



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE PESQUISAS EM PLANTAS MEDICINAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

FLAVIANO RIBEIRO PINHEIRO NETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO α -FELANDRENO EM
MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERNOCICEPÇÃO ONCOLÓGICA**

TERESINA-PI

2019

FLAVIANO RIBEIRO PINHEIRO NETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO α -FELANDRENO EM
MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERNOCICEPÇÃO ONCOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde/Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida

Examinada em: 02 de maio de 2019

Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do CCS
Serviço de Processamento Técnico

P654a Pinheiro Neto, Flaviano Ribeiro.
Avaliação da atividade antinociceptiva do α -felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica / Flaviano Ribeiro Pinheiro Neto. – Teresina, 2019.

108 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, 2019.

“Orientação: Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida.”

Bibliografia

1. Monoterpenos. 2. α -Felandreno. 3. Sarcoma-180. 4. Dor Oncológica. I. Título.

CDD 615.32

Elaborada por Fabíola Nunes Brasilino CRB 3/ 1014

BANCA EXAMINADORA

**Prof^a. Dr^a. Fernanda Regina de Castro Almeida
(Orientador)**

**Prof. Dr. Joubert Aires de Sousa
(Examinador Externo)**

**Prof. Dr. Dalton Dittz Júnior
(Examinador Externo)**

**Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira
(Examinador Externo)**

**TERESINA-PI
2019**

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus por me possibilitar chegar ao fim de mais uma jornada.

Agradeço a minha família, minha mãe, Mirtes Alves dos Santos, meu pai, Francisco de Assis Silva Pinheiro, minha avó paterna, Teresinha de Jesus Silva Pinheiro, avós maternos, Maria Mirtes dos Santos e Gervásio Alves dos Santos, meu tio, Jorge Silva Pinheiro e meus irmãos, Fábio Daniel Alves Pinheiro, Francisco de Assis Veras Carvalho, Gustavo Santiago Alves Pinheiro e Maria Isadora da Silva Pinheiro por todo o apoio, amor, incansáveis orações, ensinamentos e por estarem presentes em minha vida.

A todos os professores do mestrado em Farmacologia, muito obrigado por todo o conhecimento que adquiri durante todo o tempo de formação no mestrado.

Um agradecimento mais que especial à Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida, minha orientadora, por toda paciência, pelo enorme conhecimento que me foi proporcionado. Obrigado não só pelo que aprendi como farmacologista, mas pelos conselhos também. Tenho certeza que vou carregá-los comigo por toda minha vida.

Ao prof. Dr Paulo Michel Pinheiro, obrigado por abrir as portas do LABCANCER, pela sua disponibilidade e por me coorientar durante toda a execução desse projeto. O senhor foi umas das peças fundamentais para esse estudo.

A minha namorada, Vitória Santos Sampaio, pelo amor, atenção, carinho, paciência, e por estar sempre ao meu lado, me apoiando durante esses anos. Esse período se tornou bem mais fácil de ser vivido com você ao meu lado.

À ilha de excelência chamada LAFDOR – Laboratório de Farmacologia da Dor, Carlos Antônio Filho, Marluce Damasceno, Celyane Alves, Mateus Rocha, Laercio da Silva, Willian Amorim, Boris Timah Acha, Ana Rita – em especial ao “chefe” Everton Lopes – obrigado por todo o tempo e dedicação durante a construção desse projeto. Muito obrigado por serem a melhor equipe que um pós-graduando poderia desejar. Sem a ajuda de vocês seria impossível ter chegado ao fim.

Aos meus amigos de turma Ingredy Lopes, Isabela Noleto, Jéssica Lindoso, José Vitor, Joselma Lacerda, Lorena Braz, Lorranya Feitosa, Lucas Solyano, Mariana

Sousa, Mickael Laudrup, Monique Luana, Raí Emanuel, Rodolfo Ritchelle, Suylane Sobral, vocês foram incríveis, excelentes pessoas e profissionais. Vou lembrar para sempre de todos os momentos que tivemos nesses anos. E não poderia esquecer dos amigos, Dianna Rezende, Sara Raquel e, em especial, Rodrigo Lopes e Ian Jhemes, por toda ajuda oferecida e pela amizade proporcionada. Muito obrigado.

À toda equipe de funcionários do NPPM – Núcleo de Pesquisa em Plantas Mediciniais, agradeço por toda atenção e ajuda. Obrigado a todos.

Flaviano Ribeiro Pinheiro Neto

RESUMO

Avaliação da atividade antinociceptiva do α -felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

A dor oncológica é um tipo de dor que ostenta uma neurobiologia enigmática e multifatorial. Por causa da natureza complexa e etiologia da dor do câncer, diversos agentes farmacêuticos são usados como parte do regime de tratamento desse tipo de dor. Nesse contexto, a pesquisa farmacológica para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos vem se tornando cada vez mais necessário. Os óleos essenciais (OE), em especial, os metabólitos secundários, como monoterpenos, são extraídos de plantas, que apresentam as mais variadas características biológicas, dentre eles ressaltamos o α -Felandreno (α -Fel) que, na literatura, destacou-se por apresentar importantes atividades biológicas, como aumentar efetivamente a imunidade através de modulação de resposta imune celular e humoral em animais, atividade antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatório, e antinociceptivo. O objetivo desse estudo foi investigar o possível efeito antinociceptivo do α -Fel em modelo animal de dor oncológica. Para indução da dor oncológica, foi inoculado células de sarcoma-180 na região subaxilar. Os animais foram avaliados quanto aos parâmetros de alodinia e hiperalgisia mecânicas, utilizando os filamentos von Frey. As avaliações antinociceptivas foram divididas em 3 tratamentos: cotratamento – 7 grupos: sham (NaCl 0,9% sem inoculação de células), veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), controle positivo para avaliação da nocicepção (Pregabalina 10 mg/kg, v.o), controle positivo para avaliação de atividade antitumoral (5-Fluoracil - 5-FU, 25 mg/Kg, i.p) e 3 doses de α -Fel (12,5; 25 e 50 mg/kg v.o), no qual teve início 24 h após a inoculação. Tratamento agudo, no 8º dia pós-inoculação do tumor nos tempos (0, 60, 120, 180 e 240 min) e subagudo 16º ao 24º dia, nos seguintes grupos: sham (NaCl 0,9% sem inoculação de células), veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), controle positivo para avaliação da nocicepção (Morfina 10 mg/kg, v.o), e 4 doses de α -Fel (6,25; 12,5; 25 e 50 mg/kg v.o), em que nas avaliações direta no tecido peritumoral e indireta na pata traseira direita, o α -Fel capaz de diminuir a hipernocicepção provocada pelo tumor de S-180. Em seguida, foi investigado peso relativo dos órgãos dos animais no cotratamento e pós-tratamento subagudo, bem como o peso bruto dos tumores para investigar possível atividade antitumoral, no qual o α -Fel reduziu em até 74,6% o tamanho do tumor no cotratamento e em até 82,74% no pós-tratamento subagudo. Nesse contexto, para determinar possíveis mecanismos de ação, foram realizados testes para determinação antioxidante, superóxido dismutase (SOD), malonaldeído (MDA) e glutatona redutase (GSH), no qual o α -Fel aumentou a concentração de espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e GSH. Posteriormente, verificou-se a participação do α -Fel na via GABAérgica e opióide através de bloqueador específico (Bicuculina e naloxona), que foram capazes de reverter o efeito antinociceptivo do α -Fel, sugerindo participação nessas duas vias, corroborando com a docagem molecular dos receptores opióides (μ , δ , K), no qual foi possível observar a ligação do α -Fel nos receptores opióides. E por fim, verificou-se a capacidade do α -Fel em modular citocinas, através de ensaio imunoenzimático (ELISA), no qual observou-se que o α -Fel reduziu os níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-4 e IL-6.

Palavras-chave: Monoterpenos. α -Felandreno. Sarcoma-180. Dor Oncológica.

ABSTRACT

Evaluation of the antinociceptive activity of α -Felandreno in an oncologic hypernociception experimental model

Oncologic pain is a type of pain that has an enigmatic and multifactorial neurobiology. Because of the complex nature and etiology of cancer pain, various pharmaceutical agents are used as part of the regimen for treating this type of pain. In this context, pharmacological research for the development of new therapeutic agents has become increasingly necessary. Essential oils (OE), especially the secondary metabolites, such as monoterpenes, are extracted from plants that exhibit the most varied biological characteristics, among them we highlighted α -Felandreno (α -Fel) which displayed important biological activities such as; increase effective immunity by modulating cellular and humoral immune responses in animals, antimicrobial activity, antitumor, anti-inflammatory, and antinociceptive. The Purpose of this study was to investigate a possible antinociceptive effect of α -Fel in animal model of cancer pain. Cancer pain was induced by inoculating sarcoma-180 cells into the subaxillary region of animals. The animals were evaluated for mechanical allodynia and hyperalgesia using von Frey filaments. Antinociceptive evaluations were conducted regarding three treatments (cotreatment: 7 groups: sham NaCl 0.9% without cell inoculation), vehicle (0.9% NaCl with 2% Tween 80), positive control for nociception evaluation (Pregabalin 10 mg / kg, po), positive control for evaluation of antitumor activity (5-Fluoracil-5-FU, 25 mg / kg, ip) and 3 doses of α -Fel (12.5, 25 and 50 mg / kg) 24 h after inoculation), Acute treatment on 8th day post-inoculation of the tumor at the times (0, 60, 120, 180 and 240 min) and subacute on the 16th to 24th day in the following sham groups (NaCl 0.9% without inoculation of cells), vehicle (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% po) positive control for nociception evaluation (Morphine 10 mg / kg, po), and 4 doses of α -Fel (6.25, 12.5, 25 and 50 mg / kg, kg po), in which α -Fel was capable of decreasing the hypernociception caused by the S-180 tumor in direct evaluations of peritumoral tissue and indirect evaluation of animal right hind paw. The relative weight of organs of animal which underwent cotreatment and subacute treatment as well as the gross weight of tumors was evaluated to investigate possible antitumor activity where α -Fel reduced up to 74.6% of tumor size during cotreatment and up to 82.74% during subacute treatment. In this context to determine possible mechanism of action, levels of antioxidant superoxide dismutase (SOD), malonaldehyde (MDA) and glutathione reductase (GSH) were measured, in which α -Fel increased the concentration of reactive thiobarbituric acid (TBARS) and GSH species. Nextly, the participation of α -Fel in the GABAergic and opioid neural pathways was verified using a specific blocker (Bicuculline and naloxone), which reversed the antinociceptive effect of α -Fel, suggesting its participation in these two pathways corroborating the molecular docking of opioid receptors (μ , δ , K), in which it was possible to observe α -Fel binding at the opioid receptors. Finally, the ability of α -Fel to modulate cytokines was verified using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and it was observed that α -Fel reduced levels of TNF- α , IL-1 β , IL-4 and IL-6.

Keywords: Monoterpenes. α -Phellandrene. Sarcoma-180. Oncologic Pain.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Vias espinhais e supraespinhais da dor	16
Figura 2: Plexo Braquial	23
Figura 3: Estrutura química do 2-metil-5-propan-2-ilciclohexa-1,3-dieno em 2D.....	27
Figura 4: Estrutura química do 2-metil-5-propan-2-ilciclohexa-1,3-dieno em 3D.....	27
Figura 5: Animal Tricotomizado	32
Figura 6: Implantação do tumor de células de Sarcoma-180	33
Figura 7: Esquema do protocolo de avaliação da atividade antialodínica do Cotratamento com α -Fel.....	34
Figura 8: Esquema representativo de avaliação aguda com α -Fel.....	34
Figura 9: Esquema representativo de avaliação do pós-tratamento subagudo com α -Fel com tumor de S-180 instalado.....	35
Figura 10: Avaliação da alodinia por Von Frey	36
Figura 11: Avaliação da nocicepção direta no tecido peritumoral de camundongos com tumor de S-180 no cotratamento com α -Fel.	43
Figura 12: Avaliação da nocicepção indireta de camundongos com tumor de S-180 no cotratamento com α -Fel.	45
Figura 13: Avaliação da nocicepção direta no tecido peritumoral de camundongos com tumor de S-180 no tratamento agudo com α -Fel.....	47
Figura 14: Avaliação da nocicepção indireta de camundongos com tumor de S-180 no tratamento agudo com α -Fel	49
Figura 15: Avaliação da nocicepção direta no tecido peritumoral de camundongos com tumor de S-180 no pós-tratamento subagudo com α -Fel.	51
Figura 16: Avaliação da nocicepção indireta de camundongos com tumor de S-180 no pós-tratamento subagudo com α -Fel.....	53
Figura 17: Peso relativo dos Animais Cotratamento.	56
Figura 18: Massa dos Tumores Cotratamento.	57
Figura 19: Peso relativo dos animais pós-tratamento subagudo.....	60
Figura 20: Massa dos tumores pós-tratamento subagudos.....	61
Figura 21: Efeito antioxidante do α -Fel em soro sanguíneo de camundongos como neuropatia induzida S-180.	62
Figura 22: Avaliação do envolvimento do sistema opióide no efeito antinociceptivo do α -Fel em camundongos transplantados com sarcoma 180.....	64
Figura 23: Ancoragem molecular do α -Fel e morfina.	66
Figura 24: Participação do sistema GABAérgico no efeito antinociceptivo do α -Fel em camundongos transplantados com sarcoma 180	69
Figura 25: Níveis de Citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-4 e IL-6).....	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Massa relativa dos Órgão Cotratamento	55
Tabela 2: Massa relativa dos órgãos pós-tratamento subagudos.....	59
Tabela 3: Resultados referentes a ancoragem do α -Fel e da morfina nos receptores μ , δ , K.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS

AINES	Anti-inflamatórios não esteróidais
5-HT	Serotonina
Ach	Acetilcolina
AchRs	Receptores de acetilcolina
AD	Adrenalina
ALT	Alanina transaminase
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropriónico
AST	Aspartato transaminase
ATP	Trifosfato de adenosina
CaMK II quinase	Proteínas quinases II dependente de cálcio e calmodulina ()
CEEA	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CFA	Complexo Adjuvante de Freund
COX	Cicloxigenase
COX-1	Cicloxigenase-1
COX-2	Cicloxigenase-2
GABA	Ácido gama aminobutírico
GPCR	Receptores acoplados à proteína G
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
IL	Interleucina
IP	Intraperitoneal
KA	Caitano
mGluRs	Receptores de glutamato metabotrópicos
NA	Noradrenalina
NF- κB	Fator nuclear-kb
NMDA	N-metil-D-aspartato

NO	Óxido nítrico
NPPM	Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais
OEs	Óleos essenciais
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Potencial de ação
PG	Prostaglandinas
PGs	Prostaglandinas
PIP2	Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato
RO	Receptores opióides
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SNC	Sistema nervoso central
TBARS	Substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico
TLRs	Receptores <i>Toll-like</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
TRP	Canais Potenciais do Receptor Transiente
TRPV1	Receptor potencial transiente do receptor vanilóide 1
v.o	Via oral
5-FU	5-Fluorouracil
S-180	Sarcoma-180

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Classificações e conceitos gerais sobre dor	12
1.2	Neurofisiologia da dor	15
1.3	Dor Oncológica	21
1.4	Óleos essenciais e o α -Felandreno	25
2	OBJETIVOS	29
2.1	Objetivo Geral	29
2.2	Objetivos Específicos	29
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	Drogas, reagentes e equipamentos	31
3.2	Animais	31
3.3	Obtenção, preparo e administração do α -Fel	32
3.4	Preparação dos animais	32
3.5	Implantação do tumor de células de Sarcoma-180	32
3.6	Tratamento	33
3.7	Avaliação da alodinia oncológica	35
3.8	Avaliação da atividade antitumoral em camundongos com S-180	36
3.9	Avaliação antioxidante	37
3.9.1	Superóxido dismutase (SOD)	37
3.9.2	Glutathiona reduzida (GSH)	37
3.9.3	Malondialdeído (MDA)	38
3.10	Ensaio Imunoenzimático IL-1 β , IL-6, IL-4 e TNF- α	38
3.13	Investigação dos possíveis mecanismos de ação antinociceptiva do α -Fel em modelo de dor oncológica	39
3.13.1	Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do α -Fel em modelo de dor oncológica	39
3.13.2	Participação do sistema GABAérgico no efeito antinociceptivo do α -Fel em modelo de dor oncológica	39
3.14	Docagem molecular	39
3.15	Análise estatística	40
4	RESULTADO	42
4.1	Avaliação Antinociceptiva	42

4.2 Avaliação da massa relativa.....	55
4.3 Investigação da atividade antioxidante.....	62
4.4 Investigação de possíveis mecanismos de ação.....	63
4.5 Docagem molecular do α -Fel e Morfina nos receptores opióides.....	65
4.6 Reação Imunoenzimática (ELISA).....	69
5 DISCUSSÃO.....	73
6 CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS.....	89

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Classificações e conceitos gerais sobre dor.

De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor é definida como “uma experiência sensorial ou emocional desagradável que está associada a uma lesão tecidual real ou potencial, ou descrita nos termos de tal lesão” (IASP, 2017), ou seja, como um modo de defesa, iniciado por impulsos potencialmente nocivos. Contraditoriamente a outros estímulos sensoriais, a dor é fundamental para a sobrevivência (GIORNO et al., 2016).

Quando os impulsos deletérios, como calor intenso, estímulos químicos e mecânicos são reconhecidos pelo sistema nervoso, a **dor aguda** é gerada, conscientizando o indivíduo de que a situação em questão é nociva, desencadeando ações apropriadas para evitar situações prejudiciais. Entretanto, modificações da via da dor desencadeada por injúrias teciduais e nervosas geram processos de hipersensibilidade, identificada como **dor espontânea** (sem impulso constante, mas o organismo sente dor), **alodinia** (estímulo indolor capaz de produzir dor) e **hiperalgesia** (mediante a estímulos dolorosos, o organismo sente dor de maior intensidade), de maneira que a dor não sirva mais como sinal de alerta e se torne **dor crônica**, tornando os transtornos somáticos persistentes, possibilitando a instituição de alterações psicológicas, como tensão, ansiedade e depressão (GARLAND, 2012).

A **dor inflamatória** participa substancialmente para desencadear dor aguda e crônica, através de desordens na integridade tecidual. Atualmente, entende-se que circunstâncias patológicas, como queimaduras, artrite, doenças autoimunes, lesões, operações, infecções e vasoconstricção, estão visceralmente ligadas à dor inflamatória (HUNG et al., 2012). A inflamação é fundamental para a resposta imune e é iniciada por dano tecidual ou contágio por patógenos. A ação vascular, que estimula a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, é crucial para desencadear processos inflamatórios (SHUI et al., 2017). A inflamação é um elemento do corpo em resposta a impulsos internos e externos. Quando o equilíbrio fisiológico é perturbado, ocorre a expressão de produtos indutores de inflamação como citocinas, quimiocinas e espécies reativas de oxigênio (EROs), que induzem a mobilização e a infusão de leucócitos no local da lesão, instaurando, assim, o processo inflamatório,

aliado ao desenvolvimento de dor (VENDRAMINI-COSTA et al., 2015). Rápida solução de processos inflamatórios tem valor significativo para minimizar dano tecidual relativo à inflamação, evitando que se torne crônica (ANUFORO et al., 2018).

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), que não são seletivos, ligam-se às isoformas da cicloxigenase-1 (COX-1) e com cicloxigenase-2 (COX-2), possibilitando, então, a inibição das prostaglandinas (PGs). Os AINEs mais seletivos são destacados como inibidores da COX-2. Eles são capazes de aliviar a dor, inibindo, exclusivamente, a ação da COX-2, que é marcada por regulações relativas à inflamação. Contraditoriamente à COX-1, que é constitutiva, desempenha, principalmente, papel fisiológico de manutenção da homeostase (OLADOSU; TU; HELLMAN, 2018). Os AINEs tradicionais e os inibidores específicos da cicloxigenase COX-2, como os coxibs, revelam exercer uma função poderosa na analgesia (CATA et al., 2017).

A **dor crônica**, por sua vez, é uma condição crítica que afeta em torno de um terço dos seres humanos na vida adulta no mundo e está correlacionada a diversas patologias, como distúrbios inflamatórios e somatossensoriais. Além disso, está associada a dilemas sociais e econômicos, podendo provocar uma redução drástica da qualidade de vida (LOBO et al, 2016). A **dor neuropática**, um tipo de dor crônica, é provocada por um vasto conjunto de agentes causadores de distúrbios dor. Contudo, todas as situações relativas a essa dor estão descritas na literatura como uma lesão e/ou doença que afetam o sistema nervoso somatossensorial, periféricamente ou centralmente, nas quais a dor é determinada por um sistema de classificação que a caracterizará como de natureza neuropática. Esta classificação é baseada em sinais clínicos e dependerá estritamente de recursos, habilidades e experiências disponíveis para a avaliação do paciente (FINNERUP et al., 2016).

A **dor neuropática** é referida como um sintoma e está relacionada a patogêneses complexas e carência de tratamentos eficientes. Neuralgias relacionadas à traumas (cirurgia, amputação), transtornos metabólico (diabetes, uremia), infecções (herpes zoster, HIV), efeitos colaterais (quimioterapia), doenças vasculares (artrite nodosa) e desnutrição são considerados fatores determinantes para o início da dor neuropática periférica. De maneira equivalente, a lesão da medula

espinhal, a esclerose múltipla e o câncer são os principais originadores da dor neuropática central (YAN et al., 2017).

Entre o rol dos tipos de dor, destaca-se, também, a **dor oncológica**, ostentadora de uma neurobiologia enigmática e multifatorial (GOUVEIA et al., 2018a). Esta dor é caracterizada como uma manifestação multidimensional com paralelos psiquiátricos e cognitivos. O alívio ineficaz desta neuropatia demonstra uma pertinência particular em pacientes idosos com câncer e aponta maiores riscos de fragilidade psicobiológica (CALTAGIRONE; SPOLETINI; SPALLETTA, 2010).

O tratamento medicamentoso desta nocicepção, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), baseia-se no esquema de etapas: analgésicos simples, AINEs, opióides fracos e opióides fortes (BIALAS et al., 2018). Atualmente, os opióides constituem a classe de medicamentos mais utilizados e eficazes para o alívio de dor. Entretanto, o uso recorrente pode levar a um quadro de dependência. Atualmente, o vício em drogas opióides é um problema de saúde e socioeconômico gradativo, que acarreta na eclosão de situações documentadas, sobretudo, pelo aumento de mortes por sobredosagem (FIELDS; MARGOLIS, 2015).

