglandinas (PGs)

As PGs são moléculas de origem lipídica derivadas do metabolismo do ácido araquidônico, o qual é formado a partir da clivagem de fosfolipídios de membrana pela ação das fosfolipases, principalmente a fosfolipase A₂. A conversão do ácido araquidônico em endoperóxidos cíclicos (PGG₂ e PGH₂) ocorre pela ação da enzima ciclooxigenase (COX). A COX existe em duas isoformas, codificadas por genes distintos, referidas como COX-1 e COX-2. Ao contrário da COX-1 que é expressa constitutivamente, a COX-2 é induzida por pirogênios exógenos, como o LPS e o MDP, e endógenos, como a IL-1 e o TNF- α (CAO et al., 2000). Entretanto, a expressão constitutiva de COX-2 tem sido detectada em vários órgãos como os rins, pulmões, útero e encéfalo de rato (revisado por VANE et al., 1998). Cao et al. (2000) demonstraram que a injeção sistêmica de LPS ou IL-1, induz a expressão de RNAm para COX-2 que acompanha o curso temporal da febre em diferentes tipos celulares no encéfalo de ratos. A partir desses resultados, foi levantada a hipótese de que a IL-1 β poderia atuar sobre o seu receptor presente em células endoteliais da vasculatura encefálica induzindo a expressão de COX-2, o que poderia constituir o mecanismo responsável pela elevação da concentração de PGE₂ no SNC e conseqüente indução da resposta febril.

Vários estudos apontam as PGs como os prováveis mediadores responsáveis pela modulação dos neurônios termossensíveis da APOHA, uma vez que foi observada rápida elevação da concentração de PGE₂ no líquido cérebrospinal (CSF) do terceiro ventrículo de animais experimentais após administração sistêmica de LPS (MILTON, 1996). Além disso, a microinjeção de

inibidores de ciclooxygenase na APOHA reduz a febre induzida por LPS (SCAMMELL et al., 1998).

1.4.3.2. Citocinas

As citocinas compreendem uma grande família de polipeptídios que incluem as interleucinas, quimiocinas, fator de estimulação de crescimento, fator de necrose tumoral e interferons (ROTHWELL, 1991).

É bem demonstrado que vários tipos celulares, incluindo macrófagos, células endoteliais, linfócitos e astrócitos, produzem citocinas com atividade pirogênica. Dentre elas, IL-1, IL-6 e TNF α são consideradas as principais citocinas envolvidas na resposta febril (Revisado por ROTH et al., 2006).

Outra substância também classificada como pirogênio endógeno, liberada por macrófagos em resposta a endotoxina, é o fator de necrose tumoral (TNF). O TNF- α , quando administrado por via periférica ou central, induz resposta febril em coelhos (DINARELLO et al., 1986), ratos (ZAMPRONIO et al., 2000) e humanos (MICHIE et al., 1988).

Apesar das citocinas serem importantes mediadores da resposta febril, vários estudos demonstram que elas não são os mediadores finais da febre. Há evidências de que as citocinas induzem febre através da estimulação da síntese de PGs e CRF (ENGBLOM et al., 2002).

1.4.3.3. Fator liberador de corticotropina (CRF)

O CRF (fator liberador de corticotropina) é um peptídeo composto de 41 aminoácidos, sintetizado nas células parvocelulares do núcleo paraventricular hipotalâmico (PVN). O CRF está envolvido na mediação da resposta febril (ROTHWELL, 1991) e exerce seus efeitos por meio da ativação de dois subtipos

de receptores, CRF1 e CRF2. A administração i.c.v. de CRF em ratos aumenta a atividade simpática (BROWN et al., 1982), estimula a atividade termogênica do tecido adiposo marrom (LEFEUVRE et al., 1987) e eleva a temperatura corporal (DIAMANT & De WIED, 1991), sugerindo a participação deste fator na indução da termogênese nesta espécie.

O CRF também medeia ações centrais de citocinas (ROTHWELL, 1991). Tem sido proposto que o CRF atua no sistema nervoso central como um dos mediadores da febre induzida pela injeção central da IL-1 β , IL-6, IL-8 e PGF_{2 α} (ROTHWELL, 1991), pois injeções de anticorpos anti-CRF ou do antagonista não-seletivo de receptores de CRF (α -helical CRF9-41) atenuam significativamente essas respostas.

A atividade pirogênica do CRF não é inibida por fármacos bloqueadores de COX (ZAMPRONIO et al., 2000), sugerindo que possam existir mecanismos de indução de febre independentes da participação de PGs, porém dependentes da liberação de CRF e de endotelinas (FABRICIO et al., 2006).

1.4.3.4. Endotelinas (ET)

A descoberta da ET (YANAGISAWA et al., 1988), um potente peptídeo vasoconstritor secretado por células endoteliais, tem estimulado grande interesse por apresentar uma grande variedade de propriedades biológicas. A família das endotelinas é composta por peptídeos relacionados compreendendo a ET-1, a ET-2, e a ET-3 (INOUE et al., 1989) e o “contrator intestinal vasoativo” (VIC), equivalente à ET-2 de rato e presente em camundongos (BLOCH, et al., 1991).

Koshi e colaboradores (1992) foram os pioneiros em investigar a influência da ET sobre a temperatura corporal, e demonstraram que a injeção i.v. de ET-1 ou 4-Ala-ET-1 (agonista seletivo do receptor ETB) causam aumento significativo da temperatura corporal de coelhos não-anestesiados.

Em 1998, Fabrício e colaboradores demonstraram que a administração i.c.v. de ET-1 em ratos induziu aumento significativo da temperatura retal. Este efeito é totalmente prevenido pelo bloqueio seletivo de receptores ETB com BQ-788, porém não alterado pelo BQ-123, um antagonista seletivo de receptores ETA. Estes autores demonstraram também que a resposta febril induzida pela administração i.v de LPS em ratos foi substancialmente reduzida pela injeção i.c.v. de BQ-788 e pela injeção intravenosa de bosentan, um antagonista não seletivo de receptores ETA e ETB. A partir desses dados os autores sugeriram que as ETs participam da resposta febril induzida pelo LPS, via ativação central de receptores ETB juntamente com outros mediadores. Corroborando esses dados, em 2005 estes mesmos autores demonstraram que a injeção i.v. de LPS, em dose que causa febre de longa duração, promove aumento na produção de ET-1 e seu precursor imediato, a big-endotelina, no CSF de ratos (FABRICIO et al, 2005).

1.4.4. Patogênese da febre e das manifestações associadas

Das várias conseqüências clínicas da RFAg, a mais importante do ponto de vista fisiopatológico e clínico é, sem dúvida alguma, a febre. Ela ocorre pela ação de algumas citocinas (os pirogênios endógenos) sobre os centros termorreguladores do hipotálamo, elevando o limiar térmico (que normalmente é controlado rigidamente em torno de 37°C) e desencadeando respostas metabólicas de produção e conservação de calor (tremores, vasoconstrição periférica, aumento do metabolismo basal). Quando a temperatura corporal ultrapassa o novo limiar, são desencadeados mecanismos de dissipação de calor (vasodilatação periférica, sudorese e perspiração) que tendem a reduzi-la novamente. Deste modo, na resposta febril a termorregulação é preservada, ainda que em nível mais elevado, mantendo-se inclusive o ritmo circadiano fisiológico (t° máxima entre 16 e 20 h, mínima entre 4 e 6 h (VOLTARELLI, 1994).

A geração de calor pela ativação simpática do tecido adiposo marrom independente de tremores musculares (termogênese *non-shivering*) pode assumir

papel proeminente em algumas situações clínicas (febre dos recém-nascidos, hipertermia maligna ou associada ao feocromocitoma) (NEDERGAARD, 1992).

Há uma enorme variedade de pirogênios exógenos (microorganismos intactos, produtos microbianos, complexos imunes, antígenos não-microbianos, drogas e outros agentes farmacológicos), mas apenas um número limitado de pirogênios endógenos foram identificados: as citocinas IL-1, TNF, IFN e IL-6 (GELFAND, et al., 1994) e, mais recentemente, entre outros, a IL-8 e o MIP -1 (ZAMPRONIO, 2000). O mecanismo exato da ação pirogênica destas substâncias não é conhecido e parece diferir entre estes dois grupos de citocinas: as quatro primeiras, ao caírem na circulação a partir do foco inflamatório, estimulam a produção de PGE₂ por várias células (endoteliais, macrofágicas e até neurônios) na vizinhança dos centros termorreguladores hipotalâmicos, mais especificamente em uma região ricamente vascularizada e desprovida de barreira hematoencefálica localizada na porção ântero-ventral do terceiro ventrículo (o "orga num vasculosum lamina terminalis", OVLT). A PGE₂ se difundiria para o centro termorregulador adjacente, na área pré-óptica medial, estimulando a produção de AMP cíclico e inibindo a atividade dos neurônios sensíveis ao calor, deste modo acionando as respostas de geração e conservação de calor mediadas pelos neurônios sensíveis ao frio e, assim, elevando o limiar térmico (COCEANI, 1991). O papel pirogênico das PGs produzidas no foco inflamatório é controverso, mas parecem ter importância secundária em função da sua meia vida e concentração plasmática diminutas. A IL-8 e o MIP -1 agem independentemente das PGs, provavelmente através do CRF que estimula diretamente as vias simpáticas de produção de calor (ZAMPRONIO, 2000). Estes mecanismos termogênicos têm profundas implicações no entendimento da ação das drogas antipiréticas (VOLTARELLI, 1994).

A participação individual de cada uma destas citocinas nos vários tipos de RFAg e respostas febris e na gênese das manifestações clínicas associadas está apenas começando a ser estudada (GELFAND, et al., 1994). Com exceção da IL-6, os outros pirogênios endógenos se apresentam em diferentes formas químicas, com propriedades semelhantes mas não necessariamente superponíveis (IL-1a e

b, TNF α e b, IFN- α , β , γ) . O IFN- α , por exemplo, é produzido na maioria das infecções virais, onde é responsável, além da febre, pela sonolência e letargia que acompanham estas infecções. Uma mistura de IFN- α e γ foi encontrada no lúpus eritematoso sistêmico (LES) e em outras doenças auto-imunes (esclerodermia, síndrome de Sjogren). Como os IFN não induzem a produção hepática de PFAg , as doenças virais e o LES geralmente não produzem aumento da PCR e/ou VHS e neutrofilia. Esta é causada pela liberação de neutrófilos maduros da medula óssea e pela sensibilização da célula-tronco da medula aos fatores de crescimento hematopoiéticos, ações estas mediadas pela IL-1 e IL-6; o TNF, ao contrário, atua como inibidor da hematopoiese e pode contribuir para anemia e caquexia observada em estados inflamatórios crônicos (VOLTARELLI, 1994).