Os receptores de opióides são ligados à proteína G (GPCR) e exercem suas funções através da ativação de proteínas de ligação GTP adenilil ciclase (AC) inibidoras ($G_{i/o}$). Sistemas não opioides, como a dopamina, o ácido gama aminobutírico (GABA), o óxido nítrico (NO), os receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) e os receptores de glutamato, também desempenham um papel importante no desenvolvimento dos efeitos adversos dos opióides (BHALLA; ANDURKAR, 2016)

Os receptores opióides endógenos tornaram-se conhecidos a partir do uso do ópio em condutas clínicas e práticas recreativas. A morfina que é o composto mais ativo do ópio, além de ter ação direta e ser o mais potente no abrandamento da dor, é o produto farmacêutico com maior utilização para debelar a dor na abordagem clínica atual, apesar da vasta quantidade de efeitos adversos. Entre estes efeitos, o abuso e a dependência continuam sendo os principais contratempos para estabelecer terapias para tratamento de dor com base em opióides. A heroína é o derivado da morfina que detém os atributos viciantes ainda mais fortes e, como principal droga

ilícita de abuso, representa um problema de saúde pública em todo o mundo (LUTZ; KIEFFER, 2013)

O fenômeno da tolerância tem início a partir do primeiro dia de tratamento, e desenvolve-se por longos períodos ou após a substituição por outro opióide, porém de maneira incompleta, podendo estar relacionada a uma ação específica de um receptor, exemplo μ_2 para fentanil, μ_1 para morfina e NMDA para metadona (KRAYCHETE; SAKATA, 2012).

Nos Estados Unidos, nas últimas duas décadas, houve um aumento drástico na taxa de prescrição de substâncias opióides. Provocando, com isso, um aumento associado à morbidade e à mortalidade relacionadas aos opióides (AUSTIN; SHANAHAN; ZVARA, 2018). Segundo dados do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), 2017 de 1999 a 2017, mais de 700 mil pessoas morreram de overdose de drogas e cerca de 68% das 70.200 mortes por overdose de drogas em 2017 envolveram um opióide. O Brasil segue em uma tendência similar. Houve um crescimento na venda de opióides no país devido a um aumento de 1.601.043 a 9 045 94 de prescrições no período de 2009 a 2015, correspondendo a uma elevação de 465% de prescrições dentro de um período de 6 anos (KRAWCZYK et al., 2018).

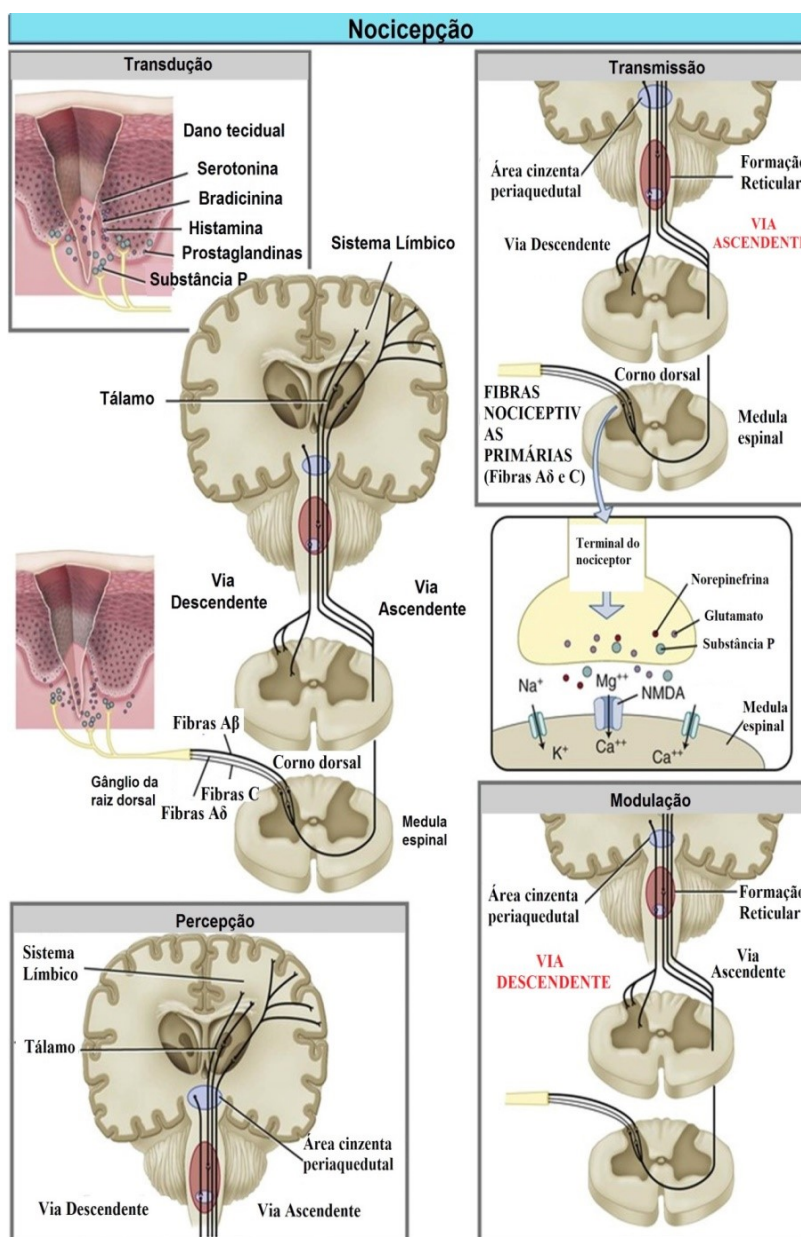
A dor é um problema de saúde pública que apresenta um desafio para a terapêutica. Seu controle é uma prioridade cada vez maior, impulsionando estudos e novas descobertas terapêuticas de abordagens farmacológicas que reduzam os efeitos adversos provenientes de longos tratamentos (PALHARES et al., 2017).

1.2 Neurofisiologia da dor

A sinalização de dor é um processo fisiológico que ocorre por nocicepção, um mecanismo sensorial que possibilita que os animais percebam e previnam estímulos possivelmente prejudiciais aos tecidos (BURRELL, 2017). Este processo somente é concebível devido às ações dos nociceptores, um grupamento especializado de neurônios sensoriais que medeiam a dor e inervam demasiadamente os tecidos periféricos, incluindo a pele, articulações, vias respiratórias e trato gastrointestinal. Vários subtipos de nociceptores existem e podem responder a estímulos mecânicos, químicos e térmicos nocivos (PINHO-RIBEIRO; VERRI; CHIU, 2017).

O corno dorsal da medula espinhal é a localização da primeira sinapse nas vias da dor (HEINRICHER et al., 2009), como mostra a figura 1. Os neurônios sensoriais periféricos que inervam a pele fornecem aos animais detalhes importantes sobre seu ambiente. Para os humanos, a atividade desses neurônios é responsável por nosso senso de toque e evoca uma série de respostas emocionais do prazer à dor (GHITANI et al., 2017).

Figura 1: Vias espinhais e supraespinhais da dor



Ao interagir com o meio ambiente, os organismos vivos precisam reconhecer e reagir a estímulos prejudiciais para evitá-los. Para isso, os nociceptores têm um limiar

alto e, em regra, respondem apenas a estímulos de energia para potencialmente ou realmente danificar o tecido. Alguns nociceptores são finamente mielinizados (fibras A), mas a maioria não é (fibras C). Estes aferentes de condução lenta representam a maior parte dos neurônios sensoriais no sistema nervoso periférico (WOOLF; MA, 2007).

O mecanismo fisiológico da nocicepção é constituído por cinco processos: transdução, transmissão, condução, percepção e modulação. (RISCH; POINTEAU; POQUET, 2017), como mostra a figura 1. A **transdução** é a primeira etapa desse processo e refere-se à conversão de um estímulo nocivo (térmico, mecânico ou químico) em atividade elétrica nos terminais periféricos das fibras sensoriais dos nociceptores, através da ação de mediadores químicos, como bradicinina, histamina, serotonina (5-HT) e prostaglandinas (PG), responsáveis por ativar os nociceptores locais. Essa etapa começa quando os nociceptores são ativados por um estímulo nocivo, que causa a abertura de canais iônicos (sódio, potássio e cálcio) criando impulsos elétricos que viajam através dos axônios para a medula espinhal, tronco cerebral, tálamo e córtex (PINHO-RIBEIRO; VERRI; CHIU, 2017).

Os terminais nervosos expressam diferentes subtipos de nociceptores. Dentre eles, destacam-se os canais de sódio e o receptor potencial transiente do receptor vanilóide 1 (TRPV1). Os canais de sódio são responsáveis pela geração e propagação de potenciais de ação em células excitáveis em resposta à despolarização da membrana. Podem ser citados como exemplos, $Na_v 1.7$, $Na_v 1.8$, e $Na_v 1.9$. Em um esquema simplificado, os canais de sódio têm os seguintes estados distintos: repouso, ativado e inativado, (respectivamente: fechado, aberto e fechado). Eles existem como inativados rapidamente (em milissegundos), inativados lentamente (segundos) e se recuperando da inativação (refratário), o qual é um período em que o canal não está disponível para abrir em resposta a uma despolarização (DIB-HAJJ et al., 2009). Já o TRPV1, também conhecido como receptor da capsaicina, faz parte da família de canais iônicos de liberação transitória (TRP) que ajuda o corpo a sentir calor (IMMKE; GAVVA, 2006). Ele é ativado por intermédio da fosforilação por proteínas quinases, as proteínas quinases II dependentes de cálcio e calmodulina (CaMK II quinase) e a clivagem do fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) pela fosfolipase C (SHARMA; VIJ; SHARMA, 2013).

Condução é o norteamto da mensagem através das vias neuro-anatômicas para o sistema nervoso central, onde a mensagem é processada. A condução dos impulsos dolorosos corre ao longo das fibras A β que são fibras neurônios de ordem primária de condução rápida, baixo limiar mecânico, realiza sinapses com neurônios do corno dorsal da medula e tronco encefálico. Fibras A δ realiza conduções intermediárias, responde a estímulos térmicos (frio e calor) e mecânicos de alta intensidade e fibras C neurônios de segunda ordem do corno dorsal efetua condução lenta para o corno dorsal da medula espinhal, onde formam sinapses com interneurônios excitatórios ou inibitórios I (GHITANI et al., 2017).

Transmissão é a comunicação de informações de um neurônio para outro através de sinapses. Uma vez que o estímulo nocivo tenha sido traduzido na periferia, ele deve ser transmitido através de um potencial de ação (PA) para o sistema nervoso central (SNC). Os canais de sódio e potássio dependentes de voltagem estão envolvidos na geração desse processo (BELL, 2018).

A **transmissão** sináptica excitatória no sistema nervoso central (SNC) é mediada, principalmente, pelo glutamato. Os receptores de glutamato são compostos por duas famílias principais: receptores ionotrópicos e receptores metabotrópicos de glutamato. Os receptores de glutamato ionotrópicos (iGluRs) são formados por canais iônicos, ativados quando o glutamato se liga ao receptor. Os iGluRs são constituídos pelo receptor NMDA (N-metil-D-aspartato), AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico) e cainato (KA) (ZHUO, 2017). Os receptores inotrópicos agem em milissegundos para mediar a maioria das neurotransmissões sinápticas. Por outro lado, os receptores de glutamato metabotrópicos (mGluR¹ e mGluR⁵) respondem de forma muito mais lenta e têm efeitos fisiológicos mais duradouros (SCHEEFHALS; MACGILLAVRY, 2018). Os receptores do grupo I (mGlu1 e mGlu5) são acoplados a proteínas do tipo G α_q e estimulam a fosfolipase C, levando a uma elevação do Ca²⁺ intracelular e à ativação da proteína quinase C (SUH; CHANG; ROCHE, 2018).

Percepção é um fenômeno cerebral multifatorial na origem da experiência dolorosa. Ela refere-se à decodificação/interpretação do impulso aferente no cérebro que dá o início à experiência sensorial específica do indivíduo (MEGAT; PRICE, 2018). O limiar e a tolerância à dor de um paciente são subjetivos e influenciam a

percepção de dor do indivíduo, podendo, portanto, ser influenciada pela genética, gênero, cultura, saúde física/mental e idade (ELLISON, 2017).

Modulação é um mecanismo de regulação de mensagens nociceptivas. É o último processo na nocicepção, consistindo na alteração (aumento ou supressão) do impulso sensorial. Nesta etapa ocorre a liberação de opiáceos endógenos que limitam a liberação de neurotransmissores do neurônio primário e hiperpolarização do neurônio secundário, como mostra a figura 1 (HUDSPITH, 2016).

Os receptores opióides estão no sistema nervoso central (SNC), localizados em regiões responsáveis por regular a resposta relacionada ao emocional, estresse, aprendizagem e memória (TORRES-BERRIO; NAVA-MESA, 2019). O sistema opióide endógeno é constituído pelos peptídeos opioides β -endorfina, encefalinas, endomorfina e dinorfina e receptores de superfície celular que são subdivididos em três tipos: μ (MOR), δ (DOR), κ (KOR) (ZATORSKI et al., 2018). Os opióides endógenos desempenham um papel importante no sistema nervoso central no que diz respeito ao controle do estresse, cognição, humor e percepção da dor (BÖTTCHER et al., 2017).

Os receptores opióides (RO) são receptores acoplados à proteína G (GPCR) G_i / G_o . Com um domínio de sete transmembranas, eles foram inicialmente identificados no cérebro de ratos durante o início da década 90, e descobriu-se que estes subsistemas opióides têm funções específicas com diferentes afinidades para determinados tipos de peptídeos opióides (VAIDYA et al., 2018).

A ativação de receptores opioides promove uma modulação inibitória direta nos neurônios que participam do processo de transmissão da dor na medula espinhal. Após ser ativada por um agonista, como a endorfina, que é um peptídeo endógeno μ -opióide, ou por agonistas exógenos, como morfina e fentanil, as subunidades G_α e $G_{\beta\gamma}$ dissociam-se uma da outra e, posteriormente, a dissociação provoca a inibição da atividade neural (AL-HASANI; BRUCHAS, 2011) por meio do fechamento de canais de cálcio sensíveis à voltagem, seguido da abertura de canais de potássio, subsequente hiperpolarização celular; e inibição da produção de AMP cíclico através da inibição da enzima adenilato ciclase (MCDONALD; LAMBERT, 2016)

As vias nociceptivas estão sujeitas à modulação de uma infinidade de neurotransmissores, incluindo vias colinérgicas, dopaminérgicas, serotoninérgicas e adrenérgicas. A acetilcolina (Ach) também atua como um dos neurotransmissores mais importantes no SNC e periférico. Os neurônios colinérgicos controlam os ramos simpático e parassimpático do sistema nervoso autônomo no nível ganglionar. Os receptores de acetilcolina (AchRs) regulam, excepcionalmente, a transmissão nociceptiva no nível da medula espinhal, através de receptores pré e pós-sinápticos. A elevação dos níveis de Ach na medula espinhal provoca a analgesia, porém diminui localmente os níveis de Ach (mediante a bloqueio dos receptores), aumenta a sensibilidade nociceptiva, induz a hiperalgesia e a alodinia (NASER ; KUNER, 2018).

A dopamina é frequentemente demonstrada na literatura como a substância química do prazer, pois está fortemente relacionada aos sistemas de recompensa do cérebro, intermediando respostas cerebrais a opioides, alimentos, imagens agradáveis ou qualquer sensação prazerosa (CHAKRAVARTHY et al., 2018). Existem pelo menos 5 tipos de receptores: D1, D2, D3, D4 e D5. O passo inicial para a biossíntese da dopamina é a hidroxilação de Tirosina para L-DOPA, por meio da ação da tirosina hidroxilase (TH). Em seguida, através da ação da dopa-descarboxilase, converte-se em dopamina (DA). A dopamina pode sofrer uma hidroxilase através da ação da dopamina β -hidroxilase e transformar-se em noradrenalina (NA), posteriormente convertida em adrenalina (AD) pela feniletanolamina N-metil transferase (VERLINDEN, 2018).

A neurotransmissão central da serotonina no cérebro e na medula também está implicada na modulação dos sinais de transmissão. O receptor 5-HT atua em conjunto com outros mediadores pró-inflamatórios, contribuindo para a dor induzida por lesão e inflamação, o que desencadeia o disparo de fibras aferentes nociceptivas primárias (fibras A δ e C), resultando em um aumento no potencial excitatório e melhora na percepção da dor (FOUQUET et al., 2018).

Evidências sugerem que a ação através da serotonina no SNC pode facilitar ou inibir a transmissão da dor, dependendo do subtipo de receptor ativado e também de alguns fatores ambientais e estados patológicos. Existem pelo menos 15 diferentes tipos e subtipos de receptores 5-HT no SNC. Todos eles, exceto os receptores 5-HT3, são acoplados à proteína G. O receptor 5-HT1A, o mais difundido de todos os

receptores 5-HT, está presente pré-sinápticamente em neurônios serotoninérgicos na região da rafe e no pós-sináptico. A ativação do receptor 5-HT_{1A} pode modular a neurotransmissão da dopamina e inibir os efeitos recompensadores/reforçadores das drogas de abuso (HALEEM, 2018).

Os receptores adrenérgicos parecem desempenhar um papel importante na modulação da dor. Estudos anteriores demonstram que receptores alfa-adrenérgicos estão envolvidos na mediação da analgesia noradrenérgica e sugerem uma modulação da dor independente do opioide.(CARROLL; MACKEY; GAETA, 2007). Do mesmo modo, os receptores β ₂ e β ₃ adrenérgicos são GPCRs implicados na transmissão da dor e podem provocar dor aumentando a excitabilidade dos nociceptores aferentes primários, nos quais também podem influenciar o aumento de dor através da ativação de células imunorreguladoras (ZHANG et al., 2018).

1.3 Dor Oncológica.

O manejo da dor é um dos pilares do cuidado oncológico paliativo, dado o impacto provocado na qualidade de vida. Infelizmente, a dor é um aspecto comum da experiência de muitas pessoas quando enfrentam o câncer. Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS), a dor é sentida por aproximadamente um terço dos que recebem tratamento de câncer ativo e por mais da metade das pessoas com doença mais avançada (algumas estimativas chegam a 90% neste grupo (WEBB; LEBLANC, 2018).

Pesquisas realizadas no campo médico humano indicam uma prevalência de dor de 28% entre pacientes com câncer recém-diagnosticado, acima de 50% em pacientes com doença existente e até 80% em pacientes com tumores avançados e doença paraneoplásica (BLACKBURN et al., 2018).

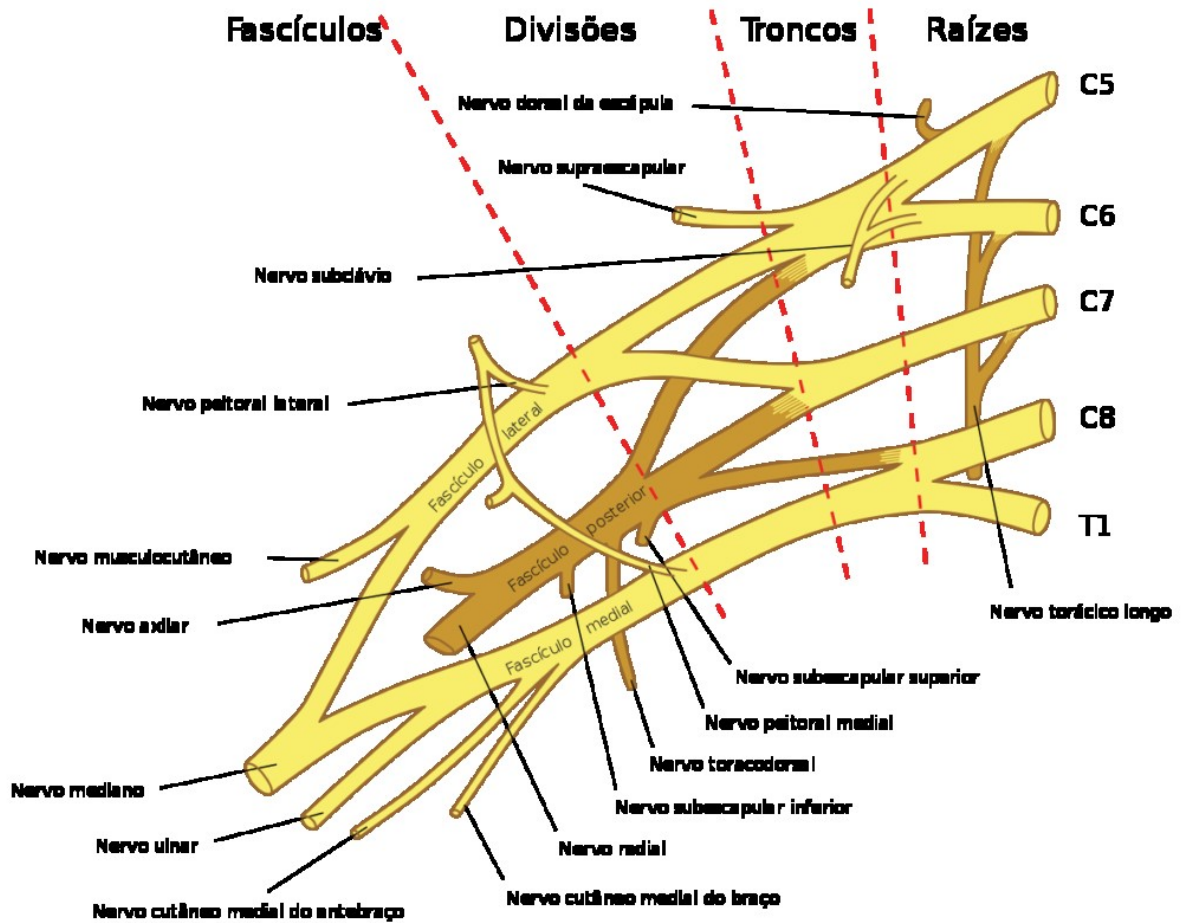
Vários estudos mostram que a dor do tipo oncológica (DTO) não é uma entidade única, e sim heterogênea, devido à variabilidade dos episódios entre os indivíduos. Dois subtipos foram determinados: espontânea e previsível. A primeira é de causa idiopática e sua duração pode ser mais longa. A dor previsível geralmente é um episódio de curta duração, ocorrendo quando há evento identificável, por exemplo, o movimento em pacientes com metástases ósseas ou deglutição em pacientes com mucosite oral (MERCADANTE; CUOMO, 2016).

A dor oncológica é uma combinação de dor nociceptiva e neuropática, e para caracterizá-la é necessário esclarecer sua etiologia e identificar a síndrome, que possibilita a avaliação diagnóstica para etiologias específicas, determinando o prognóstico da dor ou da própria doença e as possíveis intervenções terapêuticas (SELVAGGI; ABRAHM, 2006).

Nesse contexto, dores musculares e dos tecidos moles são comuns em sarcomas de tecidos moles localmente extensos ou metastáticos de tecido muscular, adiposo ou fibroso. A dor muscular também pode ser causada por câibras, por lesão neural, por exemplo, radiculopatia ou plexopatias ou por distúrbios metabólicos (por exemplo, desidratação, hipocalemia ou hipocalcemia) (PORTENOY; AHMED, 2018).

Uma plexopatia é uma manifestação que combina fraqueza, deficiência sensorial e anormalidades reflexas, com ou sem dor, que envolve múltiplas raízes nervosas que inervam o membro afetado (STONE; DEANGELIS, 2016). Os plexos neurais são redes de fibras nervosas entre a medula espinal e as porções mais proximais dos nervos periféricos. O termo plexo significa “entrelaçamento de fios”. Existem três plexos neurais: o cervical, braquial e lombossacral ou pélvico. As plexopatias braquiais são, indiscutivelmente, as lesões mais comuns encontradas no plexo (WILBOURN, 2007).

O plexo braquial é uma das estruturas anatômicas mais complicadas do sistema nervoso periférico (ARNOLD et al., 2012), estendendo-se da axila até a base do pescoço ou da medula espinal. É descrito como tendo cinco componentes: 1º- cinco raízes (C5-T1); 2º- três troncos: superior, médio e inferior; 3º- seis divisões: três anteriores e três posteriores; 4º- três cordões: lateral, posterior e medial; e 5º- cinco nervos terminais, consistindo na mediana, radial, ulnar, axilar e musculocutâneo (SIMMONS, 2013).

Figura 2: Plexo Braquial

Plexopatias neoplásicas são relativamente incomuns e, às vezes, deixam de ser notadas, especialmente em pacientes sem histórico de câncer (ABE et al., 2017). Em geral, é caracterizada por dor proeminente, um sintoma de desenvolvimento mais rápido, que com frequência é acompanhada pela síndrome de Horner, e raramente associada a potenciais de fasciculação. Os tumores no ápice do pulmão comumente invadem a porção inferior do plexo, porém metástases de outros tipos de malignidades ou infiltração direta dos nervos ou bainhas nervosas também podem ocorrer em qualquer nível do plexo (SIMMONS, 2013).

As radiculopatias são doenças das raízes nervosas localizadas no aracnoide e dividem-se em dois tipos: a radiculopatia cervical e lombossacral, com as respectivas síndromes clínicas cervicobraquialgia e lombociatalgia (PARDO-FERNÁNDEZ; GARCÍA-SOBRINO; COSTA-ARPÍN, 2015). A radiculopatia está associada a um processo patológico que atinge a raiz nervosa por um mecanismo compressivo, como

hérnia de disco, ou não-compressivo, de origem infecciosa, vascular, tumoral e desmielinizante (VADUVA et al., 2011).

Um estudo publicado por Holtz et al (2017) demonstrou que dos 423 entrevistados: 56,9% tinham idade entre 40 e 59 anos; 87,5% eram do sexo feminino; 44,7% tinham tratamento exclusivamente privado; 41,5% público e 13,8% custeado por ambos; 48,9% dos entrevistados tinham câncer de mama; enquanto 5,9% tinham câncer colorretal; 5,7% câncer de colo do útero e 39,5% outros tipos de cânceres. Um total de 15,1% dos entrevistados relatou dor leve, 40,2% moderada e 44,7% intensa. A maioria dos pacientes (82,7%) discutiu sua dor com o oncologista. Em 52,6% dos casos, a dor foi responsável por outro problema de saúde, mais comumente a ansiedade. Dos entrevistados, 84,6% estavam em uso de, pelo menos, um medicamento para dor, com 38,3% deles usando mais de um medicamento. Os tratamentos mais comuns foram paracetamol (21,3%), anti-inflamatórios (17,7%), tramadol (13,9%) e outros (40,0%).

Numerosas recomendações terapêuticas para dor neuropática foram propostas na última década, como antidepressivos tricíclicos (ADTs), inibidores da recaptação de serotonina-noradrenalina (ISRNs), pregabalina e da gabapentina, incluindo formulações de liberação prolongada, agentes tópicos para dor neuropática periférica, como lidocaína; opioide fraco, como tramadol; opióides fortes, em particular de oxicodona e a morfina, e a toxina botulínica tipo A (BTX-A), uma potente neurotoxina comumente usada no tratamento da hiperatividade muscular focal. O tratamento para dor depende de sua etiologia e, embora exista uma extensa variedade de tratamentos, eles apresentam variados efeitos adversos, o que torna incessante a busca de novos fármacos (ATTAL, 2018).

Por causa da complexidade da etiologia da dor do câncer, diversos agentes farmacêuticos são usados como parte do regime de tratamento. Não opioides, como paracetamol e anti-inflamatórios (AINEs), podem ser usados para dor leve à moderada, e opióides são frequentemente usados para tratar dores moderadas à severas. Vários antidepressivos, anticonvulsivantes, adesivos de lidocaína e outros medicamentos podem ser usados para tratar a dor neuropática. Os pacientes podem ter uma combinação dos medicamentos acima mencionados como parte de seu plano de tratamento desse tipo de dor (MERCADANTE; BRUERA, 2016).

1.4 Óleos essenciais e o α -Felandreno

Algumas plantas são capazes de produzir aromas que possuem funções importantes para sua sobrevivência. Dentre elas, podem ser destacadas a reprodução (por atrair insetos polinizadores), sinalização e defesa contra agentes patológicos (fungos, bactérias, fungos, animais herbívoros) (ERB, 2018). Nesse contexto, as plantas aromáticas geralmente possuem atividades medicinais, sendo utilizadas por grande parte da população mundial para combater os mais diversos tipos de enfermidades (SWAMY; AKHTAR; SINNIHAH, 2016).

As substâncias químicas responsáveis pelo odor característico das plantas aromáticas medicinais são os óleos essenciais (OE) (HASSIOTIS, 2018). Economicamente, o mercado de OE rendeu cerca de US \$ 4,46 bilhões em 2016, segundo o Observatório da Complexidade Econômica (SIMOES, 2018). Os OEs são de grande valia para as indústrias, como a farmacêutica, alimentícia e cosmética por suas características marcantes (fragrância, antioxidante e antimicrobiana, dentre outras) (VALDERRAMA; RUIZ, 2018).

Os OEs possuem como característica marcante a sua volatilidade, sendo encontrados em diversas partes das plantas, como por exemplo: sementes, flores, folhas, brotos, galhos, ervas, casca, frutos e raízes (OMONIJO et al., 2018). Dentre outras técnicas, o método de hidrodestilação é o mais utilizado para obtenção dos OEs, devido ao seu rendimento relativamente bom. Além disso, pode-se ressaltar que a sua caracterização é realizada em sistemas de cromatografia gasosa e espectrometria de massas (HASHEMI et al., 2017).

Os OEs geralmente são armazenados em locais com função excretora, como cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (STRINGARO et al., 2018). Em relação à composição química dos OEs, uma gama de fatores está relacionada com a quantidade dos constituintes, como a localização geográfica da planta, a época da coleta do material vegetal, a composição do solo, o método de extração, dentre outros fatores (GARZOLI et al., 2015).

Os OEs são compostos por duas principais classes, os fenilpropanóides e os terpenos (OMONIJO et al., 2017). Os fenilpropanóides formam uma classe de compostos com uma estrutura central de um grupo fenil ligado a uma cadeia de três

carbonos (VANHOLME; EL HOUARI; BOERJAN, 2019). É um grupo de grande importância farmacológica, com uma vasta variedade de estudos promissores e de grande importância biológica, como terapia para doença de Alzheimer (KOLAJ; IMINDU LIYANAGE; WEAVER, 2018), atividade anti-neuroinflamatória e antioxidante (ZHANG et al., 2019). Os terpenos são isoprenos com cinco carbonos (C5) e, de acordo com o número de unidades, são agrupados como hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterpenos (C25), triperenos (C30), dentre outros (KIYAMA, 2017).

Entre os representantes desse grupo, podem-se destacar os monoterpenos pelas atividades biológicas descritas na literatura. Por exemplo, citronelol é um monoterpeno encontrado em plantas do gênero *Cymbopogon* com atividades antinociceptivas, anticonvulsantes, anti-hiperalgésicas (SANTOS et al., 2019). O geraniol e o citrol (extraídos do capim-limão, rosas) possuem atividades antitumorais, antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (QUINTANS et al., 2019).

Nesse contexto, o α -Felandreno (5-isopropil-2-metil-1,3-ciclo-hexadieno), como mostram as figuras 3 e 4, é um monoterpeno cíclico encontrado em diversas plantas, como *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Solanum erianthum* D. Don, *Thymus kotschyanus* Boiss and Hohen, *Cupressus atlantica* Gaussen (SIQUEIRA et al., 2016), *Rosmarinus officinalis* L. (MARTÍNEZ et al., 2009), *Callistemon citrinus* (KUMAR et al., 2015) *Curcuma longa* L. (SINDHU et al., 2011) e *Unxia camphorata* L. f. (NASCIMENTO et al., 2014).

Na literatura, encontra-se uma série de atividades biológicas do α -Felandreno, como a ação anti-inflamatória através da inibição da migração de neutrófilos e a degranulação de mastócitos (SIQUEIRA et al., 2016). Esse composto pode aumentar efetivamente a resposta imune celular e humoral em animais (WU et al., 2019), a atividade antimicrobiana (AL-BURTAMANI et al., 2005), a antitumoral (HSIEH et al., 2015), a anti-inflamatório (SIQUEIRA et al., 2016) e antinociceptiva (LIMA et al., 2012). Essas características tornaram o α -Felandreno um excelente candidato para o desenvolvimento do estudo proposto.

Figura 3: Estrutura química do 2-metil-5-propan-2-ilciclohexa-1,3-dieno em 2D

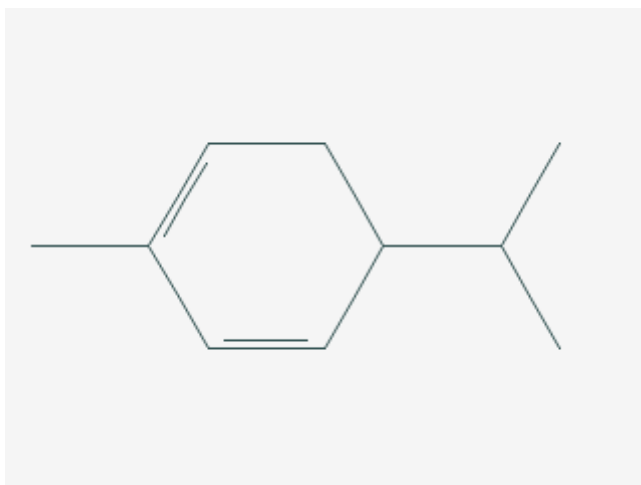
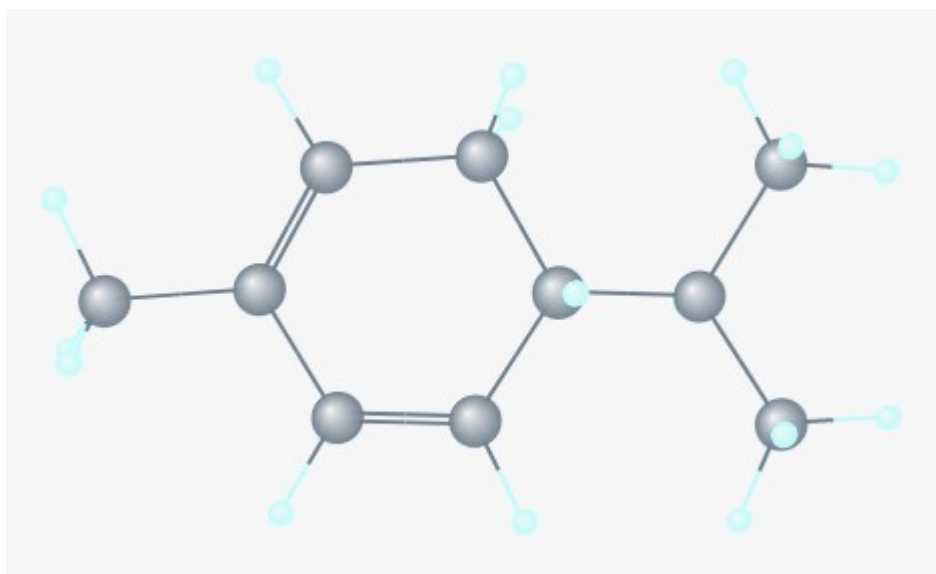


Figura 4: Estrutura química do 2-metil-5-propan-2-ilciclohexa-1,3-dieno em 3D.



OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o possível efeito antinociceptivo do α -Felandreno em modelo animal de dor oncológica.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar o efeito antialodínico do α -Fel no modelo de indução de hipernocicepção oncológica;
- Determinar a atividade antineoplásica do α -Fel em camundongos transplantados com de sarcoma-180;
- Verificar alterações no peso corporal e na massa relativa de alguns órgãos (fígado, baço, rins, cérebro, pulmão e coração) como indicadores de toxicidade, após administração subaguda do α -Fel;
- Avaliar a atividade antioxidante, através dos testes de superóxido dismutase (SOD), malondealdeido (MDA) e glutathiona redutase (GSH) em animais com sarcoma-180 tratados com α -Fel;
- Verificar possíveis mecanismos de ação através de ensaio imunoenzimático (ELISA) para mensuração dos níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-4 e IL-6;
- Analisar os possíveis mecanismos de ação antinociceptiva do α -Fel em simulação computacional por docagem molecular;
- Avaliar os possíveis mecanismos de ação antinociceptivo do α -Fel em modelo modificado de dor oncológica, por meio do bloqueio de receptores opióides e GABA;

MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Drogas, reagentes e equipamentos

Substâncias: Formaldeído (Dinâmica, Brasil), α -Felandreno (Sigma, Aldrich), Kits para determinação de IL-1 β , TNF- α , IL-4 e IL-6 (R&D Systems, Inc, USA), Sulfato de morfina (Dimorf®) (Cristália, Brasil), Tiopental sódico (Cristália, Brasil), Tween 80 (Sigma, USA), Bicuculina (Sigma, Aldrich), Xilazina (Ceva, Brasil), Cetamina (Ceva, Brasil), Pregabalina (Lyrica®), 5-Fluoruracil (Flusan®) Cloridrato de Naloxona (Cristália, Brasil).

Equipamentos: Balança digital (Plenna, USA), Balança analítica (Modelo-AR2140) (OHAUS, USA), Câmera digital SL605 12,1 MP 5 x (Samsung, Brasil), Von Frey manual (AVS projetos).

3.2 Animais

Camundongos Swiss fêmeas, pesando de 20 a 35g, foram obtidas no Biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais – NPPM/UFPI. Os animais foram mantidos a uma temperatura de 22 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 horas e água e comida *ad libitum*. Eles foram submetidos ao jejum de 12 horas antes da execução dos protocolos experimentais e ficaram no laboratório por um período de 1 hora antes dos experimentos para a adaptação ao ambiente.

Os procedimentos referentes à eutanásia foram realizados por overdose de anestésico geral (tiopental sódico, 100 mg/kg, por via intraperitoneal) em conformidade com o Art. 14, § 1º da Resolução Nº 1000, de 11 de maio de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária, atualizada pela RN 37 de 22/02/2018 do CONCEA. Todos os procedimentos relacionados ao uso de animais como modelo experimental foram realizados segundo as normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA. Os experimentos realizados foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEA/UFPI Nº 148/16).

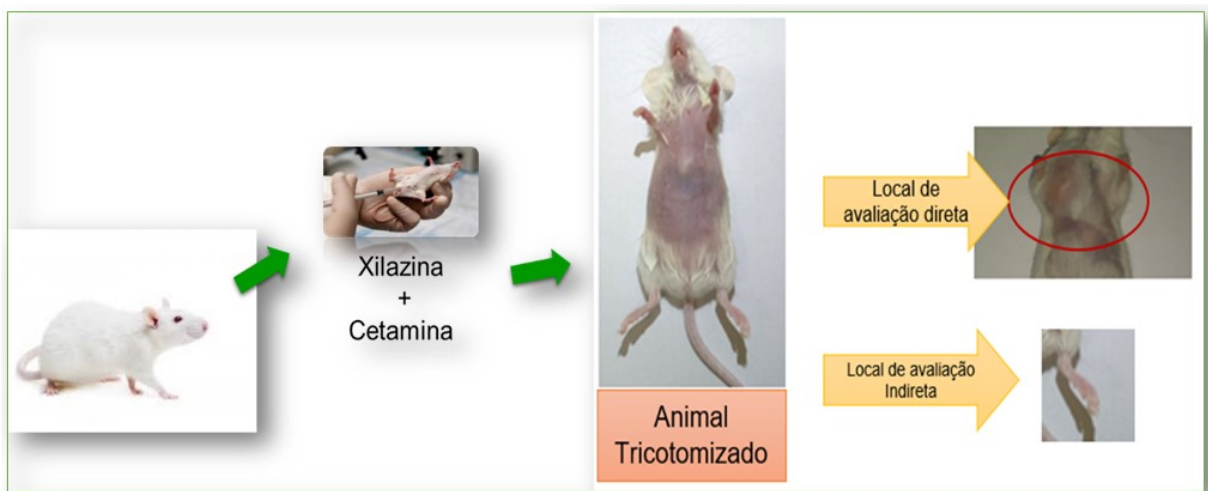
3.3 Obtenção, preparo e administração do α -Fel,

O α -Fel, fórmula (C₁₀H₁₆), peso molecular (136.23 g/mol), foi obtido comercialmente através da empresa Sigma Aldrich®. Durante as fases do experimento, foi fracionado em alíquotas e preparado com NaCl 0,9% e Tween 80 a 2% diariamente antes da administração por via oral nos animais.

3.4 Preparação dos animais.

Inicialmente realizou-se uma tricotomia total da região toracoabdominal, como mostra a figura 5, dos camundongos sob anestesia com cloridrato de xilazina (15 mg/kg, im.) e cloridrato de cetamina (80 mg/kg, im.), um dia antes das avaliações basais e inoculação das células tumorais.

Figura 5: Animal Tricotomizado



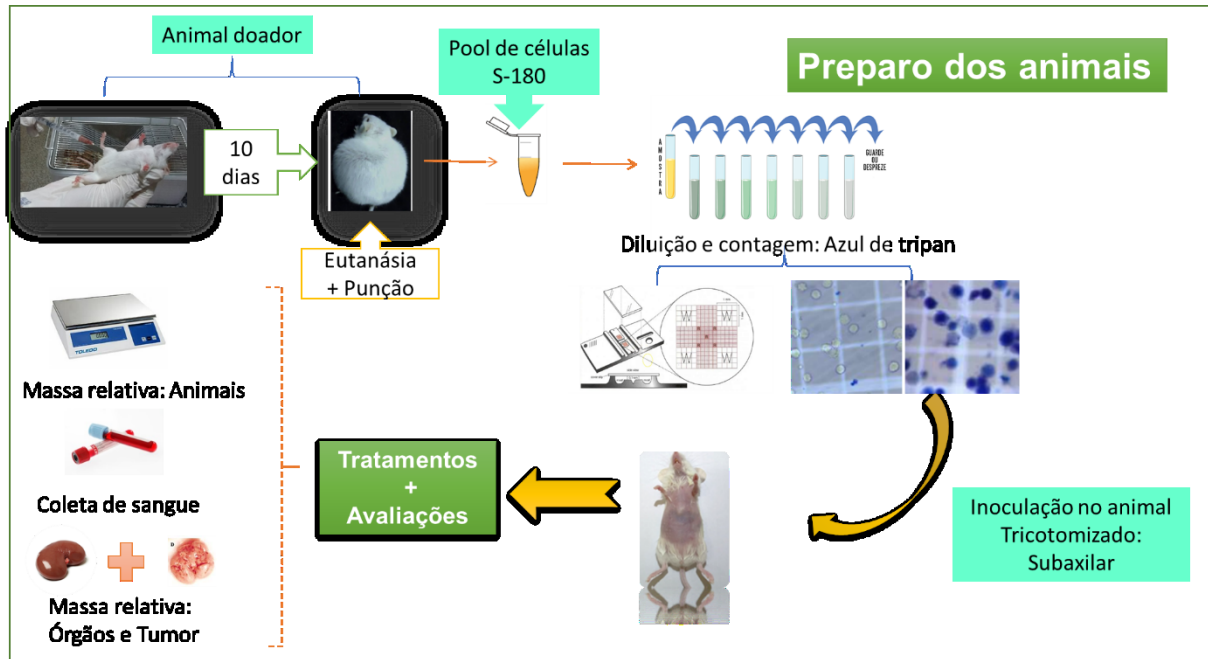
Fonte: Laboratório de Farmacologia da Dor (LAFDOR), Universidade Federal do Piauí (UFPI)

3.5. Implantação do tumor de células de Sarcoma-180.

O tumor Sarcoma-180 (S-180) foi utilizado com 10 dias de implantação na cavidade peritoneal do animal. Em seguida, foi retirado o líquido ascítico da cavidade abdominal e preparado uma suspensão de células. O animal doador do tumor S-180

foi sacrificado por deslocamento cervical. Em seguida, o líquido ascítico da cavidade abdominal foi retirado e injetado 0,5ml nos animais receptores, em uma concentração de 4×10^6 células/mL, na região axilar esquerda dos camundongos figura 6 (MAGALHÃES et al., 2010).