Alguns mediadores hipotalâmicos como a somatostatina, a vasopressina-arginina e o hormônio estimulante de melanócitos (MSH) têm ação inibitória sobre a resposta febril, sendo considerados verdadeiros criógenos endógenos. Estas substâncias provavelmente são responsáveis pela manutenção de um “teto térmico” (abaixo de 41°C) mesmo nas respostas febris mais intensas (KLUGER, 1991). Deste modo, a deficiência destes criógenos explicaria a dificuldade de a temperatura corporal retornar a níveis basais em alguns pacientes febris. Mulheres grávidas (a partir do 2º trimestre de gestação) e neonatos, por outro lado, possuem concentrações aumentadas de vasopressina/arginina, a qual, por estímulo do eixo hipotálamo hipófise- adrenal, produz um efeito criogênico e pode impedir a febre (VOLTARELLI, 1994).

1.5. Dor

Quando ocorre uma lesão tecidual, o organismo aciona mecanismos cujo propósito é limitar o dano e auxiliar a regeneração. Esses mecanismos fazem parte da resposta inflamatória, que é caracterizada por quatro sinais principais: dor, rubor, calor, tumor e, eventualmente, perda da função (GALLIN *et al.*, 1982).

Conforme a definição proposta pela IASP (*International Association for the Study of Pain*), dor é uma experiência emocional, com sensação desagradável,

associada à lesão tecidual presente, potencial ou descrita como tal (CAVALCANTI e MADDALENA, 2003).

Dor é uma qualidade sensorial complexa, puramente subjetiva, difícil de ser definida, descrita ou interpretada. É influenciada por ansiedade, depressão, expectativa e outras variáveis psicológicas. É um entrelaçamento das características físicas dos estímulos com as funções motivacionais, afetivas e cognitivas do indivíduo, pois desempenha o papel de alerta, comunicando ao indivíduo que algo está errado, podendo gerar estresse acentuado e incapacidade física (SOUZA, 2005). Assim que o mecanismo de alerta é estabelecido, a ameaça de dor pode provocar uma resposta comportamental generalizada, respostas endócrinas (secreção de corticosterona) e ativação simpática (levando a elevações de pressão sangüínea e batimentos cardíacos), que, juntos com uma antinocicepção transitória, auxiliam o melhoramento do desempenho dos repertórios comportamentais, permitindo o afastamento de situações de risco com mais sucesso (MILLAN, 1999).

Em indivíduos sadios, a dor serve para propósitos altamente adaptativos relacionados com a sobrevivência. As sensações dolorosas induzem respostas urgentes de seu alívio, provocando comportamentos como massagear (ou lambem) a área lesada, além de raiva, grito e choro (AGNATI *et al.*, 1991). Uma vez que os animais não são capazes de verbalizar os componentes subjetivos da dor, neles não se avalia dor, mas nocicepção. Sendo assim, termos como dor e analgesia são mais adotados para humanos e nocicepção e antinocicepção para animais (JONES, 1996).

A nocicepção é uma forma especializada de sinalização sensorial, que converte informação sobre lesões teciduais (BARANAUSKAS, 1998). Assim, enquanto a dor envolve a percepção de um estímulo aversivo e exige a capacidade de abstração e elaboração de impulsos sensoriais, a nocicepção refere-se às manifestações neurofisiológicas geradas pelo estímulo nocivo (ALMEIDA *et al.*, 2004). A função de alerta da dor reflete a ativação física de sensores, denominados nociceptores, por estímulos potencialmente perigosos que excedem a faixa fisiológica (MILLAN, 1999). De fato, estudos eletrofisiológicos

(BURGESS *et al.*, 1967) mostraram a existência de neurônios sensoriais primários que podem ser excitados por calor nocivo, pressão intensa ou produtos químicos irritantes, mas não por estímulos inócuos como um leve toque.

Os longos axônios das fibras nociceptivas que se localizam em nervos periféricos estendem-se de seus corpos celulares, que estão contidos numa estrutura denominada gânglio da raiz dorsal. Quando estes neurônios são ativados por estímulo nocivo, enviam sinais através de suas longas fibras para o corno dorsal da coluna espinhal e de lá para estruturas supra-espinhais, a partir de onde se tem a sensação de dor (WOOLF, 2000).

COSTIGAN *et al.* (2000) revisaram que as fibras aferentes de primeira ordem em termos de estrutura, diâmetro e velocidade de condução. As fibras A β são mielinizadas, com diâmetro maior que 10 μm e velocidade de condução de 30-100 m/s. As fibras aferentes A δ são pouco mielinizadas, variando em seu diâmetro entre 2,0-6,0 μm e têm velocidade de transmissão de 12-30 m/s. Fibras não mielinizadas do tipo C possuem diâmetro entre 0,4-1,2 μm e mostram uma velocidade de condução de 0,5-2,0 m/s. Neurônios que possuem corpos celulares de maior diâmetro dão origem à fibras sensoriais mielinizadas de rápida condução do tipo A β que detectam estímulos inócuos aplicados à pele, músculos e juntas, não contribuindo, assim, para a nocicepção. Em contraste, corpos celulares de pequeno e médio diâmetro dão origem à maioria dos nociceptores, incluindo fibras C e do tipo A δ .

Há duas classes principais de nociceptores do tipo A δ : ambas respondem a estímulos mecânicos intensos, mas podem ser distinguidas por sua capacidade de responder a estímulos de calor intenso ou como são afetadas pela lesão tecidual. A maioria das fibras C também são polimodais, sendo ativadas por estímulos nocivos mecânicos e térmicos. Algumas são insensíveis a estímulos mecânicos, mas respondem ao calor nocivo. Mais importante, a maioria das fibras C também responde a estímulos nocivos de origem química, como ácido ou capsaicina. Entretanto, o estímulo natural de alguns nociceptores é difícil de identificar. Estes são chamados “nociceptores silenciosos” ou “adormecidos”, que passam a ser

ativados apenas quando sensibilizados por lesão tecidual (JULIUS & BASBAUM, 2001).

A ativação dos nociceptores em resposta a estímulos nocivos leva à despolarização e geração de um potencial de ação que se propaga ao longo de toda a fibra (WOOLF, 2000). Assim, quando um dano inicial (lesão ou induzido por inflamação) ativa os nociceptores locais, as fibras nervosas A δ e C ficam sensibilizadas e assumem limiares de ativação mais baixos. Estímulos nocivos que resultam em uma sensação de dor rápida, fina e bem localizada em geral refletem a ativação de fibras A δ (que conduzem a designada dor primária) e a nocicepção difusa e lenta, em queimação, é conduzida por fibras C (dor secundária). A dor visceral é única no sentido de que não existem os componentes primário e secundário; ao contrário, a dor visceral freqüentemente é pouco localizada, profunda e lenta. A lesão tecidual também não é fundamental para que a dor visceral exista; ela pode resultar de uma distensão excessiva (JULIUS & BASBAUM, 2001).

É importante ressaltar que o estímulo, seja ele, térmico, químico ou mecânico, deve exceder um determinado limiar para que seja interpretado pelo sistema sensorial como nociceptivo (BJÖRKMAN, 1995).

A dor pode ser distinguida em três formas: dor nociceptiva, resultante da ativação de neurônios nociceptivos primários, os quais têm função fisiológica importante como à proteção da lesão tecidual; dor de origem inflamatória: originada de todas as formas de inflamação, e a dor neuropática: que provém de uma lesão de nervos periféricos e centrais e de neurônios. A dor neuropática é acompanhada por dor espontânea intensa e dor provocada por leve estímulo.

A dor inflamatória e a neuropática podem exceder a duração da causa primária da dor. Elas podem se tornar síndromes de dor crônica (ZEILHOFER, 2007). Pode-se inferir, então, que a dor crônica é um estado de constante facilitação da condução nervosa, quando estímulos, que outrora inócuos, podem ser interpretados como dor (alodinia) ou quando a resposta ao estímulo doloroso não é proporcional à intensidade da agressão (hiperalgesia) (KRAYCHETE, 2006).

1.5.1. MECANISMOS NEURAIIS DA DOR

1.5.1.1. Modulação Periférica

Os nociceptores são receptores encontrados nos tecidos superficiais, profundos e vísceras que se apresentam como terminações nervosas livres com alto limiar de excitabilidade. Eles conduzem as informações nociceptivas ao sistema nervoso central, e seus corpos celulares encontram-se dentro dos gânglios das raízes dorsais, adjacente à medula espinhal (Besson, 1999). Quando um estímulo intenso provoca lesão tecidual, há desencadeamento de um processo inflamatório seguido de reparação. As células lesadas liberam enzimas que agem sobre os cininogênios, formando cininas. A partir da membrana celular, pela ação da fosfolipase A₂, libera-se ácido araquidônico que, por ação da cicloxigenase e da lipoxigenase, origina prostaciclina, prostaglandinas, tromboxano, leucotrienos e lipoxinas.

Além dessa resposta inflamatória tecidual, há uma resposta neurogênica, com produção de vasodilatação, extravasamento de proteínas plasmáticas e ação sobre as células inflamatórias com a liberação de mediadores químicos. Os mediadores inflamatórios agem aumentando a sensibilidade dos nociceptores, reduzindo assim seu limiar de excitabilidade. Além do fenômeno de sensibilização, que ocorre devido à reação inflamatória, existe a modulação inibitória, mediada por receptores opióides periféricos. Os ligantes endógenos dos receptores são a endorfina, as encefalinas e as dinorfinas, que se encontram em células relacionadas à imunidade. Quando há persistência de reação inflamatória, o número de receptores opióides aumenta, indicando que a inflamação estimula o transporte axonal de receptores para a periferia (CAVALCANTI & MADDALENA, 2003).

1.5.1.2. Modulação Central

Os neurônios primários aferentes fazem sinapse com os neurônios secundários na medula espinhal (lâmina I) e a liberação dos neurotransmissores nociceptivos das fibras aferentes primárias ativa os neurônios secundários no corno dorsal na medula (CASTRO e SILVA, 1998).

A via mais importante de transmissão do estímulo doloroso é o trato espinotalâmico ascendente ao longo da medula espinhal. A ativação destes neurônios resulta na resposta reflexa espinhal, assim como na ativação de tratos ascendentes, os quais transmitem informação nociceptiva às estruturas supraespinhais para completar a via nociceptiva (GUYTON, 2002).

Os neurônios secundários cruzam a medula espinhal para ascender ao longo do trato espinotalâmico, projetando seus axônios ao tálamo. No tálamo ocorre a somatização do estímulo nocivo onde existe o componente emocional da dor (RUSSO e BROSE, 1998). O tálamo e o córtex são regiões finais da projeção das vias de nocicepção. O tálamo informa que existe sensação nociceptiva, e o córtex discrimina o tipo de sensação nociceptiva.

1.5.2. Neurotransmissores da dor

1.5.2.1. Substância P (SP)

A substância P é uma taucicininina que pode mediar a sinapse entre as fibras aferentes primárias e o neurônio do corno dorsal da medula, importantes para a sensibilização da dor ou nocicepção, e são liberados durante a inflamação (LI & ZHUO, 2001).

Substância P é encontrada em altas concentrações nas terminações aferentes da medula espinal, sendo o mediador da primeira sinapse da dor. Embora o mecanismo de ação da substância P no controle da dor ainda não esteja bem determinado, sabe-se que ela pode produzir tanto analgesia como reduzir o limiar da dor (VELÁZQUEZ et al., 1997). A infusão intratecal de substância P produz, em animais, o comportamento de coçar, morder e lamber,

indicando nocicepção, e sugerindo que a substância P possa ter papel estimulatório importante na via nociceptiva (BJORKMAN, 1995).

1.5.2.2. Glutamato

Existem evidências do envolvimento do glutamato, aspartato e alguns peptídeos na transmissão do estímulo nociceptivo no corno dorsal da medula espinhal (DRAY et al., 1994). Cerca de 75% da transmissão excitatória no sistema nervoso central é feita pelo glutamato e secundariamente pelo aspartato.

O glutamato é um aminoácido excitatório (AAE), podendo ser encontrado na medula espinhal, originado de fibras aferentes primárias mielinizadas e não-mielinizadas, em adição a interneurônios intrínsecos e projeção de neurônios (BESSON, 1999). Em muitas sinapses a liberação de glutamato é conjunta, com a liberação de substância P e neurocininas, que são chamadas de neuromoduladores.

1.5.2.3. Prostaglandinas (PGs)

O ácido araquidônico é o maior precursor de PGs em mamíferos, formado de fosfolípidos de membrana pela ação de fosfolipases, sendo ativadas por uma variedade de mediadores intra e extracelulares (CAMPBELL e HALUSHKA, 1996). O ácido araquidônico é transformado em PGs pela ação de uma enzima chamada cicloxigenase (COX). Existem, pelo menos, duas isoformas dessa enzima, denominadas COX-1 e COX-2 (VANEGAS & SCHAIBLE, 2001).

As principais PGs envolvidas no fenômeno de hiperalgesia, PGE₂ e PGI₂ (prostaciclina) podem retrogradamente, aumentar a atividade da COX-2 pela ativação de receptores EP e IP, respectivamente (BÓIE et al., 1997).

Os mediadores da resposta inflamatória, como NO e citocinas derivadas de células do sistema imunológico (IL-1 β e TNF α) são indutores potentes da COX-2 nestas células (COLEMAN, 2001).

Os mecanismos celulares exatos e os subtipos de receptores envolvidos nessa ação das prostaglandinas ainda não estão definidos, mas há evidências de que a ativação de receptores EP e IP, assim como o aumento nas atividades da fosfolipase C (PLC), adenilato ciclase (AC) e nos níveis de $[Ca^{2+}]$, sejam importantes para tal efeito (COLEMAN, 2001).

2. Objetivos

2.1. Objetivo Geral

Avaliar as atividades antiinflamatória, antinociceptiva e antipirética do extrato etanólico bruto da planta *Alternanthera CF brasiliana (L) Kuntze (EAB)* vulgarmente conhecida como Meracilina, em ratos.

2.2. Objetivos Específicos

- Investigar a atividade antipirética de diferentes doses do EAB no modelo de febre induzida por lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) em ratos;
- Investigar o efeito antiinflamatório de diferentes doses do EAB por meio do teste de edema de pata induzido por carragenina em ratos;
- Investigar a atividade antinociceptiva de diferentes doses do EAB no modelo de formalina em ratos.

3. Materiais e Métodos

3.1. Preparação do extrato etanólico de *Alternanthera CF brasiliana* (L) Kuntze (EAB).

A preparação do EAB foi realizada no Laboratório de Farmacologia e Bioativos da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins.

A planta foi identificada e catalogada pelo herbário da Universidade do Tocantins - Unitins, com o número de tomo 21 e o nome *Alternanthera CF brasiliana* (L) Kuntze, da família Amarantaceae.

As folhas da planta foram coletadas no mês de dezembro de 2008 pela manhã e foram submetidas ao processo de secagem em estufa (estufa com circulação de ar, Hydrosan, modelo:HY-4BOSDA) logo após a colheita. Após secagem, as folhas foram submetidas à pulverização em moinho de facas (Marca Tecnal modelo Tipo Willye TE – 650), e depois foram submetidas ao processo de extração.

No processo de maceração, 300 g de folhas de *Alternanthera brasiliana* foram colocados em um percolador Marca Micromazza com capacidade para 20 L e adicionou-se 3.000 mL do solvente etanol 70% (v/v).. O macerado foi mantido a temperatura ambiente e homogeneizado uma vez ao dia durante dez dias (SONAGLIO *et al.*, 2002). Ao término dos dez dias, o macerado foi filtrado a vácuo, em papel de filtro faixa azul JP42, 80 g/m², porosidade 8 µm, permeabilidade ao ar de 3 l/sm².

Este filtrado foi concentrado em evaporador rotatório sob pressão reduzida (110 bar) até a secura, a uma temperatura do banho de 40° C. O resíduo da evaporação foi liofilizado, obtendo-se 39,3 g de EAB, correspondendo a um rendimento de 13,10%.

O extrato foi mantido refrigerado até o momento da realização dos experimentos.

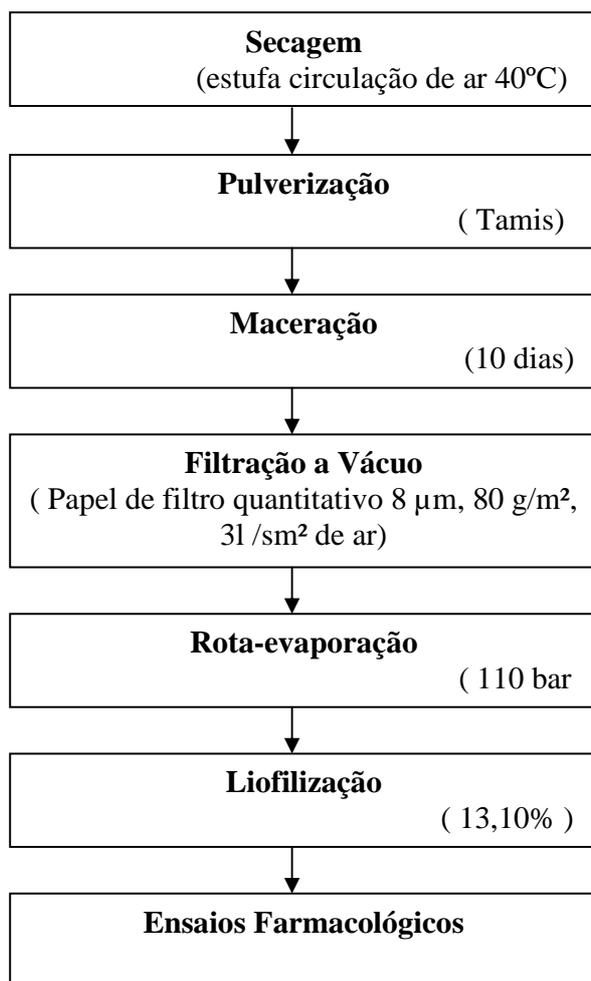


Figura 3 - Fluxo de preparação do Extrato etanólico bruto de *Alternanthera brasiliana*.

3.2. Ensaio farmacológicos

Os ensaios farmacológicos foram realizados no Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP-USP).

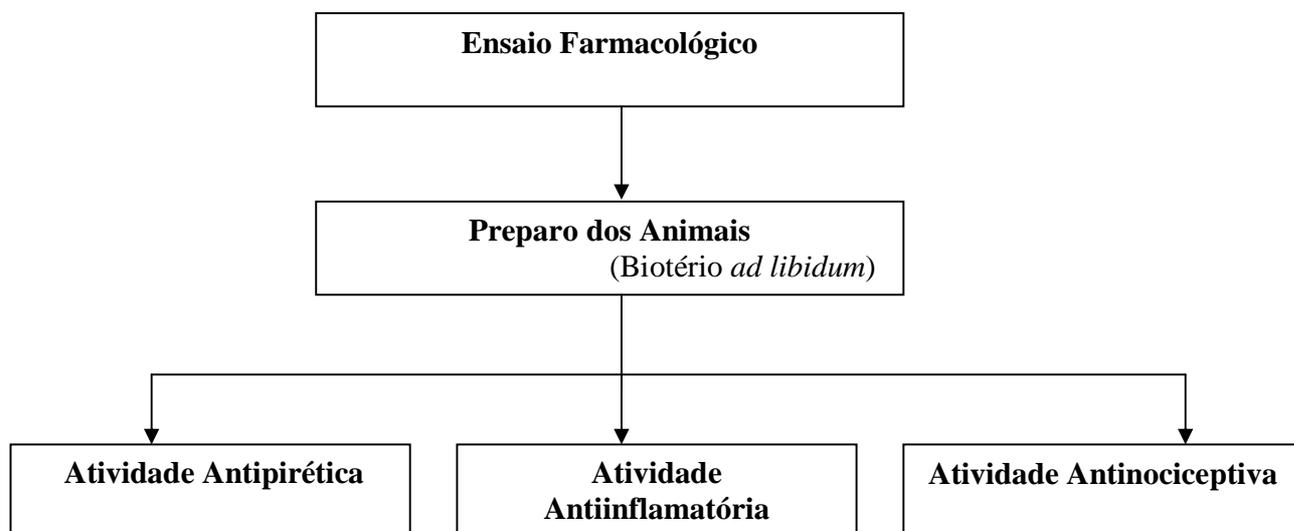


Figura 4 - Fluxo de Desenvolvimento dos ensaios farmacológicos.

3.3. Animais

Nos ensaios foram utilizados ratos da linhagem Wistar, pesando entre 180 e 200 g, machos, adquiridos junto ao biotério central do campus da USP-Ribeirão Preto. Os animais foram mantidos em sala com temperatura controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) sob um ciclo claro-escuro de 12/12 h (luzes acesas às 6 h), com livre acesso à ração e água. Para cada grupo testado foram utilizados cinco animais ($n=5$).

Os protocolos foram conduzidos de acordo com as normas para experimentação em animais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP.

3.4. Tratamentos

Os animais receberam, por via oral, o EAB dissolvido em veículo (Cremophor RH40 BASF 10% v/v em água). Animais controle foram tratados por via oral com veículo (controle negativo) ou indometacina (8 mg/Kg, diluída em tris[hidroximetil] aminometano HCl, pH 8,2-controle positivo). Os tratamentos

foram efetuados em volume de 0,50 a 1,0 mL por rato, dependendo da concentração do extrato.

3.5. Ensaio de atividade antipirética no modelo de febre induzida por LPS, em ratos.

Durante o experimento, a temperatura da sala foi controlada a $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Após o transporte dos ratos para a sala onde os experimentos foram realizados, estes permaneceram em repouso por uma hora e só então suas temperaturas basais foram determinadas (entre 3 e 4 medidas), no intervalo de 30 minutos, antes da administração dos tratamentos com EAB, veículo e indometacina 8 mg/kg, por via oral. Somente os animais com temperatura estável na faixa de $36,8$ a $37,4^\circ\text{C}$ foram utilizados. O estímulo pirogênico, LPS, foi administrado por via endovenosa na veia caudal 1 hora depois dos tratamentos. Foram realizadas 12 medidas com intervalo de 30 minutos entre cada.