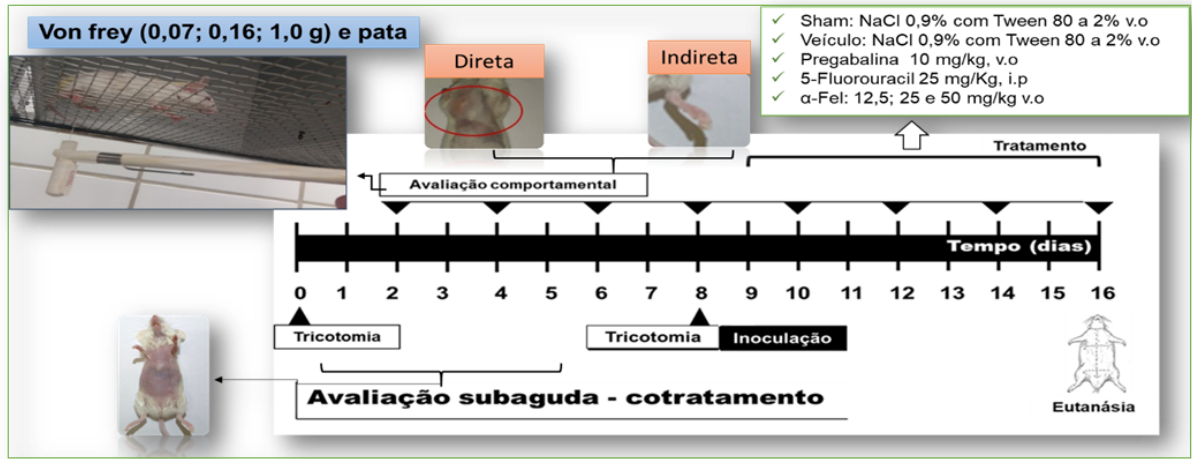
Figura 6: Implantação do tumor de células de Sarcoma-180



3.6 Tratamento

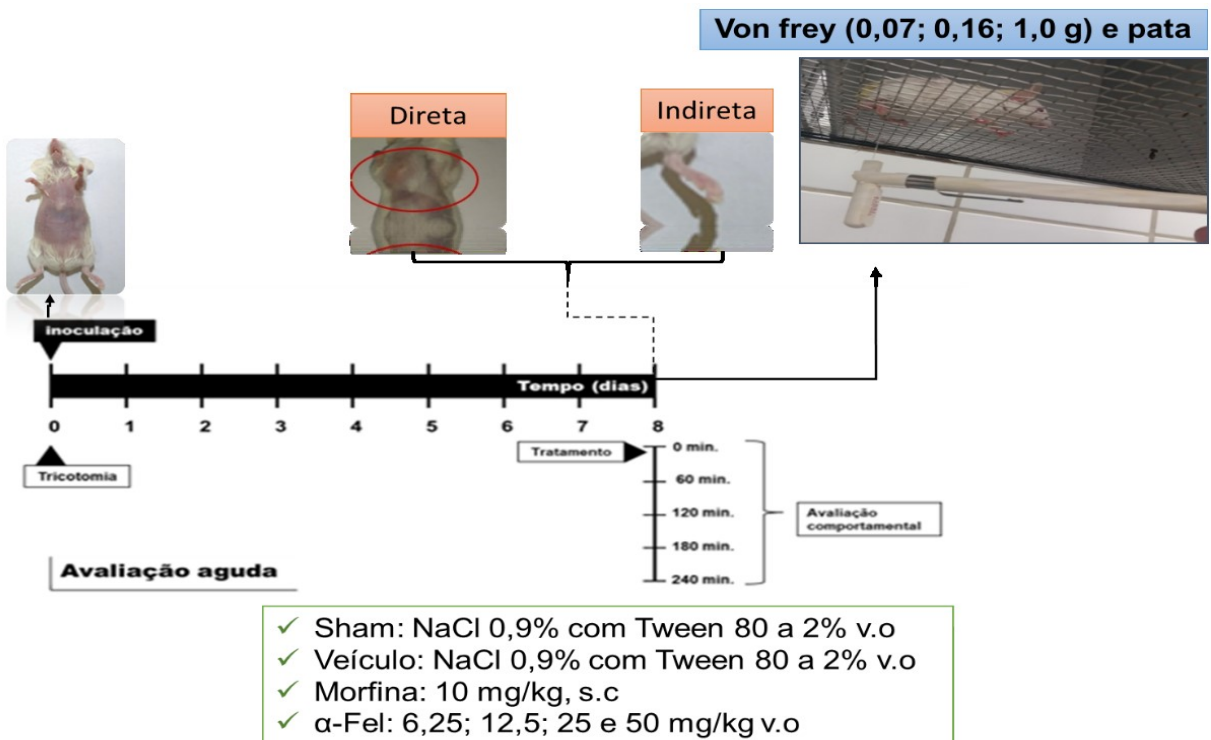
O tratamento para avaliação do cotratamento foi idealizado para mimetizar o quadro de pacientes que estão em fase inicial do câncer é um modelo de tratamento já padronizado pra estudos de atividade antitumoral. Foi realizado por 8 dias, no qual o 1º dia é considerado o dia seguinte ao inóculo das células de S-180 (9º dia) como mostra a figura 7. Os animais foram distribuídos em 7 grupos: sham (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o sem inoculação de células S-180), veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), controle positivo para avaliação da nocicepção (Pregabalina 10 mg/kg, v.o), controle positivo para avaliação de atividade antitumoral (5-Fluoracil - 5-FU, 25 mg/Kg, i.p) e 3 doses de α -Fel (12,5; 25 e 50 mg/kg).

Figura 7: Esquema do protocolo de avaliação da atividade antialodínica do Cotratamento com α -Fel



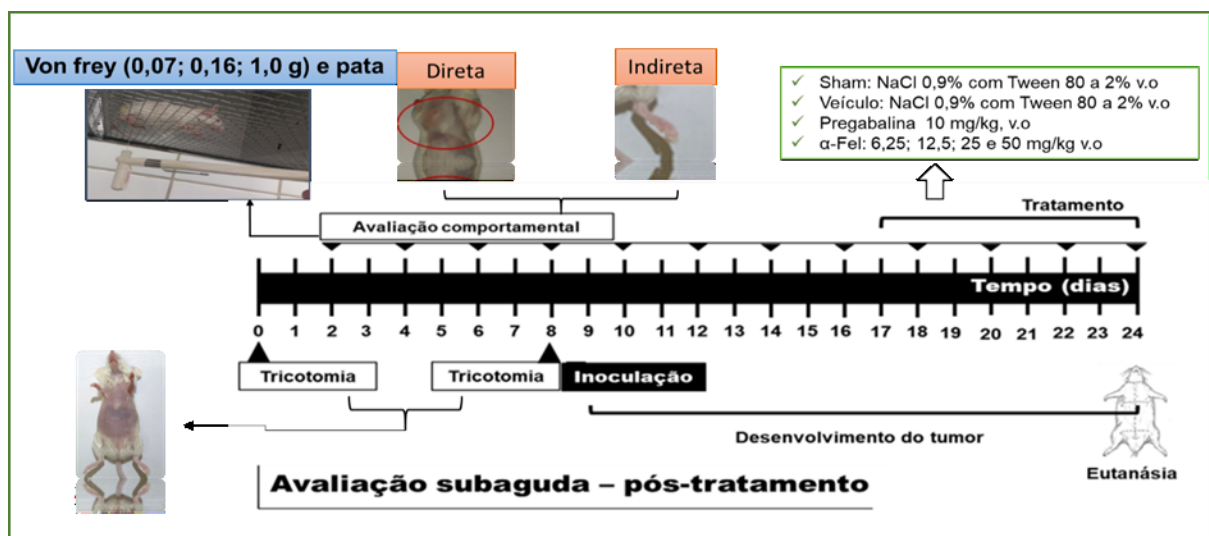
O tratamento para avaliação aguda da atividade antialodínica foi realizado no 8º dia pós inoculação, quando as avaliações comportamentais, foram feitas nos tempos de 0, 60, 120, 180 e 240 min., como mostra a Figura. 8, distribuídos em 7 grupos: sham (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o sem inoculação de células S-180), veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), controle positivo para avaliação da nocicepção (Pregabalina 10 mg/kg, s.c), e 4 doses de α -Fel (6,25; 12,5; 25 e 50 mg/kg v.o).

Figura 8: Esquema representativo de avaliação aguda com α -Fel



A avaliação do pós-tratamento subagudo foi idealizada para mimetizar a dor em paciente com estágio avançado com câncer. Teve início no 16º dia pós inoculação e estendeu-se até o 24º dia, como mostra a figura 9. Para essa avaliação, os animais foram distribuídos em sete grupos: sham (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o sem inoculação de células S-180), veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), controle positivo (Pregabalina 10 mg/kg, v.o), e 4 doses de α -Fel (6,25; 12,5; 25 e 50 mg/kg v.o).

Figura 9: Esquema representativo de avaliação do pós-tratamento subagudo com α -Fel com tumor de S-180 instalado




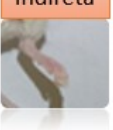
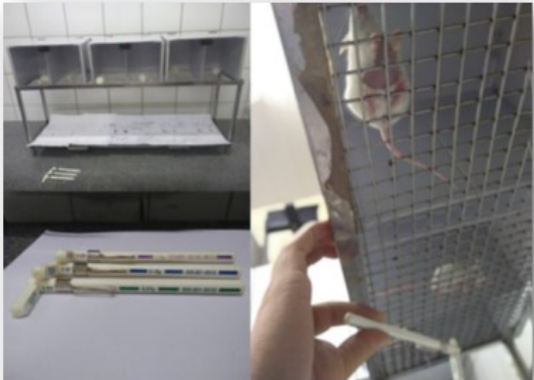

3.7 Avaliação da alodinia oncológica.

Os animais dos diferentes protocolos de tratamento foram submetidos à avaliação nociceptiva mecânica pelos filamentos de von Frey (CHAPLAN et al., 1994), no qual a mensuração da alodinia mecânica foi separada em duas etapas, uma etapa visando uma avaliação direta onde filamento toca a região peritumoral no sítio de inoculação das células tumorais (região subaxilar) de S-180 e uma avaliação indireta na pata traseira direita dos animais.

Inicialmente, os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno sob uma plataforma fenestrada de arame elevada para permitir o acesso à região tóraxica e plantar das patas traseiras como mostra a Figura.10. A avaliação direta foi realizada através da aplicação dos filamentos de diferentes forças (0,07; 0,16 e 1 g) na área onde ocorreu a inoculação das células tumorais. O filamento toca nesta área por 10 vezes, cada toque com intervalo de 1-2 segundos em pontos diferentes da região

estabelecida. A resposta foi considerada positiva quando os animais levantaram, retraíram ou lambeiram o local (resposta de retirada). Assim, foi mensurado o número de respostas de retirada por filamento ou o “escore de sensibilidade mecânica” (CATTARUZZA et al., 2013). A segunda etapa consistiu na avaliação de dor periférica, no qual a resposta de alodinia mecânica foi avaliada na pata traseira direita dos animais de acordo com a metodologia de Chaplan et al., (1994). O seguinte protocolo foi desenvolvido e padronizado para determinar um modelo experimental de hipernocicepção oncológica, possibilitando avaliar a capacidade do objeto de estudo. As avaliações comportamentais foram realizadas no cotratamento e tratamento agudo e pós-tratamento subagudo todos em dias intercalados.

Figura 10: Avaliação da alodinia por Von Frey

<p>Score de sensibilidade mecânica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Direta : Tecido peritumoral • Von Frey: (CATTARUZZA et al., 2013). <ul style="list-style-type: none"> • 0,07: Baixa • 0,16: Média • 1,0: Alta 	<p>Direta</p> 	<p>Limiar de sensibilidade mecânica</p> <ul style="list-style-type: none"> • Indireta: Pata traseira direita • Von Frey: (CHAPLAN et al., 1994), “up-down”, 	<p>Indireta</p> 
<p>Intensidade do Estímulo</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toca 10x • Intervalos 2 s 			
			

Fonte: Laboratório de Farmacologia da Dor (LAFDOR), Universidade Federal do Piauí (UFPI)

3.8 Avaliação da atividade antitumoral em camundongos com S-180

No 8º dia, de tratamento (16º dia de experimento) os animais foram eutanasiados, posteriormente os órgãos (rins, baço, fígado, estômago, cérebro, pulmão) e tumores dissecados para avaliação da massa relativa e da atividade antitumoral figura 6. O percentual de inibição do crescimento tumoral (IT) foi calculado utilizando a fórmula:

$$IT (\%) = [(A-B) / A] \times 100$$

No qual: A = média pesos tumores grupo controle; B = média pesos tumores animais tratados.

3.9 Avaliação antioxidante

A avaliação antioxidante foi realizada no protocolo do pós-tratamento subagudo com todos os grupos. Os seguintes testes antioxidantes, SOD, GSH e MDA através do produto secundário da peroxidação lipídica ácido tiobarbitúrico e TBARS, foram dosados através do soro dos animais de acordo com a metodologia descrita por Das, Samanta e Chainy, (2000), Ellman (1959) e Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979) respectivamente.

3.9.1 Superóxido dismutase (SOD)

Para determinação da atividade da enzima superóxido dismutase foi utilizado o método descrito por Das, Samanta e Chayne (2000) no qual 30 μ L da amostra de soro foi adicionada a 220 μ L de tampão fosfato (50 mM, pH 7,4), 15 μ L de L-metionina (20 mM), 8 μ L de Triton X-100 (1% v/v), 15 μ L de cloreto de hidroxilamina (10 mM) e 20 μ L de EDTA (50 μ M) seguido de incubação em banho-maria a 37°C por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 16 μ L de riboflavina (50 μ M) e as amostras foram expostas a luz durante 10 minutos. Ao fim, foi adicionado aos poços 200 μ L do reagente de Griess e após 10 minutos em temperatura ambiente a densidade óptica (absorbância) foi medida por espectrofotometria em leitor de placas (BioTek EL800), utilizando um filtro de 543 nm).

A curva de calibração foi feita tendo por padrão o NaNO₂ (nitrito de sódio) nas concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,5625, 0,78125 e 0 μ Mol diluídos em água destilada. Uma unidade da atividade da enzima é definida como a quantidade de SOD capaz de inibir em 50 % a formação de nitrito. Os valores foram expressos em % de inibição de nitrito.

3.9.2 Glutathiona reduzida (GSH)

A GSH foi determinada como descrito por Ellman (1959). A glutathiona reduzida foi quantificada no soro sanguíneo. Foram adicionados a uma alíquota de 70 μ L do

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

soro, 1,12 mL de MeOH, 210 μ L de Tampão Tris (0,4 M, pH 8,9) e então as amostras foram centrifugadas em 3000g/15 min a 4°C. O ensaio foi realizado na presença de DTNB 0,1M e a intensidade da cor foi medida a 412 nm e os valores expressos em mmol/L.

3.9.3 Malondialdeído (MDA)

Foram necessários 50 μ L de soro sanguíneo, adicionados a 88 μ L de ácido acético a 20% (pH 3,5) e 150 μ L de TBA 0,5% (dissolvido em ácido acético). Em seguida as amostras foram submetidas à fervura durante 45 minutos e imediatamente sucedida por banho de gelo durante 15 minutos. 50 μ L de dodecil sulfato de sódio 8,1% (SDS) foram adicionados e procedeu-se com centrifugação a 12000 g durante 15 minutos a 25°C. A densidade óptica (absorbância) foi medida duplicata em espectrofotômetro UV-Vis, utilizando filtro de 532 nm. O valor foi expresso em nmol/mL (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

3.10 Ensaio Imunoenzimático IL-1 β , IL-6, IL-4 e TNF- α

O ensaio imunoenzimático foi realizado a temperatura ambiente 25 ± 5 °C usando 100 μ L de cada componente da reação. A IL-1 β , IL-6, IL-4 e TNF- α foram avaliadas por meio de kit padrão (R&D Systems, Inc) conforme diretrizes do produto. Os anticorpos, os demais substratos e as amostras foram diluídos em BSA (Albumina Sérica Bovina Isolada 1 % em PBS pH 7,4), e homogeneizadas. As placas foram lavadas três vezes com solução de lavagem PBS pH 7,4 + 0,05 % de Tween 20) entre as etapas.

Para realização do ELISA, revestiu-se cada poço da placa com a concentração ótima do anticorpo de captura pela incubação em overnight (temperatura ambiente 25 ± 5 °C). Após bloqueio com BSA por 1 hora, seguido de lavagem, as amostras e padrões foram distribuídas (padrões em duplicata) e incubados por 2 horas. Após lavagem, adicionou-se o anticorpo biotilado de detecção e incubou-se por 2 horas. Decorrido o tempo de incubação e sucedido de lavagem, a estreptoavidina foi incubada durante 20 minutos (sucedido de lavagem) e então a reação foi revelada pela incubação por 20 minutos a temperatura ambiente (e ao abrigo da luz), com o substrato cromógeno TMB (Tetrametilbenzidina + peróxido de hidrogênio), seguida de

adição de inibidor da reação (H_2SO_4 1M 50 μL). A leitura foi realizada no comprimento de onda de 450 nm em espectrofotômetro de microplacas e os dados foram calculados a partir da curva dos padrões em concentração seriada, onde os resultados foram expressos em pg/mL.

3.13 Investigação dos possíveis mecanismos de ação antinociceptiva do α -Fel em modelo de dor oncológica.

3.13.1 Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do α -Fel em modelo de dor oncológica.

Com a finalidade de avaliar a influência do sistema opióide sobre o efeito antinociceptivo do α -Fel, grupos distintos de animais foram pré-tratados com o antagonista opióide não seletivo naloxona (2 mg/kg, i.p.), 20 minutos antes da administração de α -Fel (25 mg/kg, v.o.) ou morfina (5 mg/kg, s.c.), a qual foi utilizada como controle positivo (MILLAN; COLPAERT, 1991). Decorrida 1 h após a administração do α -Fel ou 30 minutos após a administração de morfina avaliou-se os animais através de filamento de Von Frey no local da inoculação do tumor e na pata traseira direita.

3.13.2. Participação do sistema GABAérgico no efeito antinociceptivo do α -Fel em modelo de dor oncológica.

A possível participação do sistema GABAérgico no processo antinociceptivo do α -Fel foi investigado. Para o efeito, os animais foram pré-tratados com bicuculina (1,0 mg / kg, i.p.), um antagonista de GABA_A . Após 15 minutos da administração da bicuculina, os animais receberam α -Fel (25 mg/kg, v.o) e o veículo. Depois de 60 minutos da administração os animais foram avaliados usando a técnica de filamento de Von Frey no local da inoculação do tumor e na pata traseira direita. (MENDES et al., 2000).

3.14. Docagem molecular

Esse delineamento foi realizado depois dos resultados antinociceptivos do α -Felandreno, frente a dor oncológica em modelos animais, para buscar investigar os mecanismos de ação por sistema computadorizado. Desse modo, a molécula de α -Felandreno foi desenhada e otimizada quanto a sua estrutura tridimensional para sua conformação de menor energia segundo parâmetros da mecânica clássica modificada

(alongamento da ligação, inclinação do ângulo, rotação interna e interações de Van der Waal) através do software ACD/ChemSketch versão 14.0, em seguida a molécula desenhada foi salva em formato (.mol). Então foram obtidos arquivos dos receptores opióides μ , κ e δ cristalizados a partir do Protein Data Bank. Através do software BIOVIA Discovery Studio. Em seguida foram removidas as moléculas de água e cofatores presentes no complexo e os alvos foram salvos em formato (.pdb), o arquivo (.mol) da molécula α -Felandreno foi também aberto no Discovery Studio para que pudesse ser convertida em formato (.pdb).

Utilizando-se o software AutoDockTools foram detectadas as ligações rotativas, do ligante e dos alvos, e definidas como rígidas, também foram adicionadas cargas de Gasteiger e hidrogênios polares. Em seguida os alvos e o ligante foram salvos em formato (pdbqt). Na sequência, foram definidos o volume e a localização do grid de ancoragem para cada um dos alvos moleculares e as coordenadas no plano cartesiano foram utilizadas para preparar o arquivo de configuração do AutoDock Vina. Por fim, foi realizada a ancoragem de α -felandreno em cada um dos sítios propostos através do software AutoDock Vina para que se possa avaliar o tipo de interações possíveis entre α -felandreno e os receptores opióides, bem como a afinidade dessas interações afim de propor mecanismos de sua possível atividade antinociceptiva.

3.15 Análise estatística

Os resultados foram expressos com a média \pm EPM (erro padrão da média). A análise da variância (ANOVA) de uma e duas vias seguida do teste de Tukey e para tantos em Teste de Dunnet, foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism versão 6.0.

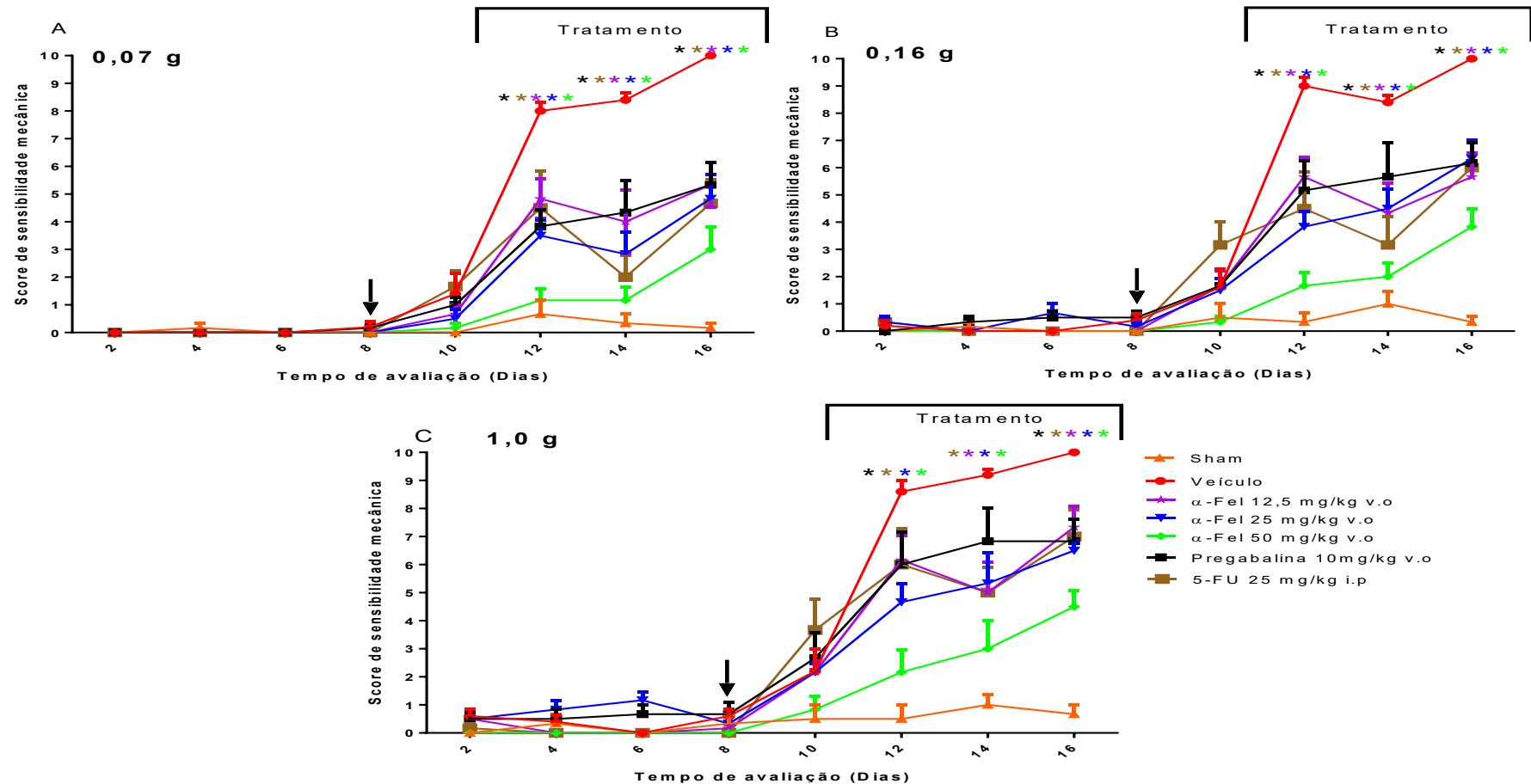
RESULTADOS

4 RESULTADO

4.1 - Avaliação Antinociceptiva

O painel da figura 11 mostra o efeito do α -Fel sobre a nocicepção oncológica provocada por sarcoma 180 implantado na região axilar dos camundongos. Foram demonstrados os padrões de respostas dos animais, no qual o tratamento inicia-se 24 horas após a inoculação na região subaxilar das células de S-180. No 2º dia foram iniciadas as avaliações basais que se estenderam até o 8º como a última avaliação pré-inoculação (Veículo $0,200 \pm 0,200$). A inoculação da células de S-180 foi realizada no 8º dia, e a partir do 12º dia observou-se resultado significativo ($p < 0,05$) em comparação com veículo em todas as doses de α -Fel (12,5; 25; 50 mg/Kg v.o) e os controles positivo pregabalina (10 mg/Kg, v.o) e 5- Fluoracil (25 mg/Kg, i.p) que prolongou-se até o ultimo dia de avaliação(16º).