A temperatura retal dos animais foi medida por inserção de sonda (YSI, nº 402, USA) conectada a um teletermômetro (modelo 46 TUC, YSI, EUA), a 4,0 cm de profundidade no reto dos animais, sem que os animais fossem retirados de suas caixas. Os animais foram adaptados às condições experimentais por meio da realização deste procedimento (duas vezes) no dia anterior ao experimento, a fim de minimizar as variações da temperatura induzidas por estresse decorrente do manuseio.

As concentrações do EAB utilizadas foram escolhidas baseando-se em dados encontrados na literatura.

3.6. Ensaio de atividade antiinflamatória no modelo de edema de pata induzido por carragenina, em ratos.

Este ensaio foi realizado através de injeção intraplantar de 100 μL de carragenina 1% em salina na pata posterior esquerda e igual volume de salina na pata direita dos ratos. O veículo, indometacina e o EAB foram administrados via

oral aos animais 60 minutos antes da injeção do estímulo flogístico. O edema, medido em pletismômetro (modelo 7150, Ugo Basile), foi expresso como a variação (em mL) de volumes das patas injetadas com o agente flogístico e o das patas contralaterais injetadas com salina. As medidas foram realizadas a cada 60 min durante 6 h (SEDGWICK;WILLOUGHBY,1994).

3.7. Teste de atividade antinociceptiva no modelo da formalina, em ratos.

Neste teste, 50 µL de uma solução de formalina a 1% (correspondente a 0,37% de uma solução de formaldeído) foram injetados, por via intraplantar, na superfície dorsal da pata direita de ratos com auxílio de uma seringa. O veículo, indometacina e o EAB foram administrados via oral aos animais 60 minutos antes da injeção do estímulo doloroso. Como indicativo de dor considerou-se o número de vezes que os animais sacudiam a pata que recebeu o estímulo (TJOLSEN et al., 1992). Estas sacudidas foram contadas e agrupadas em período de 5 min, a partir do tempo zero (injeção da formalina) até 60 min.

3.8. Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. (erro padrão da média). Para comparação múltipla dos dados paramétricos foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA), e o nível de significância entre os grupos foi determinado pelo teste de Bonferroni. Para todas as análises estatísticas considerou-se o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade menor que 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados e Discussão

4.1. Efeito da administração oral do EAB sobre a febre induzida pelo LPS, em ratos.

A injeção i.v. de 5 µg/kg de LPS produziu aumento de temperatura corporal dos animais, em torno de 1,2°C. Esse aumento iniciou-se a partir de 1,5 h, atingiu um platô cerca de 2 h e manteve-se por até 6 h após a injeção de LPS. Animais que receberam a injeção de salina não apresentaram alteração estatisticamente significativa de temperatura durante todo o período observado (Figura 5A). A indometacina administrada por via oral (8 mg/kg) foi utilizada como controle positivo. O pré-tratamento dos animais com indometacina de fato inibiu estatisticamente a febre induzida pelo LPS entre 2,5 h e 6 h (Figura 5A). A inibição na terceira hora foi de 44,7%, chegando a 58,8% na quinta hora após a injeção de LPS.

A Figura 5B demonstra a ação do EAB nas doses de 40 e 80 mg/kg sobre a temperatura corporal de animais injetados com LPS. A dose de 40 mg/kg inibiu a febre em dois tempos avaliados, 4,5 h (31,4%) e 6 h (35,7%). Já a dose de 80 mg/kg inibiu a febre apenas na sexta hora após a injeção de LPS (42,8%).

O efeito do pré-tratamento dos animais com EAB nas doses de 160 e 320 mg/kg está apresentado na Figura 6A. Verificou-se inibição estatisticamente significativa apenas 4,5 h após a injeção de LPS para a dose de 160 mg/kg (30,6%).

As doses de 640 e 1280 mg do EAB demonstraram ação antipirética significativa sobre a febre induzida por LPS (Figura 6B). A dose de 640 mg/kg foi mais eficiente e apresentou efeito antipirético mais prolongado, reduzindo a febre estatisticamente entre a segunda (46,4%) e sexta hora (43,4%) após a injeção de LPS, enquanto que a dose de 1280 mg/kg inibiu a febre estatisticamente apenas entre 2,5 (32,3%) e 5 horas (31,2%) após o estímulo pirogênico.

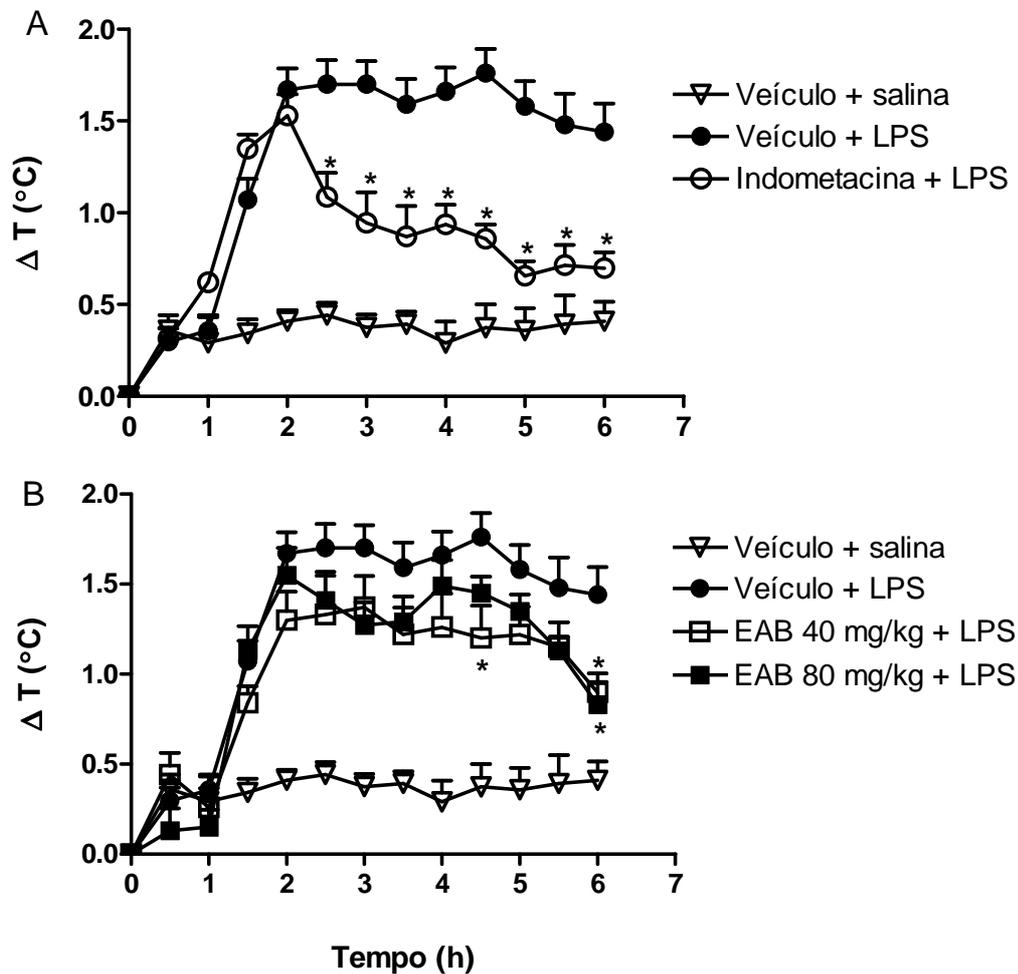


Figura 5: Efeito do extrato etanólico de *A. brasiliensis* (EAB) e da indometacina sobre a febre induzida por lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) em ratos. Gráfico A: A indometacina (8 mg/kg) diluída em Tris-HCl (Tris, pH 8,2) foi administrada por via oral 1 h antes da administração de LPS (5 µg/kg, i.v). Animais controle receberam o mesmo volume de solução salina estéril por via i.v. Gráfico B: O EAB nas doses de 40 ou 80 mg/kg foi administrado por via oral 1 h antes da injeção de LPS (5 µg/kg, i.v). Os pontos representam a média ± EPM da variação da temperatura retal (ΔT, em °C) de 5 animais para cada grupo, medida por tel emetria. * p<0.05 quando comparado ao valor correspondente do grupo veículo + LPS.

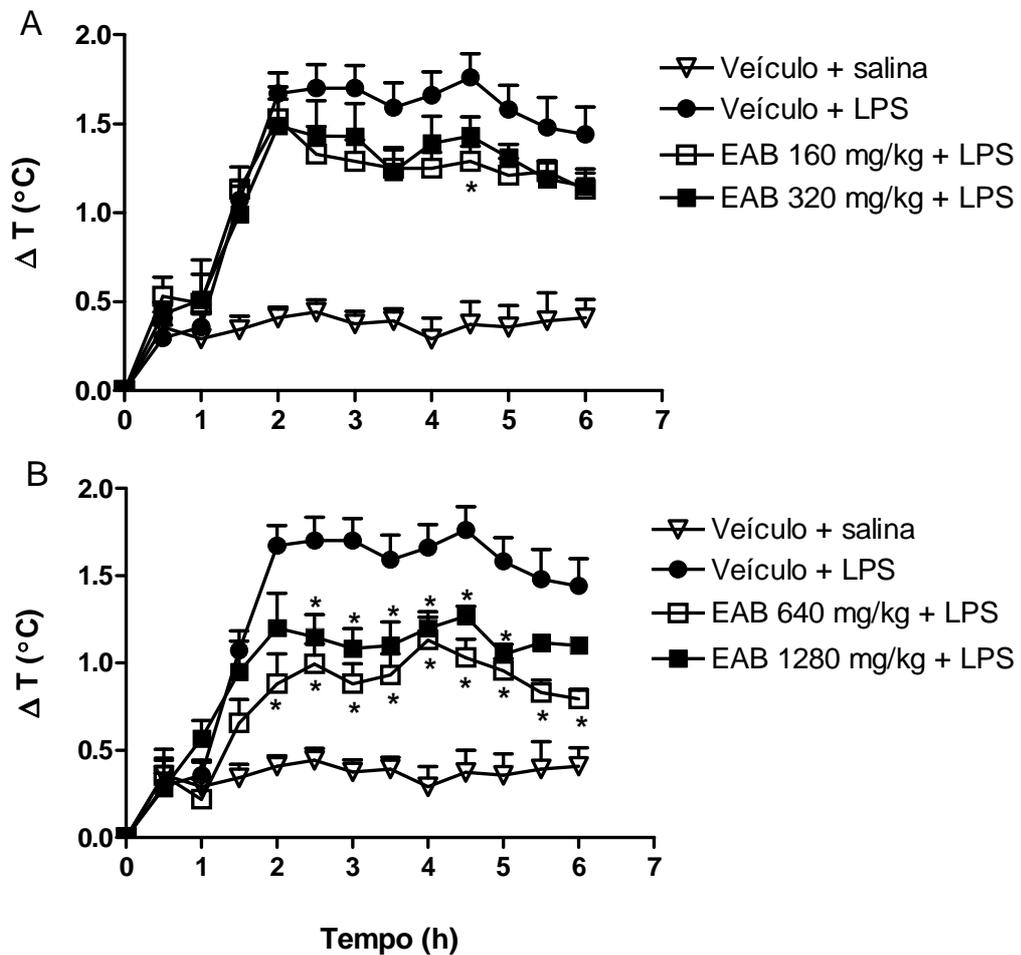


Figura 6: Efeito de diferentes doses de extrato etanólico de *A. brasiliana* (EAB) sobre a febre induzida por lipopolissacarídeo de *E. coli* (LPS) em ratos. Gráfico A: O EAB nas doses de 160 ou 320 mg/kg foi administrado por via oral 1 h antes da injeção de LPS (5 µg/kg, i.v). Animais controle receberam o mesmo volume do veículo (Cremophor RH40 10% v/v em água). Gráfico B: O EAB nas doses de 640 ou 1280 mg/kg foi administrado por via oral 1 h antes da injeção de LPS (5 µg/kg, i.v). Animais controle receberam o mesmo volume do veículo (Cremophor RH40 10% v/v em água). Os pontos representam a média ± EPM da variação da temperatura retal (ΔT , em °C) de 5 animais para cada grupo, medida por telemetria. * $p < 0.05$ quando comparado ao valor correspondente do grupo veículo + LPS.

A febre talvez seja o mais antigo sinal conhecido das doenças, relacionado com a instalação de processos infecciosos, inflamação, reação medicamentosa, doença auto-imune, neoplasia ou doença vascular do tipo oclusiva (HENKER; KRAMER; ROGERS, 1997). Febre é a elevação da temperatura corporal em resposta à invasão por agentes infecciosos exibida pela maioria das espécies.

Quando um agente pirogênico, como o LPS, adentra o corpo através da quebra das barreiras naturais, ocorrerá interação com as células e a conseqüente síntese e liberação de mediadores endógenos, como citocinas ($TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$) e PGs (KLUGER, 1991; ROMANOVSKY et al., 2005). Os sinais febrigênicos da periferia atingirão regiões centrais, que por sua vez desencadearão ajustes apropriados de atividade termofetora no intuito de aumentar a temperatura corporal (BLATTEIS; SEHIC, 1998).

No cérebro, as PGs da série E2 são cruciais para indução da febre, ao menos na febre induzida por LPS (ROMANOVSKY et al., 2005). Tendo em vista a inibição da febre pelo EAB, é possível que o mesmo tenha sua ação sobre a inibição de produção de PGs, que são os principais mediadores da febre induzida por LPS.

Estudos farmacológicos tem confirmado que algumas plantas do gênero *Alternanthera*, incluindo *A. punges*, *A. sessilis*, *A. tenella* e *A. brasiliana* exercem importantes atividades terapêuticas, o que poderia justificar seu uso na medicina popular. Alguns compostos com atividade imunomodulatória como ácidos graxos, flavonóides, polissacarídeos e triterpenos também foram encontrados no gênero *Alternanthera* (De Souza et al 1998), entretanto em nosso conhecimento, ainda não foi realizado estudo que tenha investigado o efeito de *A. brasiliana* sobre a produção de PGs.

Fabrcio et al., (2005), propuseram que a ET-1 seja um mediador intermediário na febre induzida pelo LPS, participando de uma via independente de PGs. Como a dose de 640 mg iniciou a inibição da febre antes da indometacina, pode ser que o EAB tenha ação inibitória sobre as endotelinas.

Recentemente, foi demonstrado que a ET-1, além do LPS e outros pirogênios endógenos (exceto a $IL-1\beta$ e as prostaglandinas), recrutam o sistema opióide para causar uma febre independente de PGE_2 e mediada pelos receptores μ (Fraga et al., 2008).

4.2. Efeito da administração oral do EAB sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina, em ratos.

Para investigar a possível ação antiinflamatória do EAB foi utilizado o modelo de edema de pata induzido pela injeção de carragenina em ratos. Os resultados apresentados na Figura 7 demonstram que o EAB administrado por via oral nas doses de 640 e 1280 mg/Kg 1 h antes da injeção intraplantar de carragenina promoveu inibição do edema de pata, onde o extrato na menor concentração reduziu de maneira estatisticamente significativa 36,2% na 4ª hora e 32,2% na 5ª hora e na concentração de 1280 mg a inibição estatisticamente significativa foi de 36,8% na 3ª h, 33,3% na 4ª h e 33,9% na 5ª hora.

Esse efeito inibitório foi semelhante àquele causado pelo antiinflamatório não esteroideal utilizado como controle positivo (indometacina, 8 mg/Kg, v.o.). A indometacina apresentou efeito inibitório significativo entre a terceira e quinta horas após a injeção do estímulo flogístico (Figura 7).

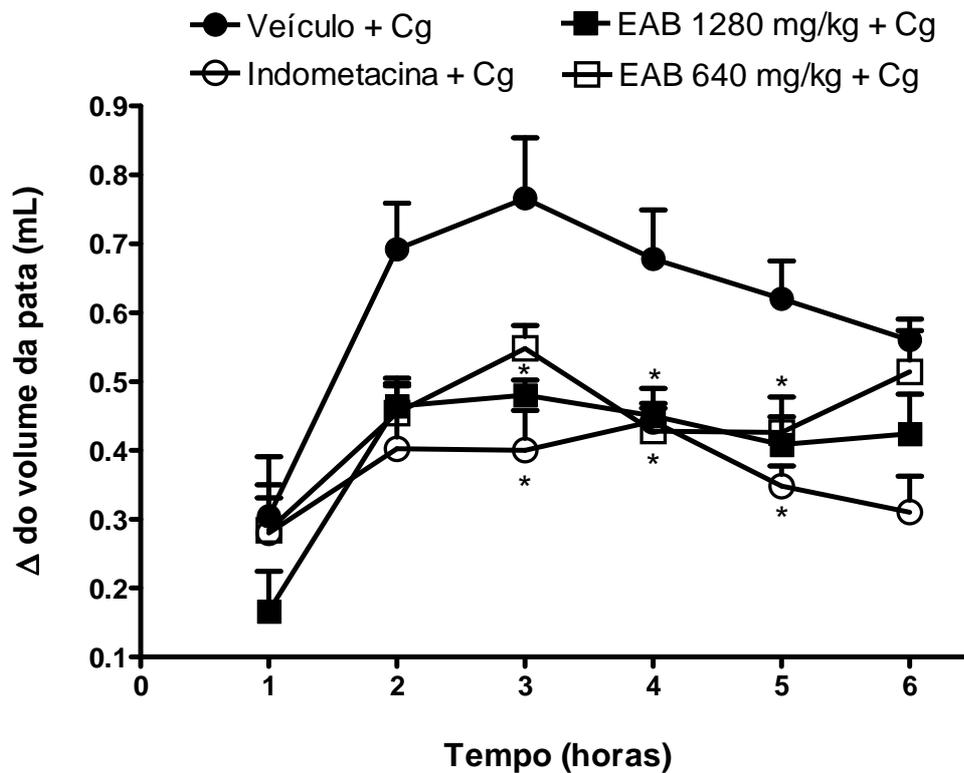


Figura 7: Efeito da administração do extrato etanólico de *A. brasiliiana* (EAB) nas doses de 640 e 1280 mg/kg sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina (Cg). O EAB nas doses indicadas ou o seu veículo (Cremophor RH40 10% v/v em água) foram administrados por via oral 1 h antes da injeção intraplantar de carragenina (100 µg/pata). Animais controle foram tratados com indometacina (8 mg/kg, v.o). Os valores representam a média ± EPM da variação no volume da pata de 5 animais para cada grupo. * p<0.05 quando comparado ao valor correspondente do grupo veículo + Cg.

O edema em pata de rato é um teste clássico usado para avaliar atividade antiinflamatória *in vivo* (SEDGWICK; WILLOUGHBY, 1994). A principal vantagem deste modelo consiste na facilidade de execução e a reprodutibilidade. O edema é um sinal cardinal da inflamação aguda, sendo um parâmetro útil a ser considerado quando se testa agentes que podem ser ativos no tratamento desta inflamação (SEDGWICK; WILLOUGHBY, 1994). O edema resultante ocorre devido liberação de mediadores farmacológicos, incluindo histamina, serotonina, cininas e PGs. De maneira ideal a pata deve ser medida na 3ª e 4ª horas após injeção de carragenina, devido ao pico de ação dos mediadores inflamatórios. Este é um excelente teste para detectar inibidores da enzima COX, tendo sido introduzido

nos estudos que descrevem os efeitos antiinflamatórios da indometacina (SEDGWICK; WILLOUGHBY, 1994).

A formação de edema é um evento bifásico, a hiperemia inicial (durante a primeira hora) está relacionada com a liberação de histamina e serotonina e o edema tardio com a liberação de bradicinina e prostaglandinas (TASOKUTIL et al, 2002). Os resultados dos testes realizados sugerem que o mecanismo de ação do EAB pode estar associado com a histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandinas.

A atividade antiinflamatória de muitas plantas tem sido atribuída aos seus constituintes flavonóides e triterpenos, estando ambos presentes na composição da *A. brasiliiana* conforme citado por Souza et al., (1998).

Flavonóides são compostos fenólicos antioxidantes de vasta distribuição entre as plantas que têm demonstrado importantes atividades antiinflamatórias tanto *in vitro* como *in vivo* (CALIXTO et al., 2000). São conhecidos por exercerem potente efeito inibitório sobre inúmeras enzimas relacionadas à ativação celular e à produção de mediadores inflamatórios (BRITO et al., 2007).

Assim, o isolamento dos compostos presentes na planta a fim de identificar princípios ativos com atividade anti-edematogênica pode ser útil para o desenvolvimento de medicamentos com esta ação. Apesar das doses com efeito anti-edematogênico serem altas, deve-se ressaltar que o EAB foi administrado via oral, ficando suscetível ao metabolismo de primeira passagem.

4.3. Efeito da administração oral do EAB sobre a nocicepção induzida por formalina, em ratos.

O efeito antinociceptivo do EAB foi investigado utilizando-se o modelo da formalina em ratos. Conforme pode ser observado na Figura 8, a administração do EAB nas doses de 640 e 1280 mg/kg 1 hora antes da injeção do estímulo inibiu de

maneira significativa estatisticamente tanto a fase neurogênica (0 a 4min), como a fase inflamatória (15-19 min) após injeção de formalina.

Na primeira fase do teste da formalina, o número de sacudidas da pata do grupo controle positivo, no tempo 0 a 4 min, foi $59,7 \pm 2,5$, sendo reduzido para $28,5 \pm 8,8$ e $33,5 \pm 9,9$ com o tratamento nas doses de 640 e 1280 mg/kg de EAB, inibindo 52,2% e 43,9%, respectivamente (Figura 8).

Na segunda fase do teste a inibição máxima foi verificada no tempo de 20 a 24 min, sendo de 64,3% e 54,4%, para as doses de 640 e 1280 mg/kg, respectivamente (Figura 8).