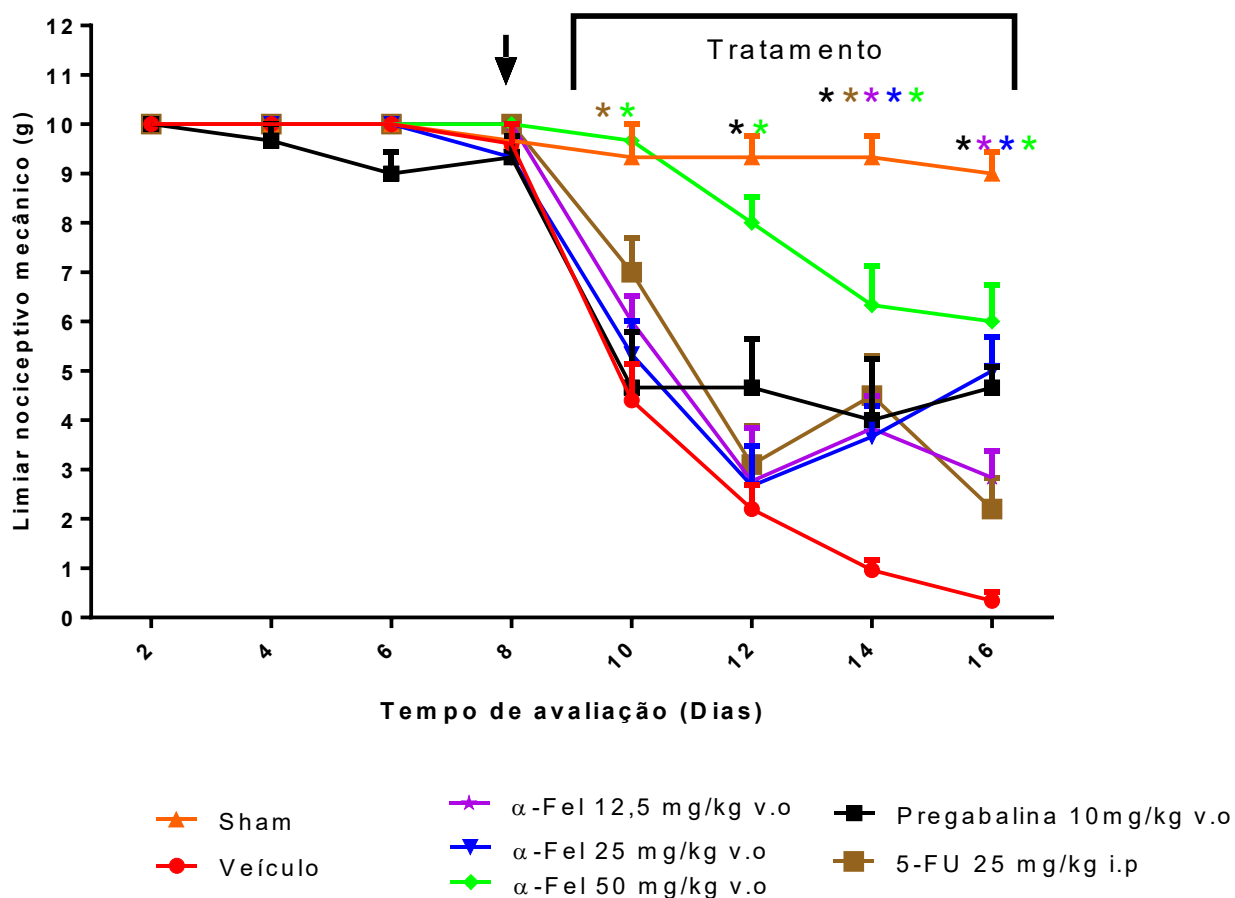
O método aplicado possibilitou demonstrar que a indução da hipernocicepção foi aplicado com eficiência, através da comparação das médias no 12º dia de avaliação entre os grupos sham = $0,667 \pm 0,494$ e veículo = $8,00 \pm 0,316$, considerados significativos ($p < 0,05$). Este padrão de resposta é demonstrado em todos os painéis da Figura 10 (A, B e C) caracterizando uma possível ação antinociceptiva através da diminuição significativa ($p < 0,5$) no escore de sensibilidade mecânica.

Figura 11: Avaliação da nocicepção direta no tecido peritumoral de camundongos com tumor de S-180 no cotratamento com α -Fel.

Legenda: Cada ponto representa a média \pm erro padrão da média (E.P.M) do escore de sensibilidade mecânica de camundongo (20-35 g) submetidos ao teste com filamentos de Von Frey A (0,07g), B (0,16 g), C (1,0 g) tratados com α -Fel (12,5; 25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), pregabalina (10 mg/Kg, v.o) ou 5- Fluoracil (25 mg/Kg, i.p) (*p<0,05 comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey)

Os dados apresentados na figura 12 representam o efeito do α -Fel sobre a alodinia oncológica periférica provocada por S-180 implantado na região subaxilar dos camundongos. Os animais apresentaram uma sensibilização periférica através da avaliação do limiar de retirada da pata a partir do 10º dia (veículo= $4,40 \pm 0,75$) e quando comparado ao veículo no 10º dia apenas o α -Fel na dose de 50 mg/kg v.o ($9,67 \pm 0,33$) e o antineoplásico de referência 5-FU 25mg/kg i.p ($7,0 \pm 0,68$) apresentaram um aumento do limiar de retirada de pata. A partir do 12º o controle positivo pregabalina 10 mg/kg v.o ($4,67 \pm 0,99$) demonstra também essa capacidade, no 14º dia o α -Fel na dose de 12,5 mg/kg v.o ($3,83 \pm 0,65$) e 25 mg/kg v.o ($3,67 \pm 0,61$) manifestou esta capacidade de aumentar o limiar de retirada estendendo-se até o último dia de avaliação.

No grupo falso inoculados (sham) é possível observar que os animais não apresentaram alodinia provocados pelas células de S-180, diferente do grupo veículo, no qual pôde-se constatar um aumento gradativo da nocicepção como o passar dos dias de avaliação.

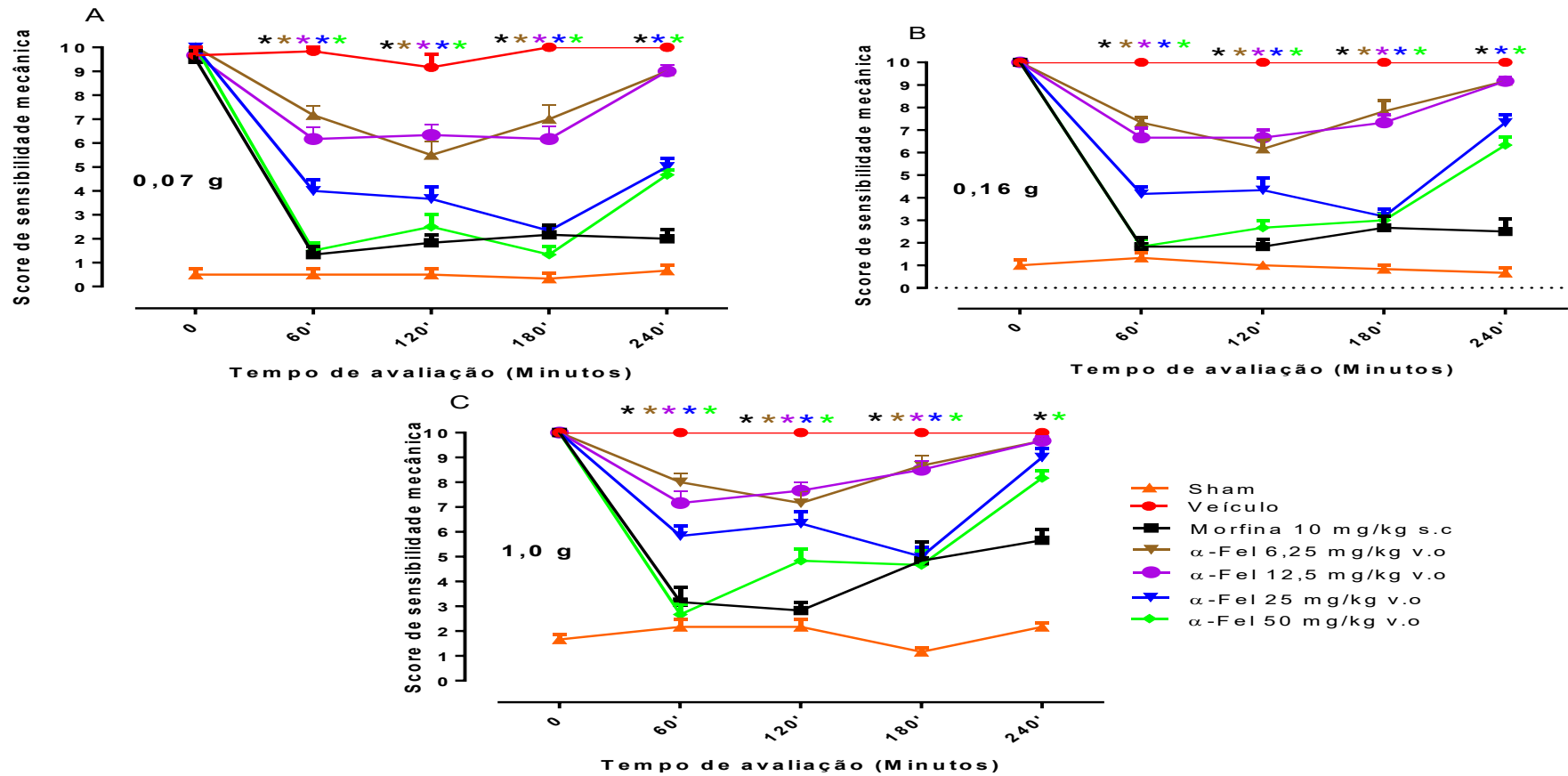
Figura 12: Avaliação da nocicepção indireta de camundongos com tumor de S-180 no cotratamento com α -Fel.

Legenda: Cada ponto representa a média \pm o erro padrão da média (E.P.M) do limiar de retirada de pata de camundongo (20-35 g) submetidos ao teste com filamentos de Von Frey, tratado com α -Fel (12,5; 25; 50 mg/Kg v.o.) O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), pregabalina (10 mg/Kg, v.o) ou 5- Fluoracil (25 mg/Kg, i.p) (*p<0,05 comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey).

A figura 13 apresenta os dados do tratamento agudo do α -Fel, no qual ocorre após a neuropatia está completamente instalada nos animais, afim de verificar ação antinociceptiva do monoterpene frente à neuropatia instalada e por quanto tempo o composto apresentará tal ação após uma única dose.

Os dados demonstram na figura 13 que o α -Fel em todas as doses avaliadas (6,25; 12,5; 25; 50 mg/Kg v.o) após 60 minutos apresentou atividade antinociceptiva em todos os estímulos (0,07, 0,16 e 1,0 g) frente à avaliação direta na região peritumoral em animais com nocicepção oncológica instalada, provocada por células de S-180, diminuindo significativamente ($p < 0,05$) o escore de sensibilidade mecânica dos animais. No painel A no tempo 60 minutos, (sham = $0,500 \pm 0,224$, α -Fel 6,25 mg/Kg v.o = $7,167 \pm 0,401$; α -Fel 12,5 mg/Kg v.o = $6,167 \pm 0,477$; α -Fel 25 mg/Kg v.o = $4,00 \pm 0,447$; α -Fel 50 mg/Kg v.o = $1,5 \pm 0,342$, Morfina 10 mg/Kg i.p = $1,333 \pm 0,333$ e Veículo = $9,833 \pm 0,167$).

Os padrões de resposta apresentados estendem-se até 180 minutos, com início de perda de efetividade no tempo de 240 minutos, no qual as doses de 25 e 50 mg/kg v.o nos painéis (A e B) e de 50 mg/kg v.o no painel C mantém significância com uma intensidade não tão expressiva quanto nos tempos entre 60 e 180 minutos.

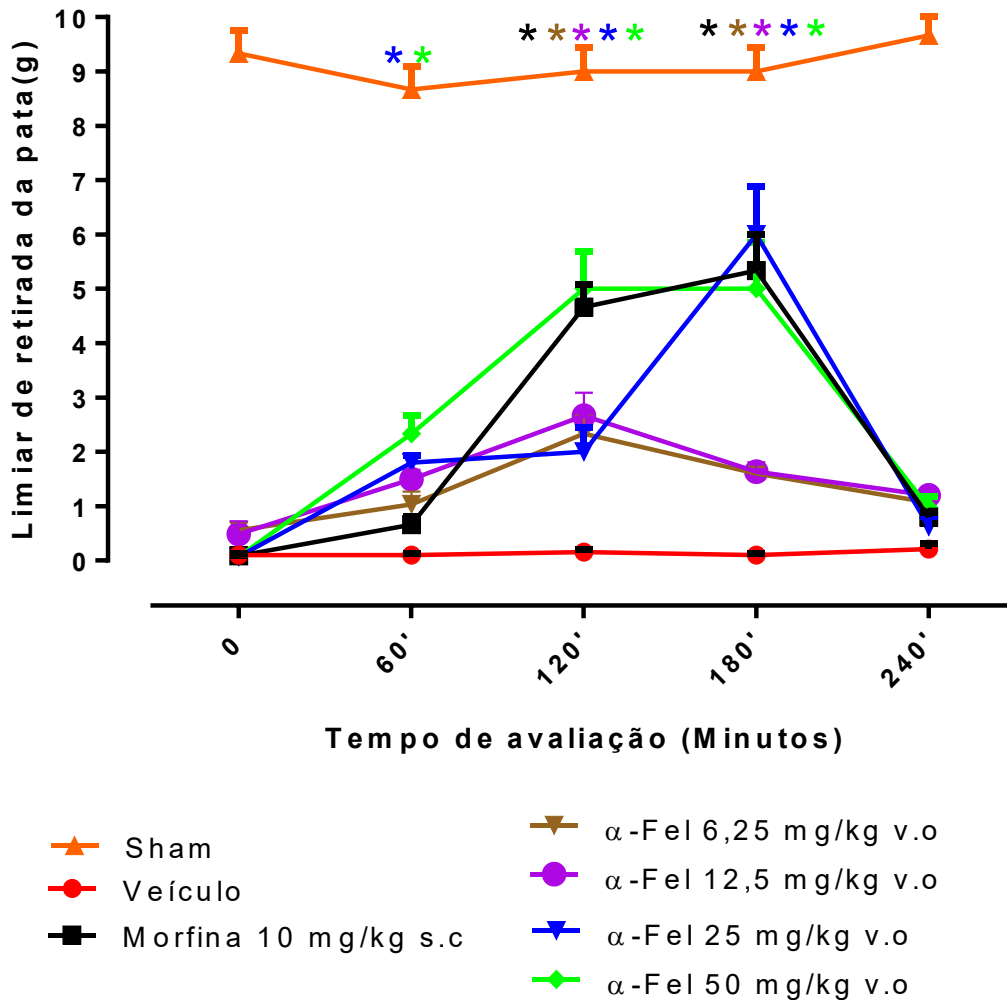
Figura 13: Avaliação da nocicepção direta no tecido peritumoral de camundongos com tumor de S-180 no tratamento agudo com α -Fel.

Legenda: Cada ponto representa a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M) do escore de sensibilidade mecânica de camundongo (20-35g) submetidos ao teste com filamentos de Von Frey A(0,07g), B (0,16 g), C (1,0 g) tratados com α -Fel (6,25; 12,5; 25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o) ou Morfina (10 mg/Kg s.c), (*p<0,05 comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey)

A figura 14 apresenta os dados da avaliação indireta pós tratamento agudo com monoterpeno α -Fel frente à neuropatia oncológica instalada e por quanto tempo este apresentará esta ação após um único tratamento. É possível observar os padrões de resposta de sensibilidade periférica através da avaliação indireta na pata traseira direita dos animais com neuropatia instalada induzida pelas células de S-180, onde é possível constatar resultado significativo ($p < 0,05$) para o tempo 60 minutos, no tratamento com α -Fel 25 mg/Kg v.o = $5,833 \pm 0,401$ e α -Fel 50 mg/Kg v.o = $2,667 \pm 0,422$, em comparação ao Veículo = $0,085 \pm 0,015$), no tempo 120 minutos, todas as doses de α -Fel apresentam resultado significativo ($p < 0,5$) 6,25 mg/Kg v.o = $6,167 \pm 0,401$; α -Fel 12,5 mg/Kg v.o = $6,667 \pm 0,401$; α -Fel 25 mg/Kg v.o = $6,333 \pm 0,497$; α -Fel 50 mg/Kg v.o = $4,833 \pm 0,477$, em conjunto com o controle positivo utilizado Morfina 10 mg/Kg i.p = $4,667 \pm 0,422$ em comparação ao Veículo = $0,070 \pm 0,010$), reproduzível até o tempo 180 minutos. No tempo 240 minutos retorna a um resultado próximo ao limiar basal.

No falso inoculado (sham) é possível constatar o comportamento normal do animal que não apresenta alodinia diferente do grupo veículo no qual pôde-se observar que a hipernocicepção estende-se da avaliação basal ao fim do tempo de avaliação.

Figura 14: Avaliação da nocicepção indireta de camundongos com tumor de S-180 no tratamento agudo com α -Fel



Legenda: Cada ponto representa a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M) do limiar de retirada de pata de camundongo (20-35g) submetidos ao teste com filamentos de Von Frey tratado com α -Fel (6,25; 12,5; 25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o ou Morfina (10 mg/Kg s.c), (*p<0,05 comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey)

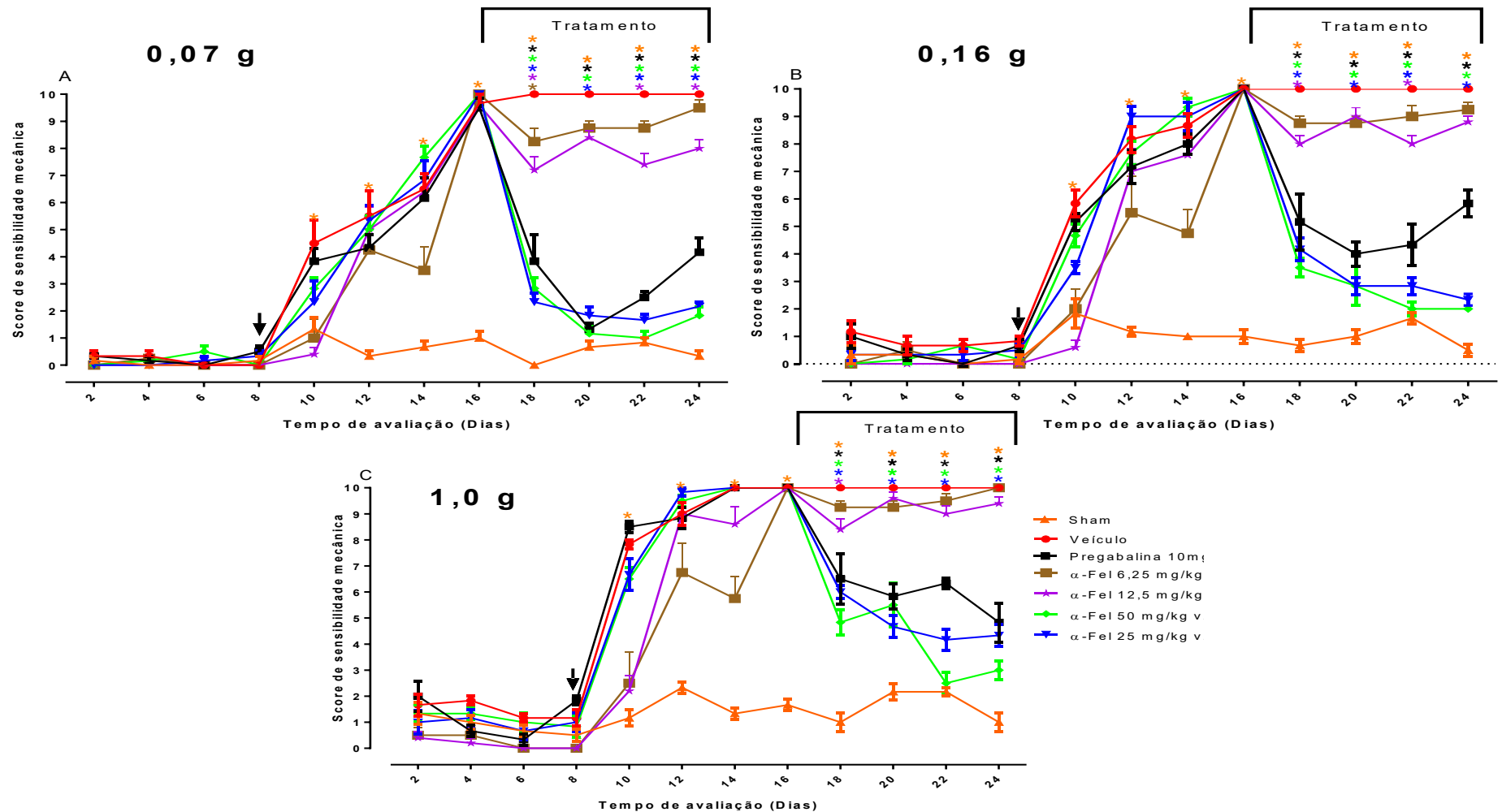
Na figura 15 é possível observar o padrão de resposta dos animais diante do pós-tratamento subagudo com α -Fel, no qual este inicia-se após a instalação completa da neuropatia e estendesse por 8 dias. Através desses dados pode-se avaliar todos os padrões de resposta dos animais sem neuropatia, os padrões de resposta da instalação da neuropatia e como comportaram-se os animais após os tratamentos. É possível observar o padrão de resposta dos animais em todos as fases da instalação da neuropatia, no qual do 2º ao 8º dia (Veículo A= $0,00 \pm 0,0$; B= $0,833 \pm 0,167$ e C= $1,167 \pm 0,307$) tem-se avaliação basal dos animais sem tumor e no 9º dia ocorre a inoculação do tumor; do 10º dia de avaliação até o 16º (Veículo A= $9,667 \pm 0,333$; B= $10,00 \pm 0,00$ e C= $10,0 \pm 0,0$) tem-se os dados das avaliações dos animais apenas como o tumor de S-180.

Entre o 18º e 24º os dados do pós-tratamento subagudo o efeito antinociceptivo do α -Fel é evidenciado independente do grau de força utilizada painel (A, B e C). No pós tratamento, ao diminuir significativamente ($p < 0,05$) o escore de sensibilidade mecânica dos animais é que este padrão de resposta inicia-se na primeira avaliação do pós-tratamento no 18º dia em todas as doses avaliadas 6,25 mg/Kg v.o = $8,75 \pm 0,250$, 12,5 mg/Kg v.o = $8,00 \pm 0,316$, 25,0 mg/Kg v.o = $4,167 \pm 0,401$ e 50,0 mg/Kg v.o = $3,5 \pm 0,342$) em conjunto com o controle positivo pregabalina 10 mg/Kg v.o = $5,167 \pm 1,014$ em relação ao Veículo = $10,00 \pm 0,00$.

Este padrão demonstrado estende-se até 24º dia no painel A, e no painel (B e C). Apenas as doses de 25 e 50 mg/Kg v, que apresentaram resposta antinociceptiva por todos os dias de avaliação do pós-tratamento. No grupo (sham) é possível observar o comportamento normal do animal semelhante da primeira avaliação ($0,333 \pm 0,333$). A última no 24º dia ($0,500 \pm 0,477$) não apresentou alodinia provocados pelas células de S-180.

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernociceção oncológica

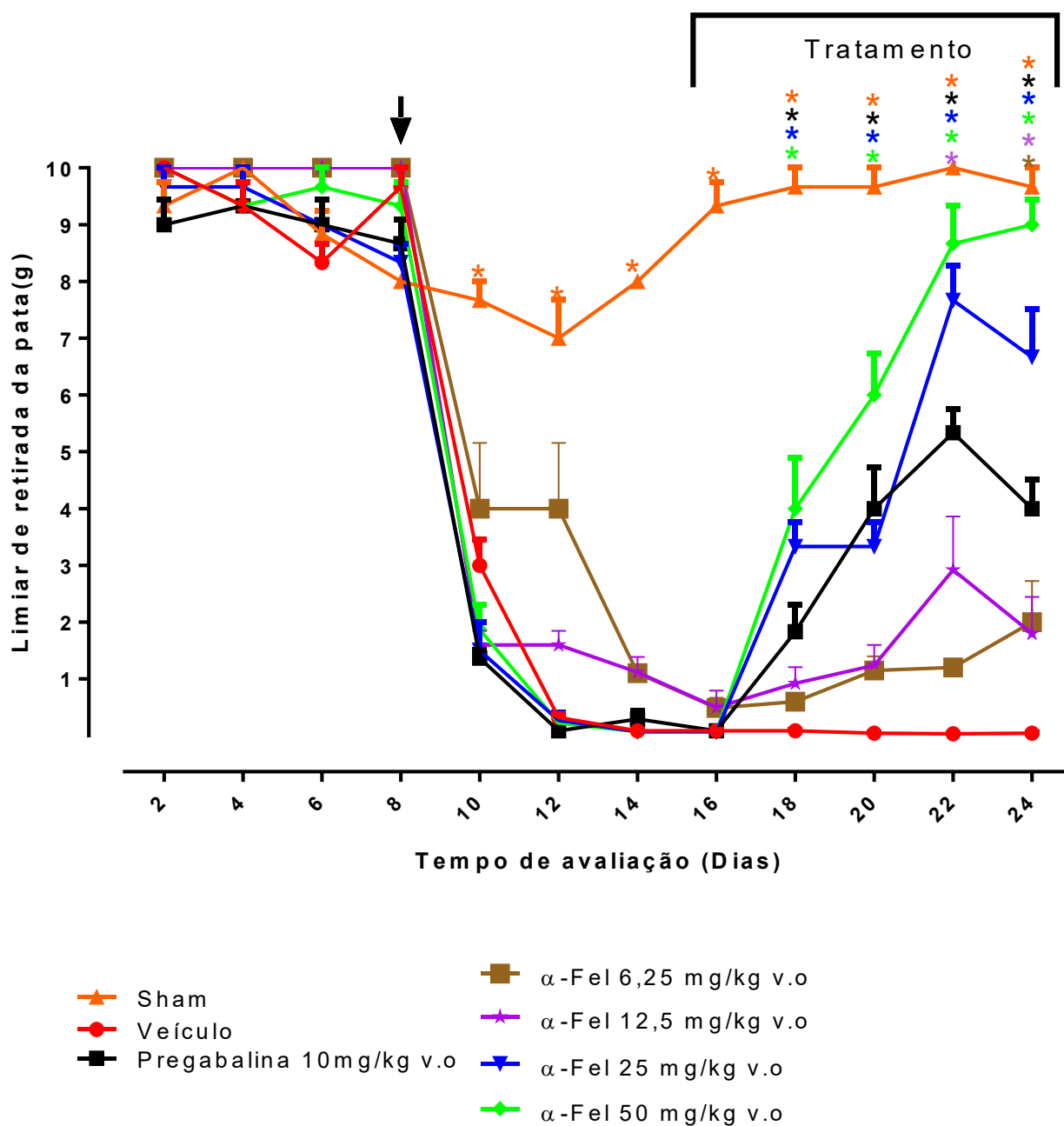
Figura 156: Avaliação da nociceção direta no tecido peritumoral de camundongos com tumor de S-180 no pós-tratamento subagudo com α -Fel.



Legenda: Cada ponto representa a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M) do escore de sensibilidade mecânica de camundongo (20-35g) submetidos ao teste com filamentos de Von Frey A(0,07g), B (0,16 g), C (1,0 g) tratados com α -Fel (6,25; 12,5; 25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o) ou Pregabalina (10 mg/Kg v.o), (* p <0,05 comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey)

A figura 16 apresenta os dados da avaliação indireta diante do pós-tratamento subagudo com α -Fel mediante à neuropatia oncológica instalada. É possível constatar que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) do limiar de sensibilidade mecânica diante da neuropatia periférica provocado pela inoculação de células de S-180 na região subaxilar do animais no pós-tratamento, na 1^o avaliação após o início do tratamento (18^o dia) nas doses de 25 ($3,333 \pm 0,422$) e 50 ($4,00 \pm 0,894$) mg/kg v.o reprodutível e até o ultimo dia de avaliação, a dose de 12,5 mg/kg v.o ($2,920 \pm 0,941$) apresentou aumento significativo no limiar a partir do 22^o estendendo-se até o último dia de avaliação e a dose de 6,25 mg/kg v.o ($2,00 \pm 0,726$) apresentou resposta significativa apenas no último dia de avaliação (24^o dia).

Assim como nas análises anteriores, é possível demonstrar o padrão de resposta dos animais no grupo falso inoculados (sham) e constatar o comportamento normal do animal que não apresenta hipernocicepção provocada pelas células de S-180 da primeira avaliação ($9,333 \pm 0,422$) à última avaliação ($9,667 \pm 0,333$) diferente do grupo veículo que foi observado uma nocicepção evidenciada desde a 1^o avaliação pós-inoculação (10^o dia = $3,00 \pm 0,447$) ao fim do tempo de avaliação (24^o dia = $0,043 \pm 0,009$).

Figura 16: Avaliação da nociceção indireta de camundongos com tumor de S-180 no pós-tratamento subagudo com α -Fel.

Legenda: Cada ponto representa a média \pm o erro padrão da média (E.P.M) do limiar de retirada de pata de camundongo (20-35g) submetidos ao teste com filamentos de Von Frey tratado com α -Fel (6,25; 12,5; 25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o) Pregabalina (10 mg/Kg v.o), (* p <0,05 comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey)

Na tabela 1 é possível observar a massa relativa dos principais órgãos dos animais no qual não se constata diferença significativa entre veículo e as doses do α -Fel ou do grupo sham e α -Fel. Entretanto, os resultados apresentam uma diferença significativa ($p < 0,05$) no peso do coração e dos rins do grupo 5-FU em relação ao grupo veículo e sham.

4.2 Avaliação da massa relativa.

A tabela 1 apresenta os dados da massa relativa dos órgãos dos animais utilizados na avaliação do cotratamento com α -Fel.

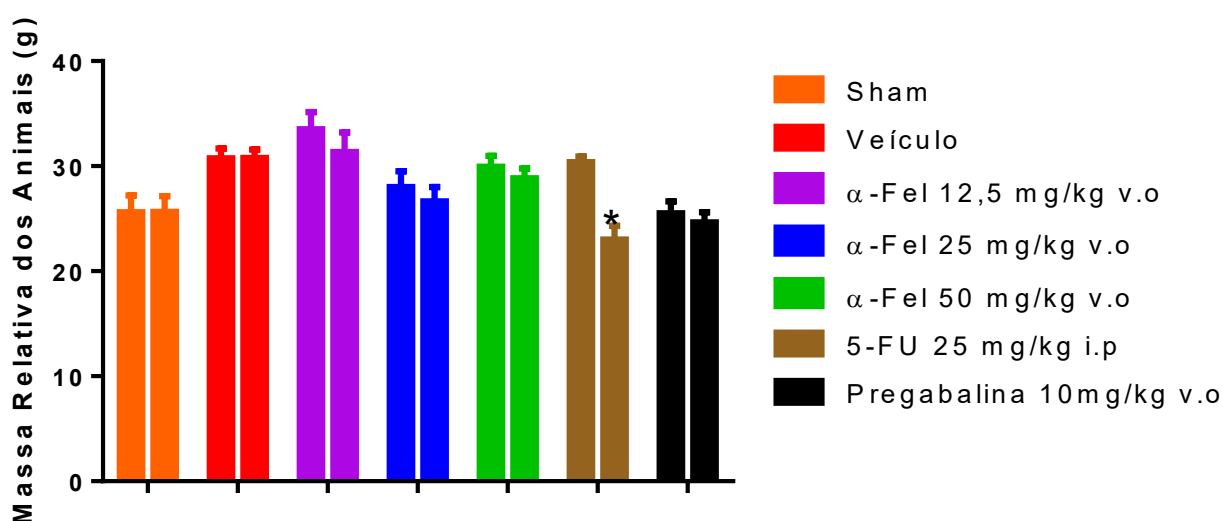
Tabela 1: Massa relativa dos Órgão Cotratamento

	Fígado		Baço		Rins		Coração		Pulmões		Cérebro	
	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M
<i>Veículo</i>	425,00	15,09	37,67	1,224	116,10	3,653	50,67	4,465	66,81	11,120	140,40	9,852
<i>Pregabalina 10 mg/Kg v. o</i>	449,70	21,16	33,96	3,744	104,80	3,720	42,18	5,065	55,44	8,582	150,90	7,117
<i>Sham</i>	422,00	19,75	39,08	3,853	110,30	10,730	48,31	5,938	54,09	6,189	143,60	14,490
<i>α-Fel 25 mg/Kg v. o</i>	434,70	10,13	33,12	2,387	94,88	7,931	42,33	3,056	59,68	8,067	155,10	10,800
<i>α-Fel 50 mg/Kg v. o</i>	446,60	17,43	32,01	4,795	117,80	10,170	42,88	4,995	54,52	2,866	146,20	10,090
<i>5-FU 25 mg/Kg i. p</i>	503,90	30,23	31,68	3,723	60,35*	6,893	151,60*	16,900	47,99	3,273	178,40	9,416

Os números representam a média e o erro padrão da média da massa relativa em miligramas para cada 10g de peso corporal do animal.
EPM: Erro padrão da média.

Na figura 17 observa-se os dados do peso relativo dos animais no cotratamento com α -Fel. Segundo os dados apresentados, os animais não apresentaram diferenças estatísticas consideradas relevantes, com exceção do grupo 5-FU, em que os animais apresentaram uma diminuição significativa ($p < 0,05$) do peso inicial ($30,667 \pm 0,540$) e o peso final ($23,00 \pm 1,317$) após o tempo de tratamento.

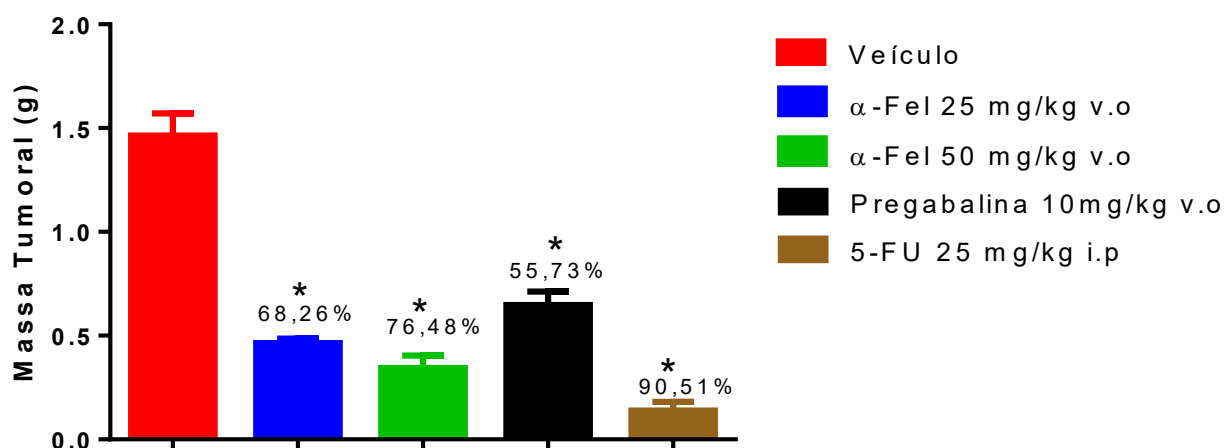
Figura 17: Peso relativo dos Animais Cotratamento.



Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M) do peso relativa dos animais antes e após tempo de avaliação do cotratamento com α -Fel (12,5; 25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais ($n=6$) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), Pregabalina (10 mg/Kg v.o ou 5- Fluoracil (25 mg/Kg, i.p) ($*p < 0,05$ comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey)

Na figura 18, tem-se a representação dos dados da massa dos tumores dos animais após o cotratamento com α -Fel. Por meio dos dados do peso bruto dos tumores dos animais que receberam o cotratamento, foi possível observar diferença significativa ($p < 0,05$) entre as doses, 25 mg/kg v.o ($0,4643 \pm 0,021$) de α -Fel que apresentou um redução de 68,25 %, 50 mg/kg v.o ($0,3442 \pm 0,059$) de α -Fel que demonstrou um redução de 76,48%.e o controle positivo 5- FU 25 mg/Kg, i.p ($0,1388 \pm 0,042$) que representou 90,51% de inibição tumoral em relação ao grupo veículo ($1,463 \pm 0,647$).

Figura 18: Massa dos Tumores Cotratamento.



Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M) da massa dos tumores após tempo de avaliação cotratamento com α -Fel (25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais ($n=6$) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o), Pregabalina (10 mg/Kg v.o) ou 5- Fluoracil (25 mg/Kg, i.p), ($*p < 0,05$ comparados com grupo veículo; ANOVA uma via, Teste de Dunnet)

Na tabela 2 é possível observar a massa relativa dos principais órgãos dos animais, no qual demonstra-se nos dados que não há diferença significativa entre veículo e as doses do α -Fel ou do grupo sham e α -Fel.

A tabela 2 apresenta os dados da massa relativa dos órgãos dos animais utilizados na avaliação do pós-tratamento subagudo com α -Fel.

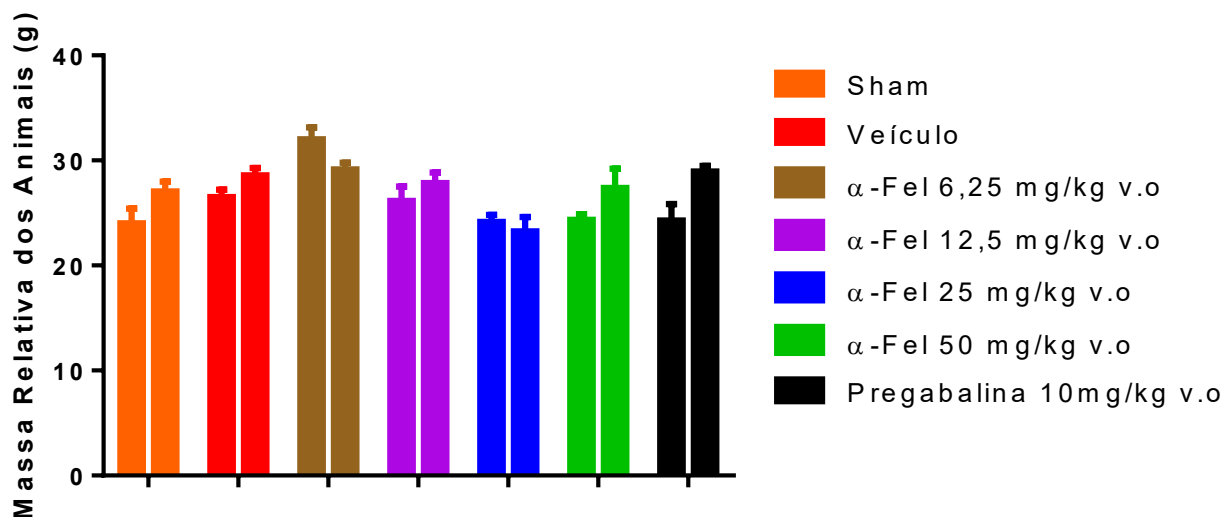
Tabela 2: Massa relativa dos órgãos pós-tratamento subagudos.

	Fígado		Baço		Rins		Coração		Pulmões		Cérebro	
	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M	Média	E.P.M
<i>Veículo</i>	511,30	18,38	62,17	3,210	103,60	3,058	53,27	6,641	51,55	6,2240	134,10	4,578
<i>Pregabalina 10 mg/Kg v. o</i>	461,90	12,83	59,08	3,868	93,19	3,056	40,80	1,301	55,25	4,6260	132,80	2,773
<i>Sham</i>	453,90	31,30	35,38	4,766	108,50	5,972	46,19	3,673	58,16	4,5110	149,30	5,782
<i>α-Fel 25 mg/Kg v. o</i>	467,40	13,46	58,31	5,788	110,20	10,400	43,61	2,823	54,39	0,7216	144,00	6,094
<i>α-Fel 50 mg/Kg v. o</i>	471,20	12,40	50,45	5,936	107,20	3,875	42,39	3,078	54,62	4,0270	129,00	2,618

Os números representam a média e o erro padrão da média da massa relativa em miligramas para cada 10g de peso corporal do animal.
EPM: Erro padrão da média.

Na figura 19 observam-se os dados do peso relativo dos animais na avaliação do pós-tratamento subagudo com α -Fel. Diante dos dados apresentados, tem-se que os animais não apresentaram diferenças estatísticas consideradas relevantes entre o peso inicial dos animais e o peso final do pós-tratamento subagudo estipulado.

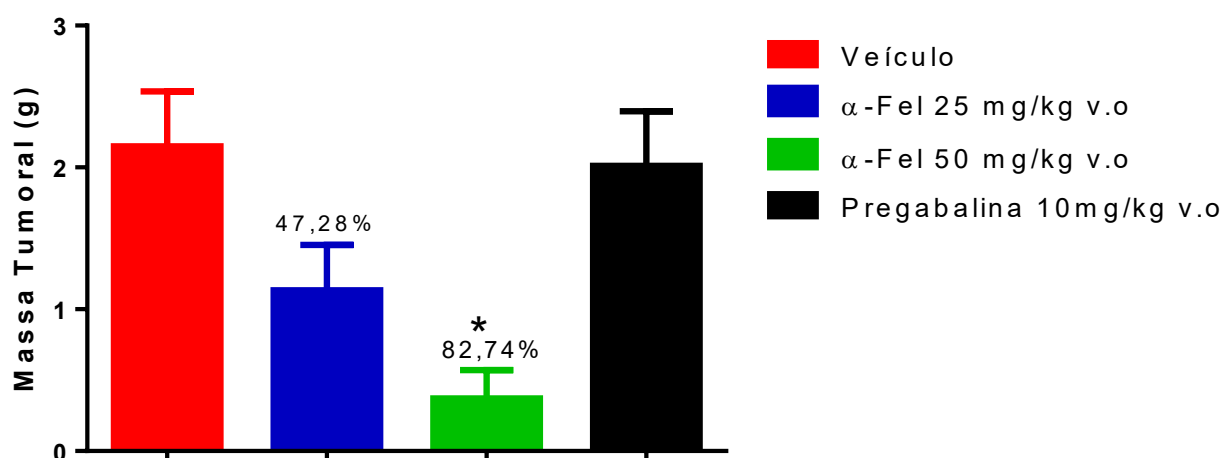
Figura 19: Peso relativo dos animais pós-tratamento subagudo.



Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M) do peso relativo dos animais antes e após tempo de avaliação do pós-tratamento subagudo com α -Fel (25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o) ou Pregabalina (10 mg/Kg v.o) (* $p < 0,05$ comparados com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey)

A figura 20 representa os dados da massa dos tumores dos animais após o pós-tratamento subagudo com α -Fel. Foi possível observar uma diferença significativa ($p < 0,05$) no peso bruto dos tumores entre os grupos α -Fel 50 mg/kg v.o ($0,371 \pm 0,20$) no pós-tratamento subagudo e uma redução de 82,74% em relação ao peso bruto dos tumores do grupo veículo ($2,150 \pm 0,385$), fato esse não observado no grupo α -Fel 25 mg/kg v.o ($1,133 \pm 0,320$) e controle positivo Pregabalina 10 mg/Kg v.o ($2,012 \pm 0,385$).

Figura 20: Massa dos tumores pós-tratamento subagudos.



Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M) da massa dos tumores após tempo de avaliação do pós-tratamento subagudo com α -Fel (25; 50 mg/Kg v.o). O grupo de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o) ou Pregabalina (10 mg/Kg v.o) (* $p < 0,05$ comparados com grupo veículo; ANOVA uma via, Teste de Dunnet)

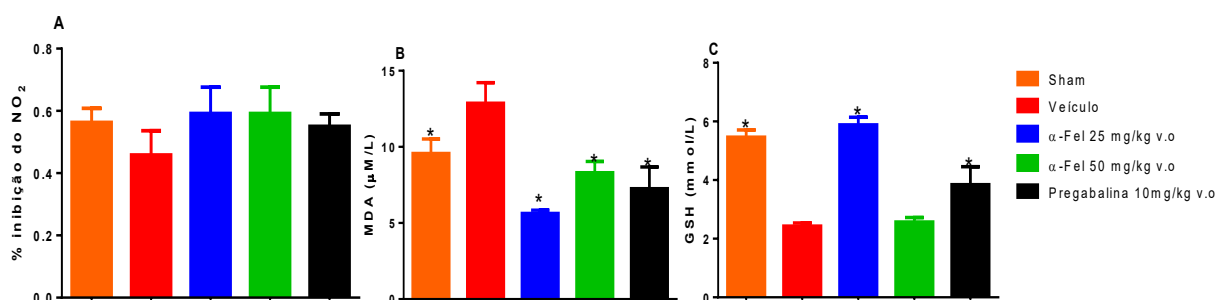
4.3 Investigação da atividade antioxidante

A avaliação antioxidante foi realizada através do soro dos animais utilizados no protocolo de pós-tratamento subagudos com o monoterpeno α -Fel, como mostra a figura 21. Os dados mostram que o monoterpeno na dose de 25 mg/kg v.o ($5,632 \pm 0,216$) e 50 mg/kg v.o ($8,309 \pm 0,73$) reduziu os níveis de TBARS constatadas através dos níveis de malondealdeído, em relação ao veículo ($12,87 \pm 1,348$), assim como no controle positivo pregabalina 10 mg/Kg v.o ($7,255 \pm 1,432$).

A dose de 25 mg/kg v.o ($5,882 \pm 0,265$) aumentou os níveis de glutaciona reduzida (GSH), em conjunto ao controle positivo pregabalina 10 mg/Kg v.o ($3,842 \pm 0,617$). Entretanto, a dose de 50 mg/kg v.o ($2,572 \pm 0,15$) não demonstrou essa capacidade em relação ao veículo ($2,431 \pm 0,104$). Superóxido dismutase (SOD) em nenhuma das doses apresentou alteração significativa. Desse modo, torna-se pertinente novas investigações se diferentes doses podem ser capazes de inferir os níveis de SOD.

O grupo falso inoculado sham apresentou os seguintes dados (TBARS = $9,573 \pm 0,216$), (GSH = $5,466 \pm 0,242$) e (SOD = $0,563 \pm 0,045$).

Figura 21: Efeito antioxidante do α -Fel em soro sanguíneo de camundongos como neuropatia induzida S-180.



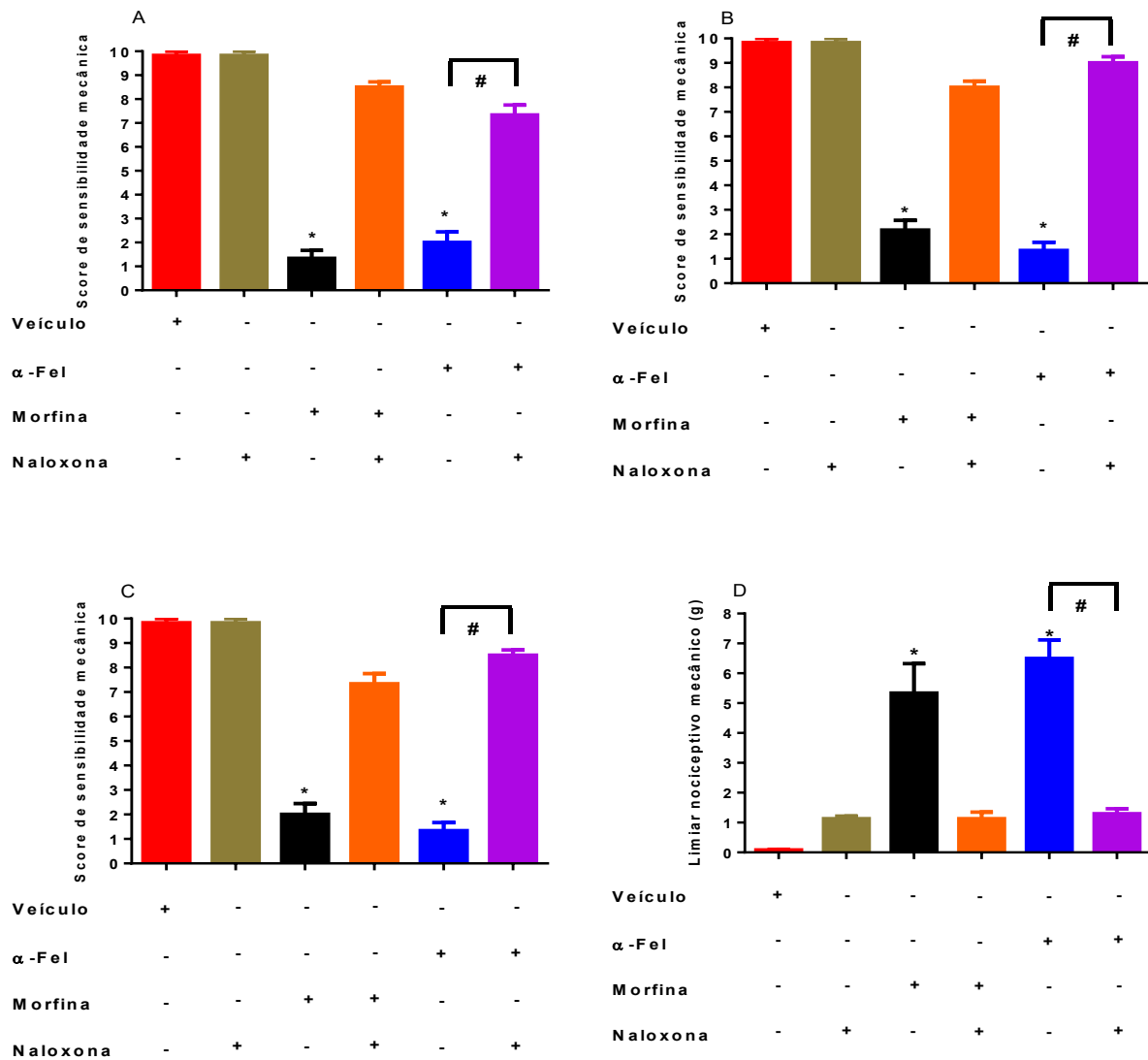
Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M). Os grupos de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2% v.o ou Pregabalina (10 mg/Kg v.o). (A) níveis de superóxido dismutase (SOD), (B) concentração de espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e (C) concentração de glutaciona reduzida (GSH). Cada barra representa o E.P.M ($p^* < 0,05$ comparado com o grupo veículo; ANOVA uma via, Teste de Tukey)

4.4 Investigação de possíveis mecanismos de ação

Os resultados da Figura 22 mostram os dados do tratamento com o monoterpeno α -Fel na presença do bloqueador dos receptores opióide Naloxona e compara com o tratamento apenas com o monoterpeno e controle positivo morfina. Os resultados na figura 22 revelaram que o grupo tratado apenas com a naloxona mostrou valores semelhantes com os do veículo, e o grupo tratado somente com α -Fel apresenta resultado compatível ao controle positivo morfina, e que grupo tratado com α -Fel na presença de naloxona apresenta diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao tratado apenas com o monoterpeno. O mesmo ocorre no grupo controle positivo morfina na presença de naloxona. O resultado demonstrado no painel (A=0,07 g) Veículo= $9,833 \pm 0,166$ Naloxona 2mg/kg i.p= $9,833 \pm 0,166$, α -Fel 25 mg/kg, v.o= $2,0 \pm 0,447$, α -Fel 25 mg/kg, v.o/ Naloxona 2mg/kg i.p= $7,33 \pm 0,42$, Morfina 10 mg/kg i.p= $1,33 \pm 0,33$ e Morfina 10 mg/kg i.p/ Naloxona 2mg/kg i.p= $8,5 \pm 0,223$ e reproduzível no painel (B=0,16g) e painel (C=1,0g) que avaliam o escore de sensibilidade mecânica direta no tecido peritumoral do tumor de células S-180.

No painel (D) que avalia sensibilidade periférica através do limiar de retirada de pata, Veículo= $0,085 \pm 0,015$ Naloxona 2mg/kg i.p= $1,133 \pm 0,084$, α -Fel 25 mg/kg, v.o= $5,33 \pm 0,98$, α -Fel 25 mg/kg, v.o/ Naloxona 2mg/kg i.p= $1,13 \pm 0,217$, Morfina 10 mg/kg i.p= $6,50 \pm 0,61$ e Morfina 10 mg/kg i.p/ Naloxona 2mg/kg i.p= $1,30 \pm 0,161$ descartando a existência do efeito antinociceptivo da naloxona.

A naloxona associada à morfina reverteu significativamente ($p < 0,05$) o efeito analgésico da morfina. O mesmo efeito foi demonstrado quando a naloxona foi associada com o α -Fel (25 mg/kg, v.o.), mostrando a participação dos sistemas opióide no efeito antihipernociceptivo do α -Fel na hipersensibilidade induzida por tumor de células S-180.

Figura 22: Avaliação do envolvimento do sistema opióide no efeito antinociceptivo do α -Fel em camundongos transplantados com sarcoma 180

Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M). Efeito do α -Fel (25 mg/kg, v.o.) e da ação da naloxona (3 mg/kg, i.p.) no escore de sensibilidade mecânica 0,07; 0,16 e 1,0 g (A, B e C) e no limiar de retirada de pata (D) de camundongo n=6. Onde (+) indica presença e (-) ausência do tratamento. Os dados representam a média \pm E.P.M. ($p^* < 0,05$ comparado com o grupo veículo; ANOVA uma via, Teste de Tukey)

4.5 Docagem molecular do α -Fel e Morfina nos receptores opióides

Os resultados da tabela 3 demonstram a energia livre de ativação das ligações da morfina e α -Fel no receptor opióide.

Tabela 3: Resultados referentes a ancoragem do α -Fel e da morfina nos receptores μ , δ , K.

	Alfa-felandreno	Morfina
Receptor μ (mi)	-6.0 kcal/mol	-8.4 kcal/mol
Receptor δ (delta)	-7.4 kcal/mol	-7.0 kcal/mol
Receptor K (kappa)	-6.6 kcal/mol	-8.9 kcal/mol

Fonte: Software AutoDock Vina, 2018

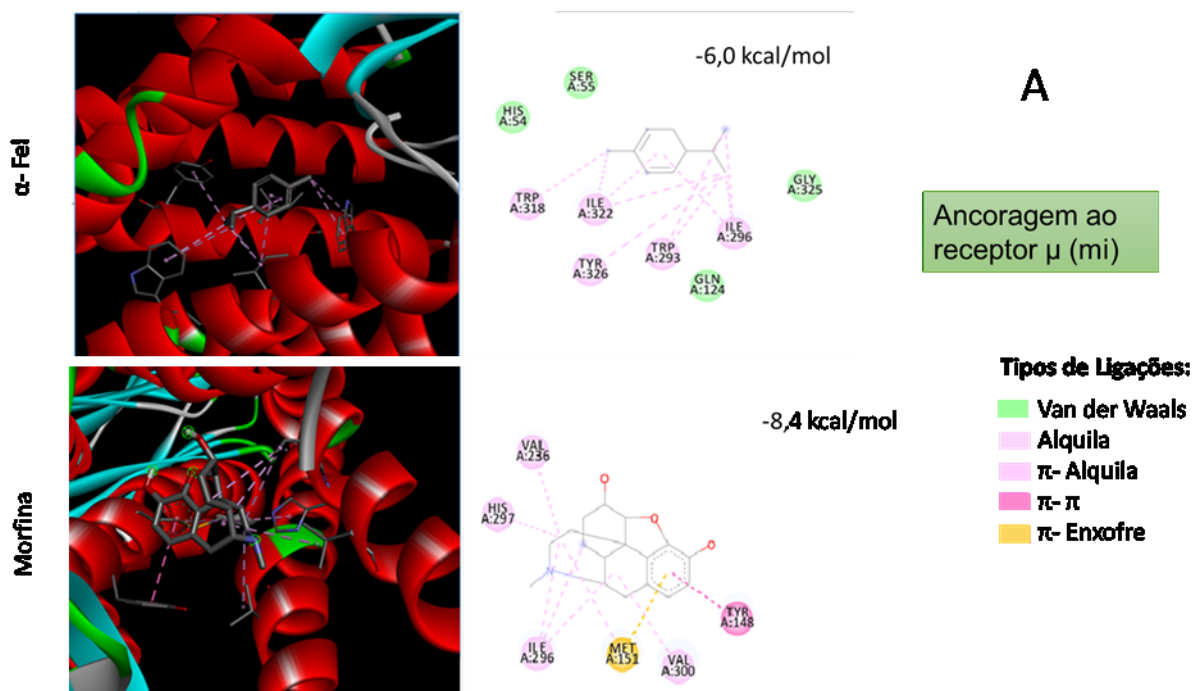
Os resultados apresentados pelo α -Fel nos testes *in vivo* foram sugeridos pela docagem molecular, na qual foi avaliada a energia livre de ativação do α -Fel e da Morfina para efeito de comparação, frente aos receptores opióides μ , δ , K. Na tabela 3 são demonstrados os resultados das energias livres de ativação de cada molécula diante da ligação com cada subtipo dos receptores opióides. Como demonstrado, a morfina apresentou uma energia livre de ativação menor que zero, o mesmo acontecendo com o α -Fel, sugerindo o seu efeito opióide

A figura 23 demonstra conformação tridimensional da ancoragem do α -Fel e morfina nos receptores opióide. A ancoragem do α -Fel no receptor μ (μ) no painel (A) bem como os tipos de ligação que são responsáveis pela interação dessa substância com este receptor, que são ligações de Van Der Waals, ligações π e π -Alquila em seguida à ancoragem da morfina no receptor μ (μ) onde ocorre ligações do tipo alquila, π -alquila, π - π e π -enxofre.

O painel B apresenta à ancoragem do α -Fel no receptor δ (delta), no qual ocorre o mesmo padrão de ligação demonstrado na ancoragem no receptor μ (μ), em seguida ancoragem da morfina no receptor δ (delta) temos a presença de ligações do tipo alquila, π -alquila, forças de Van Der Waals e ligações do tipo π -sigma.

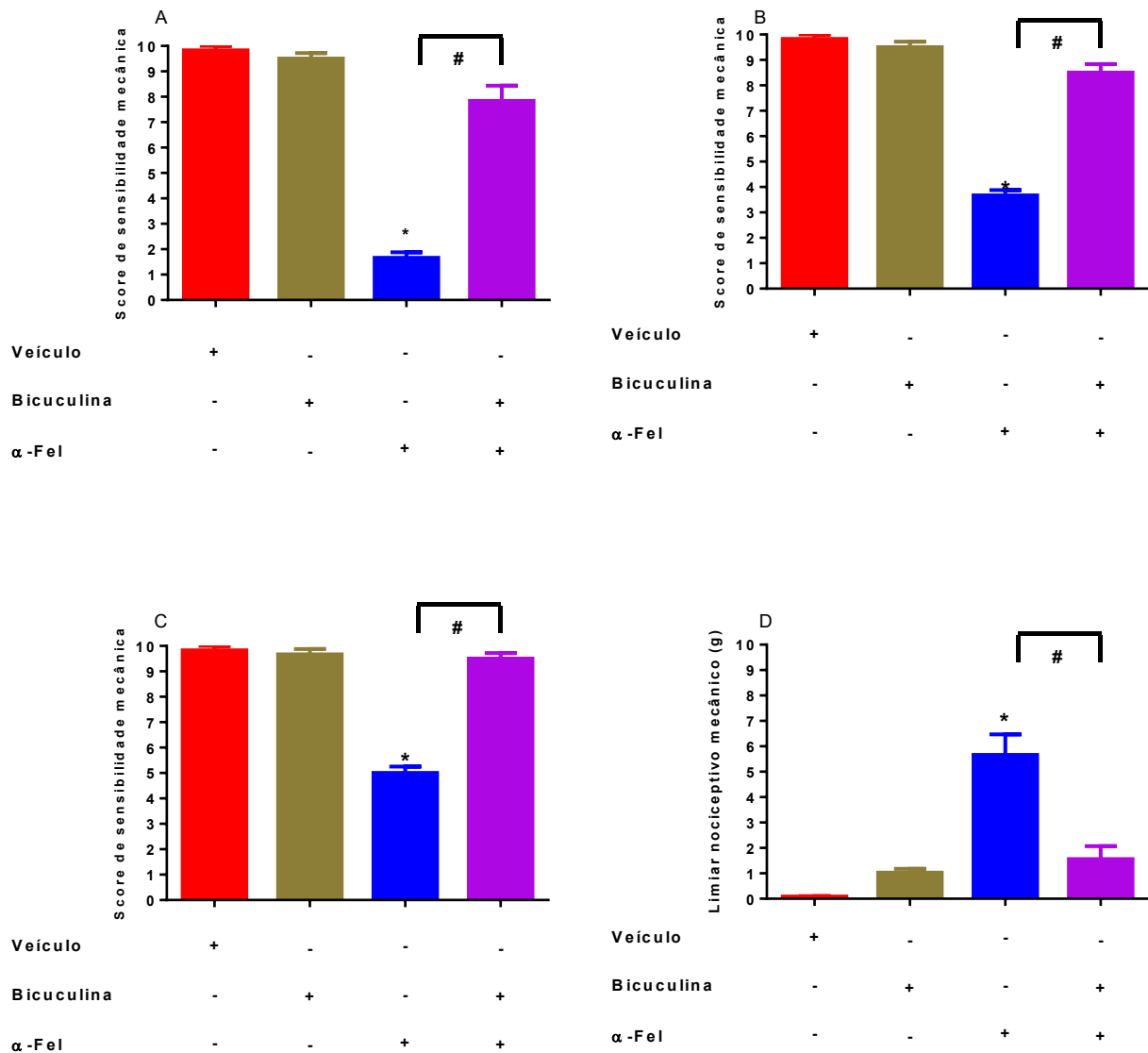
O painel C representa à ancoragem do α -Fel no receptor κ (kappa) que apresenta ligações do tipo alquila, π -alquila, π - π , forças de Van Der Waals, ligações do tipo π -sigma e π -enxofre. Um padrão semelhante a ancoragem molecular da morfina no receptor δ (delta), em seguida ocorre à ancoragem da morfina no receptor κ (kappa) que apresenta ligações do tipo alquila, π -alquila, forças de Van Der Waals e ligações do tipo π -sigma e π -enxofre.

Figura 23: Ancoragem molecular do α -Fel e morfina.



Os resultados da figura 24 mostram os dados do tratamento com o monoterpeno α -Fel na presença do bloqueador do receptor GABA_A específico bicuculina e compara como o tratamento apenas com o monoterpeno. Os resultados mostram no (A=0,07 g) veículo= $9,833 \pm 0,166$, Bicuculina 1 mg/kg, i.p.= $9,50 \pm 0,223$, α -Fel 25 mg/kg, v.o.= $1,66 \pm 0,21$, α -Fel 25 mg/kg, v.o./ Bicuculina 1 mg/kg, i.p.= $7,88 \pm 0,60$ reprodutíveis no painel(B=0,16g) e painel (C=1,0g) que avaliam o escore de sensibilidade mecânica direta no tecido peritumoral do tumor de células S-180.

No painel (D) que avalia sensibilidade periférica através do limiar de retirada de pata pôde-se observar que veículo= $0,08 \pm 0,15$, Bicuculina 1 mg/kg, i.p.= $1,03 \pm 0,15$, α -Fel 25 mg/kg, v.o.= $5,66 \pm 0,80$, α -Fel 25 mg/kg, v.o./ Bicuculina 1 mg/kg, i.p.= $1,56 \pm 0,50$ destacando que a bicuculina associada ao α -Fel (25 mg/kg, v.o.), reverteu significativamente ($p < 0,05$) o efeito antinociceptivos do α -Fel mostrando a participação do sistema GABAérgico no efeito antihipernociceptivo do α -Fel na hipersensibilidade induzida por tumor de células S-180.

Figura 24: Participação do sistema GABAérgico no efeito antinociceptivo do α -Fel em camundongos transplantados com sarcoma 180

Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M). Efeito do α -Fel (25 mg/kg, v.o.) contra a ação Bicuculina (1 mg/kg, i.p.) no escore de sensibilidade mecânica 0,07; 0,16 e 1,0 g (A, B e C) e no limiar de retirada de pata (D) de camundongo n=6. Onde (+) indica presença e (-) ausência do tratamento. Os dados representam a média \pm E.P.M. ($p^* < 0,05$ comparado com o grupo veículo; ANOVA uma via, Teste de Tukey)

4.6 Reação Imunoenzimática (ELISA)

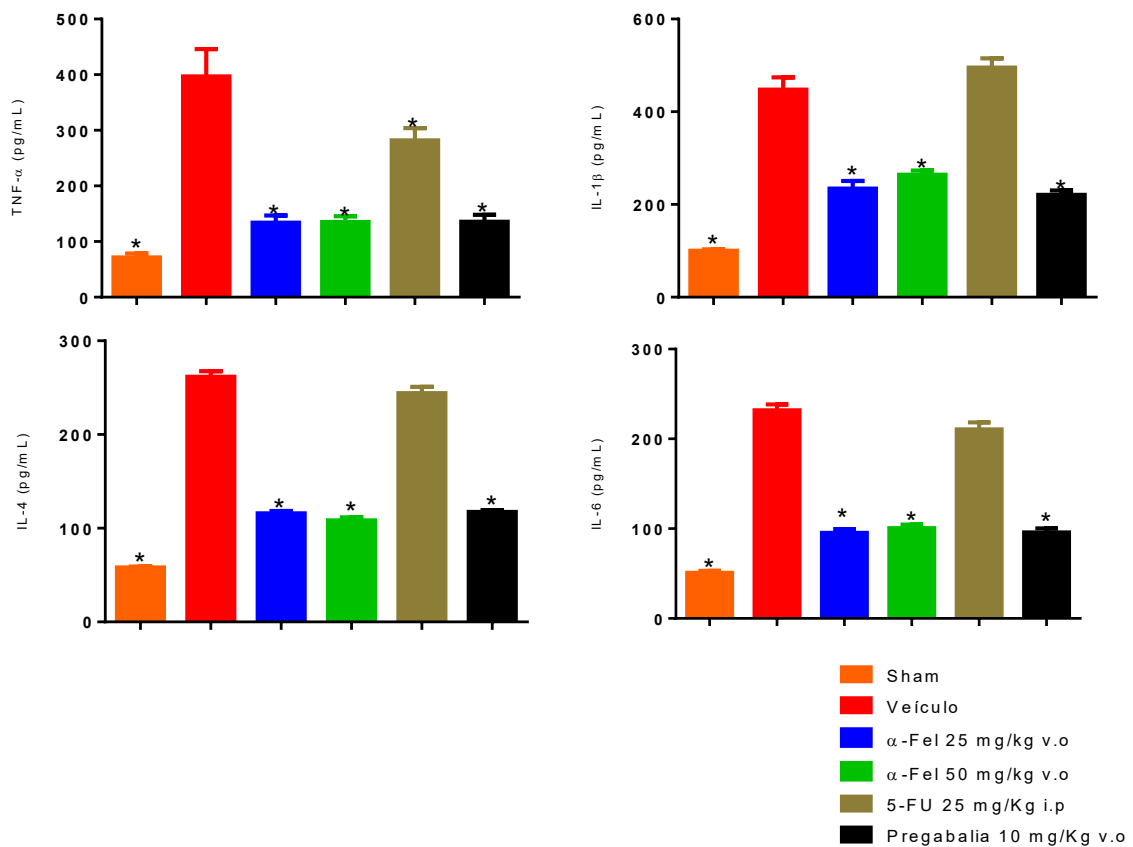
Na figura 25 tem-se os dados da reação imunoenzimático (ELISA) das respectivas citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-4 e IL-6. No plasma dos animais cotratados com α -Fel após

inoculação das células de S-180. Os resultados da figura 24 demonstraram que o cotratamento com α -Fel (25 e 50 mg/kg v.o) reduziu de forma significativa ($p < 0,05$) as concentrações de TNF- α (A) (α -Fel 25: $133,9 \pm 12,80$ pg/mL, α -Fel 50: $135,4 \pm 10,26$ pg/mL) em relação ao grupo controle (Veículo: $396,7 \pm 49,53$ pg/mL), o controle positivo (pregabalina: $135,5 \pm 12,7$ pg/mL também apresentou redução significativa dos níveis de TNF- α ao contrário do (5-Fluoracil: $281,9 \pm 21,86$ pg/mL), grupo (sham: $50,77 \pm 2,33$ pg/mL).