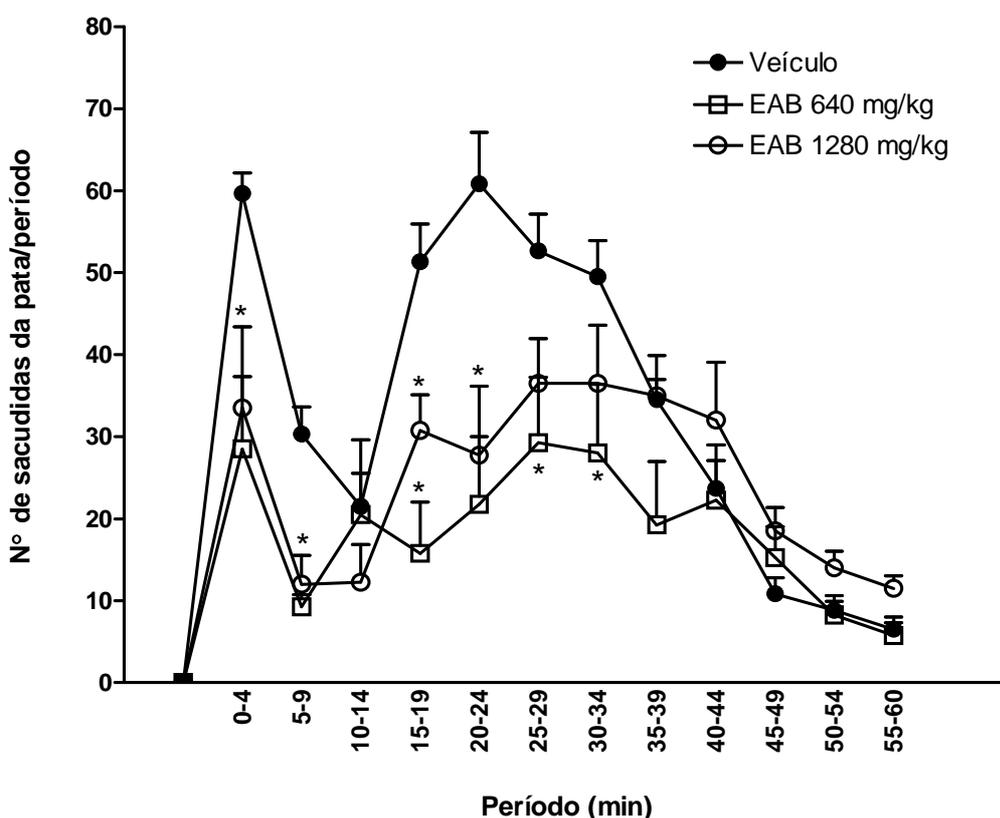


Figura 8: Efeito da administração do extrato etanólico de *A. brasiliana* (EAB) nas doses de 640 e 1280 mg/kg sobre a resposta nociceptiva induzida por formalina. O EAB nas doses indicadas ou o seu veículo (Cremophor RH40 10% v/v em água) foram administrados por via oral 1 h antes da injeção intraplantar de formalina (1%). Os resultados estão expressos como média \pm EPM do número de sacudidas da pata/período de tempo. N=5 para cada grupo. * $p < 0.05$ quando comparado ao valor correspondente do grupo veículo.

O teste de formalina é diferente da maioria dos modelos de dor porque avalia como o animal responde à dor moderada e contínua após injúria de um tecido, sendo este teste o de maior validade para a dor clínica em comparação com testes que empregam estímulos mecânicos ou térmicos (TJOLSEN et al., 1992).

Segundo Dubuisson e Dennis (1977), a quantificação da dor baseia-se no tempo total gasto em estados comportamentais diferentes, que são caracterizados por elevações, lambidas, mordidas ou sacudidas da pata injetada ou redução do peso colocado sobre a mesma.

Uma característica importante do teste de formalina em roedores é o fato de os animais apresentarem duas fases de comportamento antinociceptivo, que parecem envolver dois estímulos diferentes (SAWYNOK, 2003; TJOLSEN et al., 1992). A primeira fase é iniciada logo depois da injeção de formalina e apresenta resposta máxima em torno de 5 minutos. Nesta fase provavelmente ocorre estimulação direta dos nociceptores. A segunda fase começa em torno de 15 a 20 minutos após injeção de formalina e prolonga-se por 20 a 40 minutos. AINEs como a indometacina só reduzem o comportamento nociceptivo na segunda fase, isto fornece evidências de que processos inflamatórios estão envolvidos nesta segunda fase (TJOLSEN et al., 1992). As drogas opióides por outro lado inibem tanto a primeira quanto a segunda fase deste modelo experimental de dor (TAYLOR;BASBAUM, 2000).

O EAB inibiu a primeira fase do teste da formalina, o que sugere que mecanismos centrais podem estar envolvidos na atividade antinociceptiva do extrato. Como o EAB também foi capaz de inibir a segunda fase do teste, pode-se sugerir que mecanismos periféricos atuando sobre o processo inflamatório também podem ser importantes para essa atividade. Isto está coerente com o fato de ter havido redução da inflamação no teste de edema de pata induzido por carragenina.

De Souza (1998), demonstrou utilizando extrato hidroalcoólico de *Alternanthera brasiliana* (50% m/v) que o mesmo produziu analgesia dose

dependente em ambos modelos de dor em ratos (contorções abdominais e formalina). Outro aspecto interessante observado foi que este mesmo extrato mostrou efeito analgésico mais potente que três drogas padrão (aspirina, dipirona e indometacina) quando avaliados no teste de contorção abdominal, além disso os resultados encontrados nesta mesma pesquisa indicaram um perfil analgésico de longa duração quando administrado por via oral ou intraperitoneal (0,5-4 h), sugerindo que seu princípio ativo parece ser bem absorvido tanto pelo trato gastrointestinal quanto por via intraperitoneal.

Os resultados sugerem que o EAB contém diferentes substâncias que parecem estar agindo sob distintos mecanismos: ele pode estar relacionado à inibição da ciclooxigenase, produtos derivados da via do ácido araquidônico, como foi capaz de inibir a segunda fase da dor induzida por formalina e ele também parece estar relacionado com a estimulação dos receptores opióides, já que, como morfina, inibiu ambas fases induzida por formalina dor e o EAB apresentou resultado semelhante.

Investigações fitoquímicas preliminares realizadas com *A. brasiliana* indicaram a presença de terpenos, esteróides e compostos fenólicos. Estudos anteriores relatam que *A. brasiliana* exerce efeito analgésico significativo, tendo potência equivalente à aspirina e paracetamol (Santos et al., 1995).

Alguns estudos têm demonstrado que esta planta exerce atividade in vitro contra vários tipos do vírus, incluindo o vírus da herpes simples (Lagrotta et al., 1995). *A. tenella* é utilizada na medicina popular para tratar a febre, infecções e inflamação genital. Algumas espécies do gênero *Alternanthera* parecem inibir a ativação dos linfócitos, ter propriedades antivirais e hepatoprotetora, efeito antinociceptivo e atividade analgésica. *A. tenella* parece ter também atividade antibiótica nos ensaios utilizando bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas in vitro (GUERRA et al, 2002).

Batista (2008) não encontrou atividade antimicrobiana sobre *Alternanthera brasiliana* sobre cepas ATCC e isoladas na comunidade de bactérias gram negativas e gram positivas. Entretanto, Salvador (2004) observou que *Alternanthera*

maritima apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Os analgésicos opióides têm sido reconhecidos, através dos séculos, como os mais eficazes no tratamento da dor. Dentre eles a morfina, “apesar de antiga”, continua sendo a primeira escolha no tratamento de diversos tipos de dor, aguda ou crônica, apesar de seus efeitos indesejáveis, em especial, a depressão respiratória e dependência (VISCUSI, 2005). É possível que o EAB tenha atividade agonista sobre receptores opióides, uma vez que foi capaz de inibir a dor na sua fase neurogênica, entretanto mais estudos serão necessários para investigar essa possibilidade

Desta forma, o fracionamento e estudos biomonitorados dos compostos presentes na planta *A. brasiliiana* serão imprescindíveis para elucidar os mecanismos pelos quais as substâncias presentes no EHA promovem os efeitos terapêuticos investigados e relatados neste estudo.

5. Conclusões

Nos resultados obtidos neste estudo, o extrato etanólico de *Alternanthera* CF *brasiliiana* (L) KUNTZE, conhecida vulgarmente como Meracilina, produzido a partir das folhas da planta, administrado por via oral, demonstrou possuir propriedades antinociceptiva, antiinflamatória e antipirética em ratos. A partir desse trabalho torna-se interessante isolamento e caracterização dos constituintes químicos dessa planta com a finalidade de se obter moléculas com potenciais ações antinociceptiva, antiinflamatória e antipirética. É preciso elucidar o mecanismo de ação, que pode ser devido a uma molécula isoladamente ou a um sinergismo de duas ou mais moléculas, tendo em vista que foi utilizado o extrato bruto da planta. Tais resultados contribuem de maneira significativa para validação científica de seu uso popular.

6. Referências

- ACCORSI, WR. Medicina natural, um novo conceito. **A fórmula: guia de negócios**, v.2, p. 5, 2000.
- AGNATI, L F; TIENGO, M; FERRAGUTI, F *et al.* Pain, analgesia and stress: an integrated view. **Clinical Journal Pain**, 7 (Suppl): S 23- S 37, 1991.
- ALBUQUERQUE, U. P. de. Etnobotânica de uma bebida cerimonial no nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 78, p. 86-89, 1997
- ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v. 1000, p. 40-56, 2004.
- ALONSO, R. J. **Tratamento de fitomedicina: Bases clínicas e farmacológicas**. editora ISIS, Buenos Aires, Argentina.1998.
- ARNOUS, A.H, SANTOS A.S, BEINNER, R.P.C. Plantas meidicinais de uso caseiro: conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, v.6, p.1-6, 2005.
- ARONOFF, D. M.; NEILSON, E. G. Antipyretics: mechanisms of action and clinical use in fever suppression. **Am. J. Med.**, v.111, p. 304-315, 2001.
- ATKINS, E. Pathogenesis of fever. **Physiol. Rev.**, v. 40, p. 580-646, 1960.
- BARANAUSKAS, G.; NISTRU, A. Sensitization of pain pathways in the spinal cord: cellular mechanisms. **Progress in Neurobiology**, v. 54, p. 349-365, 1998.
- BATISTA, H. L. Atividade Antimicrobiana de Extratos Vegetais de Plantas do Estado do Tocantins. **Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-graduação em Farmacologia**, p. 42-44, 58-152, 2008.
- BESSON, J M. The neurobiology of pain. **Lancet**, v. 353, p. 1610-1615, 1999.
- BEUTLER, B.; BEUTLER, S. M. A patogênese da febre. In: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. (Eds.), **Cecil, Tratado de Medicina Interna**, 22^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 2019-2022, 2001.
- BJÖRKMAN, R. Central antinociceptive effects of non - steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica** v. 39,, p. 1-44, 1995.

BLAIS, C.Jr.; MARCEAU, F.; GOULEAU, J.L.; ADAM, A. The kallikrein-kininogen-kinin system: Lessons from the quantification of endogenous kinins. **Peptides**, v. 21, p. 1903-1940, 2000.

BLATTEIS, C.M. Endotoxic fever: New concepts of its regulation suggest new approaches to its management. **Pharmacology & Therapeutics**, v.111, p.194-223, 2006.

BLOCH, K.D.; HONG, C.C.; EDDY, R.L.; SHOWS, T.B.; QUERATERMOUS, T. cDNA cloning and chromosomal assignment of the endothelin-2 gene: vasoactive intestinal contractor peptide is rat endothelin-2. **Genomics**, v. 10, p. 236-242, 1991.

BOIE, Y; STOCCO, R; SAWYER, N et al. Molecular cloning and Characterization of the four rat prostaglandin E2 prostanoid receptor subtypes. **European Journal of Phamacology**, v. 340, p. 227- 241, 1997.

BOULANT, JA. Counterpoint: Heat-induced membrane depolarization of hypothalamic neurons: an unlikely mechanism of central thermosensitivity. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. v. 290, p. 1481-1484, 2006.

BROCHADO, C. O. et al. Flavonol Robinobiosides and Rutosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their effects on linphocyte Proliferation In Vitro. **Journal of the Brasilian Chemical Society**. v.14, n.3, p. 449-451, 2003.

BROWN, M.R.; FISHER, L.A.; RIVIER, J.; SPIESS, J.; RIVIER, C.; VALE, W. Corticotrophin-releasing factor: effects on the sympathetic nervous system and oxygen consumption. **Life Sci.**, v. 30, p. 207-210, 1982.

BURGESS, P. R.; PERL, E. R. Myelinated afferents fibres responding specifically to noxious stimulation of the skin. **Journal of Physiology**, v. 190, p. 541-562, 1967.

CALIXTO, JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz J Med Biol Res**; v. 33, p.179-189, 2000.

CAMPBELL, W B; HALUSHKA, P V. Lipid-derived autacoids eicosanoids and Platelet - activating factor. In: Hardman, J G; Limbird, L E; Molinoff, P B; Ruddon, R W; Gilman, A G. (Eds.), Goodman and Gilman's **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. McGraw - Hill. New York, p. 601-616, 1996.

CAO, T.; PINTER, E.; AL-RASHED, S.; GERARD, N.; HOULT, Jr.; BRAIN, S.D. Neurokinin-1 receptor agonists are involved in mediating neutrophil accumulation in the inflamed, but not normal, cutaneous microvasculature: An *in vivo* study using

neurokinin-1 receptor knockout mice. **Journal of Immunology**, v. 164, p. 5424-5429, 2000.

CASTRO E SILVA, E. Neurotransmissão aminérgica central. In: Silva, P. **Farmacologia**. 5 ed., Rio de Janeiro : Guanabara Koogan S. A.,p.253 - 268, 1998.

CAVALCANTI, I L; MADDALENA, M L. **Dor**. Rio de Janeiro: SAERJ, 2003.

COCEANI, F. Prostaglandins and fever: facts and controversies. In: **MACKOWIAK, P. A. Fever: basic mechanisms and management**. New York, Raven Press. p. 59-69, 1991.

COLEMAN, J W. Nitric oxide in immunity and inflammation. **Internacional Immunopharmacology**, v. 1, p.1397-1406, 2001.

CORDELL, G.A.. Changing strategies in natural products chemistry **Phytochemistry**, v. 40, p. 1585-1612, 1995.

COSTIGAN, M.; WOOLF, C. J. Pain: molecular mechanisms. **The Journal of Pain**, v. 1, N° 3, Sup. 1, p. 35-44, 2000.

CRAIG, E. A.; GROSS, C. A. Is hsp 70 the cellular thermometer? **Trends Biochem. Sci.**, v. 16, p. 135-140, 1991.

DIAMANT, M.; De WIED, D. Autonomic and behavioral effects of centrally administered corticotropin-releasing factor in rats. **Endocrinology**, v.129, n.1, p. 466-454, 1991.

DINARELLO CA. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. **J Endotoxin Res**. v. 10, p. 201-22, 2004.

DJUPESLAND, P.G.; CHATKIN, J.M.; QIAN, W.; HAIGHT, J.S.. Nitric oxide in the nasal airway: A new dimension in otorhinolaryngology. **American Journal of Otolaryngology**, v. 22, p. 19-32, 2001.

DRAY, A; URBAN, L; DECKENSON, A H. Pharmacology of chronic pain. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 15, p.190-197, 1994.

DREWS, J. Strategic trends in the drug industry. **Drug Discovery Today**, Oxford, v. 8, p. 411-420, 2003.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test : a quantitative study of the analgesic effects of morphine, mepiridine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, Amsterdam, v.4, p. 161-174, 1977.

ELIIS, K.M.; FOZARD, J.R.. Species differences in bradykinin receptor-mediated responses of the airways. ***Autonomic and Autacoid Pharmacology***, v. 22, p. 3-16, 2002.

ENGBLOM D, EK M, ERICSSON-DAHLSTRAND A, BLOMQVIST A. Activation of prostanoid EP(3) and EP(4) receptor mRNA-expressing neurons in the rat parabrachial nucleus by intravenous injection of bacterial wall lipopolysaccharide. ***J Comp Neurol.***, v. 440, p. 378-386, 2002.

FABRICIO, A.S.C.; SILVA, C.A.A.; RAE, G.A.; D'ORLÉANS-JUSTE, P.; SOUZA, G.E.P. Essential role for endothelin ET_B receptors in fever induced by LPS (E. coli) in rats. ***Br. J. Pharmacol.***, v. 125, p. 542-548, 1998.

FABRICIO A.S., RAE G.A., ZAMPRONIO A.R., D'ORLEANS-JUSTE P., SOUZA G.E. Central endothelin ET(B) receptors mediate IL-1-dependent fever induced by preformed pyrogenic factor and corticotropin-releasing factor in the rat. ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*** v. 290, n. 1, p. 164-71, 2006.

FABRICIO A.S., VEIGA F.H., CRISTOFOLETTI R., NAVARRA P., SOUZA G.E.. The effects of selective and nonselective cyclooxygenase inhibitors on endothelin-1-induced fever in rats. ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*** v. 288, p. 671-677, 2005.

FRAGA, D.; MACHADO, R.R.; FERNANDES, L.C.; SOUZA, G.E.; ZAMPRONIO,A.R. Endogenous opioids: role in prostaglandin-dependent and -independent fever. ***Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*** v. 294, p. 411-420, 2008.

FRANÇA, S.C. Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas **In: *Farmacognosia da Planta ao medicamento***. SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL E.P.; GOSMANN G.; DE MELLO J.C.P.; MENTZ L.A.; ETROVICK P.R. (eds). Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade/UFRGS/ Editora UFSC/ Brasil.p.105-124, 2001.

FRANGOIANNIS, N.G.; SMITH, C.W.; ENTMAN, M.L.. The inflammatory response in myocardial infarction. ***Cardiovascular Research.***, v. 53, p. 31-47, 2002.

GALLIN, J.I.; GOLDSTEIN, I.M.; SNYDERMAN, R. Inflammation: basic principles and clinical correlates. 2. ed. **New York: Raven Press**, 1992.

GARCIA, E.S.; SILVA, A.C.P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C.B.V.; CAVALHEIRO, M.S.V.; SANTOS, R.R.; TOMASINI, T. *Fitoterápicos*. Campinas: André Tosello, p.17, 1996.

GELFAND, J. A.; DINARELLO, C. A.; WOLFF, S. M. Fever, including fever of unknown origin. In: **ISSELBACHER, K. J. et al, eds. Harrison's principles of internal medicine**, New York, McGraw-Hill. p. 81-89, 1994.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Temperatura Corporal, Regulação Térmica e Febre. In: **Tratado de Fisiologia Médica**, 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 769-779, 2002.

HAMILTON, Alan. Medicinal plants and conservation: issues and approaches. International Plants Conservation Unit, WWF-UK, 2003. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasil. Resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004.

HANADA, T.; YOSHIMURA, A.. Regulation of cytokine signaling and inflammation. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 13, p. 413-421, 2002.

HENKER, R.; KRAMER, D.; ROGERS, S. Fever. **AACN Clinical Issues**, Baltimore, v. 8, p. 351-367, 1997.

HOLLOWAY, A.F.; RAO, S.; SHANNON, M.F.. Regulation of cytokine gene transcription in the immune system. **Molecular Immunology**, v. 38, p. 567-580, 2002.

HOPKINS, S.J.. The pathophysiological role of cytokines. **Legal Medicine**, v. 5, p. 45-57, 2003.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios Ativos de Plantas superiores**, São Carlos: EdUFSCAR, p. 7-42, 2003.

INOUE, A.; YANAGISAWA, M.; KIMURA, S.; KASUYA, Y.; MIYAUCHI, T.; GOTO, K.; MASAKI, T. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v. 86, , p. 2863-2867, 1989.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, p. 203-210, 2001.

KEEBLE, J.E.; BRAIN, S.D.. A role for substance P in arthritis? **Neuroscience Letters** v. 361, p. 176-179, 2004.

KINGHORN, A. D. Pharmacognosy in the 21st century. **Journal of Pharmaceutical Pharmacology**, Washington, v. 53, p. 135-148, 2001.

KLUGER, M. J. Fever: role of pyro-gens and cryogens. **Physiol. Rev.**, v. 71 , p. 93-127, 1991.

KOSHI, T.; EDANO, T.; ARAI, K.; CHIYOKA, S.; EHARA, Y.; HIRATA, M.; OHKUCHI, M.; OKABE, T. Pyrogenic action of endothelin in conscious rabbit. **Biochem. Bioph. Res. Commun.**, v. 186, n. 3, p. 1322-1326, 1992.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran. **Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 49 – 79, 2005.

LAGROTA, M. H. C.; WIGG, M. D.; SANTOS, M. M. G.; MIRANDA, M. M. F.S.; CAMARA, F. P.; COUCEIRO, J. N. S. S.; COSTA, S. S. Inhibitory Activity Of Extracts Of *Alternanthera Brasiliana* (Amaranthaceae) Against The Herpes Simplex Virus. **Phytotherapy Research**. v. 8, p. 358-361, 1994.

LATEY, P.. Aspects of inflammation: A study of injury, healing and repetitive strain. **Journal of Bodywork and Movement Therapies**, v. 5, p. 124-131, 2001.

LECCI, A.; GIULIANI, S.; TRAMONTANA, M.; CARINI, F.; MAGGI, C.A.. Peripheral actions of thachykininis. **Neuropeptides**, v. 34, p. 303-313, 2000.

LeFEUVRE, R.A.; ROTHWELL, N.J.; STOCK, M.J. Activation of brown fat thermogenesis in response to central injection of corticotrophin releasing hormone in the rat. **Neuropharmacology**, v. 26, n. 8, p. 1217-1221, 1987.

LI, P; ZHUO, M. Substance P and neurokinin A mediate sensory synaptic Transmission In young rat dorsal horn neurons. **Brain Research Bulletin**, v. 55, p. 521-531, 2001.

LIDDLE, R.A.; NATHAN, J.D.. Neurogenic inflammation and pancreatitis. **Pancreatology**, v. 4, p. 551-559, 2004.

LORENZI, Harri, MATOS, Abreu F.J. **Plantas Mediciniais no Brasil: Naturais e Exóticas**, 2001.

MACEDO, A. F. et al. Pharmacological and photochemical studies of calus culture extracts from *Alternanthera brasiliana*. **Pharmazie**. v.54, p.776-777, 1999.

MacGLASHAN, D. Jr.. Histamine: A mediator of inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 112, p, 53-59, 2003.

MACKOWIAK, P.A. Concepts of fever. **Arch Intern Med.**, v.158, p.1870-1881, 1998.

MARONE, G.; GRANATA, F.; SPADARO, G.; GENOVESE, A.; TRIGGIANI, M.. The histamine-cytokine network in allergic inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 112, p. 83-88, 2003.

MARRIOTT, I.. The role of tachykinins in central nervous system inflammatory responses. **Frontiers in Bioscience**, v. 9, p. 2153-2165, 2004.

MICHIE HR, SPRIGGS DR, MANOGUE KR, SHERMAN ML, REVHAUG A, O'DWYER ST, ARTHUR K, DINARELLO CA, CERAMI A, WOLFF SM, ET AL. Tumor necrosis factor and endotoxin induce similar metabolic responses in human beings. **Surgery**, v. 104, p. 280-286, 1988.

MILLAN, M. J. The induction of pain: An integrative review. **Progress in Neurobiology**, v. 57, p. 1-164, 1999.

MILTON, A. S. Prostaglandins and fever. **Prog. Brain Res.**, v. 113, p. 129-139, 1996.

MOREAU, M.V.; GARBACKI, N.; MOLINARO, G.; BROWN, N.J.; MARCEAU, F.; ADAM, A.. The kallikrein-kinin system: Current and future pharmacological targets. **Journal of Pharmacological Science**, v. 99, p. 6-38, 2005.

NAKAZAWA, TA. Particularidades de formulações para fitoterápicos. **Rev Racine**; v. 9, p.38-41,1999.

NATHAN, C.. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, p. 846-852, 2002.

NEDERGAARD, J. Brown adipose tissue thermogenesis and fever. In: **BARTFAI, T.; OTTOSON, D. Neuro-immunology of fever**: Oxford, Pergamon Press. p. 235-248,1992.

PAPADOPOULOU, N.; KALOGEROMITROS, D.; STAURIANEAS, N.G.; TIBLALEXI, D.; THEOHARIDES, T.C.. Corticotropin-releasing hormone receptor-1 and histidine decarboxylase expression in chronic urticaria. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 125, p. 952-955, 2005.

PATTERSON, C.E.; LUM, H. Update on pulmonary edema: The role and regulation of endothelial barrier function. **Endothelium**, v. 8, p. 75-105, 2001.

PENNEFATHER, J.N.; LECCI, A.; CANDENAS, M.I.; PATAK, E.; PINTO, F.M.; MAGGI, C.A.. Tachykinins and tachykinin receptors: A growing family. **Life Sciences**, v. 74, p. 1445-1463, 2004.

PITMAN, V. As plantas medicinais e a saúde. **Fitoterapia**. Lisboa: Estampa,p. 188, 1996.

POLLA, B. S. A role for heat shock proteins in inflammation? **Immunol. Today**, v. 9, p. 134-137, 1988.

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

REZENDE, HA; COCCO MIM. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Rev Esc Enferm USP**; v. 36, p.282-288, 2002.

ROCHA E SILVA, M.; GARCIA L., J. Chemical mediators of the acute inflammatory reaction. In: **International series of Monographs in Pure and Applied Biology, Modern Trends in Physiological Sciences**, v. 37, p. 1 – 47, 2006.

ROMANOVSKY, A. A.; ALMEIDA, M. C.; ARANOFF, D. M.; IVANOV, A. I.; KONSMAN J. P.; STEINER, A. A.; TUREK, V. F. Fever and hypothermia in systemic inflammation: recent discoveries and revisions. **Frontiers in Bioscience**, Manhasset, v. 10, p. 2193-2216, 2005.

ROTH, J. Endogenous antipyretics. **Clin. Chim. Acta.** v. 371, p. 13-24, 2006.

ROTHWELL, N.J.; BUSBRIDGE, N.J.; LEFEUVRE, R.A.; HARDWICK, A.J.; GAULDIE, J.; HOPKINS, S.J. Interleukin-6 is a centrally acting endogenous pyrogen in the rat. **Can J Physiol Pharmacol.**, v. 69, p. 1465-1469, 1991

RUDDER, EAMC. **Guia compacto das plantas medicinais**. Editora Rideel; p. 478, 2002.

RUSSO, C; BROSE, W G. Chronic pain. **Annual Review of Medicine**, v. 49,p. 123- 133, 1998.

[SALVADOR, MJ](#), et al. In vitro antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents of *Alternanthera maritima*. **Pharmaceutical Biology** , n. 42 p.138-148, 2004.

SANTOS, M. D. *Lynchnophora ericoides* Mart: Avaliação farmacológica e considerações sobre metabolismo oxidativo das substâncias bioativas. 2006. 152 f. **Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo**, Ribeirão Preto, 2006.

SAWYNOK, S. J. Topical and peripherally acting analgesics. **Pharmacological Reviews**, Bethesda, v. 55, p. 1-20, 2003.

SCAMMELL, T.E.; GRIFFIN, J.D.; ELMQUIST, J.K.; SAPER, C.B. Microinjection of cyclooxygenase inhibitor into the anteroventral preoptic region attenuates LPS fever. **Am. J. Physiol.**, v. 274,p .783-789, 1998.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R.. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento e medicamentos In: **Farmacognosia da Planta ao medicamento**. SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL E.P.; GOSMANN G.; DE MELLO J.C.P.; MENTZ L.A.; PETROVICK P.R. (eds). Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade/UFRGS/ Editora UFSC/ Brasil, p. 301-330, 2001.

SEDGWICK,A.D.; WILLOUGHBY, D. A. Animal models for testing immunopharmacological agents. In: DALE, M. M; FOREMAN, J. C.; FAN, T. D.

(Eds.). Textbook of immunopharmacology. 3. ed. Oxford: **Blackwell Scientific Publications**, p.279, 1994.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v. 18, p. 385–405, 2004.

SOUZA, A H. Avaliação do Potencial Antinociceptivo e Mecanismo de ação do 2-[5-triclorometil-5-hidroxi-3-fenil-4,5-dihidro-1Hpirazol- 1-IL] 4-(4 bromofenil)-5 metiltiazol (B50) em camundongos. **Dissertação de Mestrado apresentado ao PPGBT/CCNE/UFSM**, 2005.

SOUZA, L. Moreira de. **Plantas Ornamentais do Brasil**. 3º edição, p. 129, 2001.

STRASSMAN, G. et al. Evidence for the involvement of interleukin-6 in experimental cancer cachexia. **J. Clin. Invest.**, v. 89, p. 1681-1684, 1992.

SUZUKI, Y.; RUIZ-ORTEGA, M.; LORENZO, O.; RUPEREZ, M.; ESTEBAN, V.; EGIDO, J.. Inflammation and angiotensin II. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 35, p. 881-900, 2003.

SZABÓ, C.. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. **Toxicology Letters**, v. 140, p. 105-112, 2003.

TAIWO, Y; LEVINE, J D. Characterization of the arachidonic acid metabolites mediating bradikinin and noradrenaline hyperalgesia. **Brain Research**, v. 458,p. 402 - 406, 1988.

TAYLOR, B. K.; BASBAUM, A. I. Early antinociception delays edema buto does not reduce the magnitude of persistent pain in formalin test. **The journal of Pain**, Washington, v. 1, p. 218-228, 2000.

TJOLSEN, A.;BERGE, O.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. **The formalin test: an evaluation of the method Pain**, Amsterdam, v. 51, p. 5-17, 1992.

VANE, J.R.; BAKHLE, Y.S.; BOTTING, R.M. Cyclooxygenases 1 and 2. **Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 38, p. 97-120, 1998.

VANEGAS, H; SCHAIBLE H-G. Prostaglandins and cycloxygenases in the spinal cord. **Progress in Neurobiology**, v. 64, p. 327-363, 2001.

VELÁZQUEZ, R A; KITTO, K F; LARSON, A A. CP-96, 345, wich inhibits [3H] substance P binding, selectively inhibits the behavioral response to intrathecally administered NMDA, but not substance P, in the mouse. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**,v. 281,p. 1231-1237, 1997.

VISCUSI ER. Emerging techniques in the management of acute pain: epidural analgesia. **Anesth Analg**, v. 101 (Suppl):p. 23-29, 2005.

VOLTARELLI JC. Febre e inflamação. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 27, n. 1/2, p. 7-48, jan./jun. 1994.

VOOG, U.; ALSTERGREN, P.; LEIBUR, E.; KALLIKORM, R.; KOPP, S.. Immediate effects of the serotonin antagonist granisetron on temporomandibular joint pain in patients with systemic inflammatory disorders. **Life Science**, v. 68, p. 591-602, 2000.

VUORELA, P.; LEINONEM, M.; SAIKKU, P.; TAMMELA, P.; RAUHA, J. P.; WENNERBERG, T.; VUORELA, H. Natural products in the process of find new drug candidates. **Current Medicinal Chemistry**, Hilversum, v.11, p. 1375-1389, 2004.

WALZOG, B.; GAEHTGENS, P. Adhesion Molecules: The path to a new understanding of acute inflammation. **News in Physiological Sciences**, v. 15, p. 107 – 113, 2000.

WILKINSON, John A. The Potencial of Herbal Products for Nutraceutical and Pharmaceutical Development. **Functional Foods, Fifth Annual Conference**. Londres, setembro 1998.

WONG, M.M.; FISH, E.M.. Chemokines: Attractive mediators of the immune response. **Seminars in Immunology**, v. 15, p. 5-14, 2003.

WOOLF, C. J. Pain. **Neurobiology of Disease**, v. 7, p. 504-510, 2000.

YANAGISAWA, M.; KURIHARA, H.; KIMURA, S.; TOMOBE, Y.; KOBAYASHI, M.; MITSUI, Y.; YASAKI, Y.; GOTO,K.; MASAKI, T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature**. v. 332, p. 441-445, 1988.

YOUSIF, M.H.M.. Histamine-induced vasodilation in the perfused kidney of STZdiabetic rats: Role of EDNO and EDHF. **Pharmacological Research**, v. 51 p. 515-521, 2005.

ZAMPRONIO, A.R.; MELO, M.C.C.; HOPKINS, S.J.; SOUZA, G.E.P. Involvement of CRH in fever induced by a distinct pre-formed pyrogenic factor. **Inflamm. Res.**, v. 49, p.1-7, 2000.

ZEISBERGER, E. From humoral fever to neuroimmunological control of fever. **J.Thermal Biol.**, v. 24,p. 287-326, 1999.

ZHANG, Y.; ADNER, M.; CARDELL. L.O.. Up-regulation of bradykinin receptors in a murine in-vitro model of chronic airway inflammation. *European Journal of Pharmacology*, v. 489, p. 117-126, 2004.