Os resultados da dosagem de IL-1 β (B) apresentaram um padrão semelhantes as dosagens de TNF- α onde (α -Fel 25: $234,1 \pm 16,65$ pg/mL, α -Fel 50: $264,3 \pm 8,75$ pg/mL) em relação ao grupo controle (Veículo: $447,6 \pm 26,60$ pg/mL), o controle positivo (pregabalina: $220,6 \pm 9,65$ pg/mL também apresentou redução significativa dos níveis de IL-1 β diferentemente dos níveis do (5-Fluoracil: $495,2 \pm 19,83$ pg/mL), grupo (sham: $100,4 \pm 2,97$ pg/mL).

A IL-4 (C) apresentou os seguintes resultados (α -Fel 25: $115,8 \pm 2,62$ pg/mL, α -Fel 50: $108,5 \pm 3,11$ pg/mL) uma redução significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (Veículo: $261,6 \pm 6,07$ pg/mL), em conjunto com o controle positivo (pregabalina: $117,5 \pm 1,92$ pg/mL os níveis do (5-Fluoracil: $244,2 \pm 6,58$ pg/mL) foram semelhantes aos do grupo veículo, grupo (sham: $58,18 \pm 0,99$ pg/mL).

Os seguintes resultados foram demonstrados na dosagem de IL-6 (D) redução significativa ($p < 0,05$) no grupo (α -Fel 25: $95,31 \pm 4,41$ pg/mL, α -Fel 50: $100,6 \pm 4,13$ pg/mL) em relação ao grupo controle (Veículo: $231,8 \pm 6,58$ pg/mL). O controle positivo (pregabalina: $95,79 \pm 4,49$ pg/mL) também apresentou redução significativa dos níveis de TNF- α ao contrário do (5-Fluoracil: $210,7 \pm 7,66$ pg/mL), grupo (sham: $50,77 \pm 2,33$ pg/mL)

Figura 25: Níveis de Citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-4 e IL-6)

Legenda: Os dados representam a média \pm o erro padrão da média o (E.P.M). Os grupos de animais (n=6) também receberam veículo (NaCl 0,9% com Tween 80 a 2%, v.o, Pregabalina (10 mg/Kg v.o) ou 5- Fluoracil (25 mg/Kg, i.p). (A) níveis de TNF- α em pg/mL, (B) concentração de IL-1 β em pg/mL, (C) concentração de IL-4 em pg/mL e (D) níveis de IL-6 em pg/mL. (p* $<$ 0,05 comparado com o grupo veículo; ANOVA uma via, Teste de Tukey)

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Diferentes estudos trazem o potencial antinociceptivo do α -Fel (LIMA et al., 2012) frente à nocicepção química induzida por ácido acético, formalina, capsaicina e glutamato em camundongos, e em modelo de carragenina. Os estudos sugerem também a participação do sistema colinérgico (receptores muscarínicos) e adrenérgico (receptores alfa-2). No estudo de Santos. (2015) o α -Fel inibiu a alodinia e a hiperalgesia mecânica induzidas pela injeção intraplantar de ACF, um modelo de dor inflamatória crônica, da 1ª avaliação até a última no 10º dia, o qual demonstrou atividade antiedematogênica ao inibir, de forma significativa, o edema de pata induzido por ACF em ratas, reduziu a migração de neutrófilos e o edema nas patas de ratas com inflamação induzida por ACF. O α -Fel via oral livre ou em complexos de inclusão com β -ciclodextrinas apresentou também atividade antinociceptiva, reduzindo a sensibilidade térmica e mecânica em modelo de neuropatia induzida por compressão do nervo ciático em camundongos (PIRES Y M S, 2018).

Os estudos anteriores demonstraram que o α -Fel apresenta um comprovado perfil farmacológico anti-inflamatório e analgésico em modelos de dor aguda e crônica do tipo neuropática. Entretanto faltam informações sobre seu efeito na dor crônica do tipo oncológica. Este estudo mostrou que o α -Fel pode atenuar os efeitos hipernociceptivos pela presença de tumores e compressões teciduais resultantes tumor primário ou metástase.

A dor é um dos primeiros sintomas do câncer em 20% a 50% dos pacientes. Tem-se que as razões para o manejo inadequado desse tipo de dor em paciente com câncer é a incapacidade de identificar os mecanismos subjacentes desta neuropatia (BECHAKRA et al., 2018). A dor neuropática é definida como dor após lesão neural; pode ser um resultado de lesões evidentes em grandes estruturas nervosas provenientes do tumor primário ou da malignidade provocado com a progressão da doença (ING, 2017).

Inúmeras terapias farmacológicas são utilizadas para esse tipo de tratamento, como AINE's, antidepressivos, anticitocinas e opióides. Estes últimos estão na categoria de narcóticos que melhor atuam no sistema nervoso central para aliviar a dor. Como a morfina, são analgésicos muito potentes, mas devido aos efeitos

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

adversos da depressão respiratória, vício, dependência e constipação, possuem um uso restrito (SUBEDI et al., 2019). Mantém-se então um desafio clínico: a necessidade de buscar novas opções terapêuticas para o alívio da dor.

O presente estudo teve início por meio da avaliação de atividade antinociceptiva, utilizando modelo de hipernocicepção oncológica com células de S-180 na região subaxilar. O modelo de indução de hipernocicepção foi desenvolvido durante a idealização e execução deste estudo, que utilizou célula de S-180 para indução de neoplasia nos animais e o método Von Frey para avaliar a sensibilidade direta e indireta provocada pelo tumor, resultando em um modelo eficiente para determinar o potencial terapêutico de uma substância na anti-alodinia oncológica.

Os sarcomas constituem um amplo grupo de neoplasmas malignos de origem mesenquimatosa (HUI, 2016) que surgem em tecidos derivados do mesênquima embrionário (BECKINGSALE; SHAW, 2017). Eles são formas relativamente raras de câncer e, geralmente, são divididos em sarcomas ósseos e de tecido mole (NAGARAJU et al., 2017). Essas neoplasias são tipicamente classificadas de acordo com o tecido mesenquimatoso normal que mais se assemelham, compreendendo mais de 70 tipos que diferem em características patológicas e clínicas (ABESHOUSE et al., 2017).

O S-180, também conhecido como tumor de Cocker, foi isolado de células de um tumor espontâneo localizado na região axilar de camundongo Swiss macho (*Mus musculus*). Descoberto em 1914, pelo Dr. W. H. Woglom, no laboratório Crocker, nos Estados Unidos, e mantido por transplantes sucessivos desde então, sendo exclusivo de camundongos, não acometendo humanos. Por este motivo, é usado para testes experimentais em todo o mundo (ZUCKERBERG, 1973).

O modelo utilizado para avaliar a alodinia mecânica foi o Von Frey, que é um estimulador mecânico, que se tornou amplamente utilizado em pesquisas com animais (BRADMAN et al., 2015). Chaplan et al., (1994) desenvolveu o método “up-down”, que é o modelo mais utilizado atualmente. Este modelo de avaliação inicia com um filamento intermediário e, dependendo da resposta do animal, a força em gramas (g) pode aumentar ou diminuir linearmente através de uma resposta defensiva, que exige o uso de uma força de filamento mais baixa sendo usada em seguida, enquanto a falta

de uma resposta característica determina a possibilidade de utilizar um filamento de maior força (MCMACKIN et al., 2016).

O presente estudo utiliza o método de Von Frey de duas formas: uma avaliação direta, no tecido peritumoral do tumor de células S-180 na região subaxilar, adaptado de Cattaruzza et al. (2013), no qual esse desenvolveu um método em que fosse possível mimetizar os sintomas de pancreatite crônica em animal, inclusive a dor abdominal, tão recorrente na clínica desta patologia. Então, após a efetividade da indução, avaliou-se a sensibilidade dos animais de diferentes formas. Dentre elas, a dor tóraxica mecânica foi medida pela aplicação dos filamentos de Von Frey de diferentes forças aplicadas (0,07; 0,16 e 1 g) em ordem crescente, não superior a 10 vezes cada, com intervalo de 1-2 segundos, no qual a resposta foi considerada positiva quando os animais retraíram ou lamberam o abdômen. Este modelo foi aplicado na região peritumoral dos animais com o tumor de S-180, que neste trabalho, intitulou-se como “Escore de sensibilidade mecânica”. O segundo modelo aplicado foi o caracterizado por Chaplan et al. (1994) como “Limiar de sensibilidade mecânica”, manifestado na pata traseira direita, possibilitando avaliar a dor periférica nos animais com tumor.

O modelo comportamental proposto neste estudo utilizou α -Fel em três tipos distintos de tratamento. Inicialmente, o cotratamento na figura 11, que avaliou o escore de sensibilidade mecânica, e na figura 12, que foi o limiar de sensibilidade mecânica. Os terpenos são formados de unidades de isoprenos que constituem uma parte relevante dos metabólitos secundários encontrados em diversas plantas com grande potencial terapêutico, que apresentam na literatura uma considerável variedade de efeitos anti-inflamatórios e antinociceptivos (SANTOS et al., 2019).

O cotratamento é um modelo utilizado para avaliar a capacidade de um determinado composto apresentar atividade antitumoral, o que poderia confundir com o efeito antinociceptivo proposto por este trabalho, pois se o composto inibir o desenvolvimento do tumor, indiretamente estará tratando dos danos provocados pelo câncer. Na figura 18, foi possível destacar uma porcentagem de inibição do crescimento tumoral em relação ao controle negativo. As doses analisadas foram de 25 mg/Kg v.o e 50 mg/Kg v.o do α -Fel que respectivamente inibiram 68,25 e 76,48%

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

do crescimento tumoral em comparação ao controle negativo. Obteve-se um resultado reprodutível na figura 19, pois mesmo com o tumor efetivamente instalado, o pós-tratamento subagudo foi com o α -Fel na dose de 50 mg/kg v.o ainda assim demonstrou capacidade de reduzir o tumor em 82,74%.

Destaca-se atualmente que mais de 70% das drogas anticâncer aprovadas em todo o mundo nas últimas sete décadas, são isolados ou derivados estruturais de produtos naturais (WU et al., 2015). Diversos estudos relatam atividade antitumoral de monoterpenos, como o efeito do carvacrol no carcinoma de células escamosas oral humano, onde o monoterpeno demonstrou inibir a proliferação celular, metástase e invasão, além de induzir a apoptose (DAI et al., 2016). De modo semelhante, o estudo de Islam et al. (2016) evidenciou que o carvacrol inibiu significativamente a viabilidade das células cancerígenas da próstata humana. Hsieh et al. (2014) sugeriu que o α -Fel poderia apresentar uma possível atividade antitumoral, por ter induzido necrose em células humanas de tumor de fígado, possivelmente por mecanismos que envolveriam a depleção de níveis de trifosfato de adenosina (ATP).

Hsieh et al. (2015) relatam a capacidade do α -Fel induzir autofagia em células tumorais de fígado humano regulando a expressão de mTOR, que é um receptor específico de indução autofágica em mamíferos e LC-3II, que é um indutor de autofagia. A sinalização de p53 pode induzir autofagia por ligação à região promotora de genes que codificam moduladores pró-autofágicos e ativação de NF-Kb, as quais resultam na liberação de proteínas de regulação autofágica (Beclin-1 e LC3-II).

Com os resultados presentes da figura 12, que avaliam a sensibilidade periférica dos animais, é possível visualizar uma sensibilidade periférica provocada pelo tumor, com exceção do grupo controle positivo 5-FU, que no 16º dia não apresentou efeito antinociceptivo. Observa-se que a terapia com antineoplásico é um importante fator de indução de neuropatia através de mecanismos que provocam danos neurais (VELASCO et al., 2017). A neuropatia via quimioterápicos é predominantemente sensorial e de gravidade moderada, na qual diferentes tratamentos podem induzir sintomas diferentes, por exemplo, hiperexcitabilidade aguda e hiperalgesia ao frio foram alguns sintomas descritos após a terapia com oxaliplatina (GEBER et al., 2013).

Outro parâmetro avaliado, foi o tratamento agudo dos animais com hipernocicepção oncológica já instalada provocada pelo tumor de S-180. Na figura 13, tem-se a avaliação direta no tecido peritumoral, no qual todas as doses do α -Fel, assim como o controle positivo morfina 10 mg/Kg, apresentam resultado satisfatório e reprodutivo com todos os filamentos utilizados, porém observa-se o início da perda de efetividade no último tempo avaliado, 240 minutos. Diversos monoterpenos apresentam ação antinociceptiva aguda, no qual é característico possível perda de atividade da substância após 4 horas de administração. Jiang et al. (2015), em seu estudo, demonstra o potencial antinociceptivo agudo do Borneol em modelo ACF e por ligadura segmentar do nervo espinal (LSN), no qual ocorre perda de efetividade 4 horas após a primeira administração. Nishijima et al. (2014) demonstrou a atividade do Citral (3,7-dimetil-2,6-octadienal), um monoterpeno de cadeia aberta, que possui atividade antinociceptiva aguda em dor induzida por formalina, com atividade demonstrada na primeira hora após administração e perda de atividade similar na quarta hora. Por fim, a última avaliação comportamental realizada foi no pós-tratamento subagudo com o α -Fel na figura 15. O α -Fel consegue diminuir a hipernocicepção provocada pelo tumor em todas as doses, porém as doses de 25 e 50 mg/Kg apresentam melhor resposta de inibição.

Os dados apresentados na tabela 1 demonstram que não existe diferença no tamanho do órgão nos diferentes tratamentos com α -Fel, de acordo com o controle positivo pregabalina e com o grupo falso inoculado sham em relação ao veículo. Entretanto, no grupo controle positivo 5-FU, observa-se um aumento do peso do coração em relação ao veículo. O 5-FU é o terceiro quimioterápico mais utilizado no tratamento de diversas neoplasias malignas sólidas em todo o mundo. Diferentes estudos relatam uma ampla incidência de cardiotoxicidade associada à administração de uma fluoropirimidina, e o 5-FU é o segundo medicamento mais comum associado à cardiotoxicidade (SARA et al., 2018). Na literatura, é possível observar diversos estudos clínicos prospectivos realizados para determinar a incidência de cardiotoxicidade do 5-FU. De Forni et al. (1992) mostrou que 367 pacientes receberam altas doses de 5-FU e desses, 7,6% desenvolveram cardiotoxicidade; 5,4% tinham dor torácica ou falta de ar; 2,2% angina instável e 1,1% morte súbita. Um total de 42 pacientes (idade mediana de 52 anos, variando de 34 a 82 anos) com carcinoma colorretal foram monitorados, no qual nesses pacientes o 5-FU atuou como um

adjuvante pós-operatório ou através de quimioterapia paliativa. Em todos esses pacientes foram avaliados os marcadores cardíacos peptídeo natriurético cerebral (BNP) e troponina I 14% tiveram elevações significativas de troponina I e 48% apresentaram elevações significativas de BNP (HOLUBEC et al., 2007). Vasoespasmo coronário é uma das principais teorias da isquemia miocárdica relacionada ao 5-FU e pode estar relacionado a um mecanismo dependente do endotélio (disfunção endotelial) ou a um mecanismo independente do endotélio (disfunção primária do músculo liso) (SARA et al., 2018).

Ao contrário do coração, os rins dos animais tratados com 5-FU apresentaram uma diminuição do tamanho em relação ao veículo e sham. O 5-fluorouracil (5-FU) apresenta diversos efeitos adversos, como cardiotoxicidade, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade. O 5-fluoro-2-desoxiuridina monofosfato é um metabólito do 5-FU, que é um inibidor irreversível da timidilato sintase, uma enzima fundamental para a síntese da timina (RASHID et al., 2014). Ela restringe a produção de desoxitimidina monofosfato (dTMP), que é crucial para a replicação e reparo do DNA e seu déficit e leva à toxicidade celular. Além disso, o 5-FU é catabolizado em diidrouacil no fígado, que é clivado em α -fluoro- β -alanina, amônia, ureia e dióxido de carbono, levando à neurotoxicidade (YOUSEF; ABOELWAFI, 2017). Os efeitos tóxicos provenientes do 5-FU são reprodutíveis, não só isoladamente nos órgãos, mas também como demonstrado na figura 14, com a diminuição do peso dos animais ao fim do cotratamento.

Nessa perspectiva, evidências recentes relatam que as células cancerosas apresentam altos níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO), como consequência de alterações metabólicas, genéticas e associadas ao microambiente (KHURANA et al., 2018). Os radicais livres de oxigênio são definidos como molécula de oxigênio contendo um ou mais elétrons não pareados em orbitais atômicos com papel significativo na sinalização celular e na homeostase (IHSAN et al., 2018).

Esses EROs elevam/causam estresse oxidativo, é definido como um desequilíbrio entre a produção e a neutralização de EROs, seja como resultado do aumento da produção ou da deficiência de mecanismos antioxidantes. Níveis elevados de estresse oxidativo têm sido associados a numerosas patologias, tais

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

como artrite reumatoide, Parkinson, Alzheimer, aterosclerose, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus (SAN MAURO MARTIN et al., 2019). O estresse oxidativo pode induzir alterações deletérias, particularmente no SNC, na modulação nociceptiva e na sensibilização central. Elevados níveis de EROs levam à sensibilização periférica e central e alteram a nocicepção, resultando em processo de hipernocicepção mediada por mecanismos oxidativos (POLLI et al., 2019).

Entre os mecanismos para combater o estresse oxidativo, destaca-se o sistema antioxidante que elimina radicais livres (LETE et al., 2018). A superóxido dismutase (SOD) é uma enzima antioxidante endógena que converte o superóxido em peróxido de hidrogênio (BARKER et al., 2019). A glutatona é um importante cofator antioxidante responsável pelo metabolismo em células vivas. É composta por três aminoácidos, (L-cisteína, L-glutamina e glicina), que atuam como forte doador de elétrons (NESAKUMAR; BERCHMANS; ALWARAPPAN, 2018). As suas funções mais importantes estão relacionados com a desintoxicação de xenobióticos ou oxidantes endógenos. Levando em conta o grande número de moléculas potencialmente deletérias que podem ser desintoxicadas de maneira dependente da GSH, é notável que deficiência no GSH seja algo potencialmente prejudicial à homeostase, o que tem sido associado às diversas condições patológicas dos sistemas biológicos, incluindo aquelas relacionadas ao SNC (FARINA; ASCHNER, 2019). Nesse contexto, avaliou-se a ação do α -Fel sobre a produção de EROs. A dose de 25 mg/kg v.o aumentou os níveis de GSH em conjunto com o controle positivo em relação ao veículo, efeito esse que corrobora diretamente com os níveis de TBRAS, partindo da capacidade do GSH em eliminar os radicais livres, reduzir os peróxidos e conjugar-se com componentes eletrofílicos através de reações enzimáticas e não enzimáticas.

Espécies reativas de oxigênio aumentadas durante o estresse oxidativo, iniciam uma reação denominada peroxidação lipídica que afeta, particularmente os fosfolípidios que contêm ácidos graxos poli-insaturados (LORENTE et al., 2018). Isso resulta na formação de peróxidos lipídicos que podem se decompor em produtos secundários, como malondialdeído (MDA)(BUSCH, 2017). A peroxidação lipídica aumentada acompanha numerosas patologias com um componente inflamatório, como evidenciado pela detecção de produtos finais de peroxidação lipídica em doenças cardiovasculares, pulmonares, hepáticas, cancerosas e neurodegenerativas

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

(LIU et al., 2017b). O α -Fel nas doses de 25 e 50 mg/kg v.o reduziu os níveis de TBARS, que é um subproduto da peroxidação lipídica em conjunto com o controle positivo pregabalina 10 mg/kg v.o caracterizando uma possível proteção contra a peroxidação lipídica.

As utilizações preventivas e terapêuticas de antioxidantes têm sido relatados para reduzir não só os parâmetros oxidativos relacionadas com o estresse, mas também a resposta inflamatória e dor nas várias doenças. Atualmente, 9 canais TRP (TRPA1, TRPC5, TRPM2, TRPM4, TRPM7, TRPV1, TRPV2, TRPV3 e TRPV4) são demonstrados como sendo ativados por estresse oxidativo. As expressões destes canais são muito diferentes nos tecidos e células. Foi observado que os níveis de expressão de quatro canais TRP (TRPA1, TRPM2, TRPV1 e TRPV4) são altos em neurônios relacionados à nocicepção. (KISTNER et al., 2016). Terapias com antioxidante apresentaram diversos resultados promissores, reduzindo significativamente a resposta inflamatória (TNF- α , IL-1 β e IL-6). Além disso, pesquisadores também observaram a participação da prevenção de processos apoptóticos através de modulação de espécies reativas de oxigênio (CARRASCO et al., 2018).

Os monoterpenos, como o 1,8-cineole, geraniol o linalol, são alguns exemplos interessantes a serem explorados como antioxidantes (NOACCO et al., 2018). O α -Terpineol (α -Ter) está presente em uma ampla gama de óleos essenciais do gênero "*Eucalyptus*" com uma vasta gama de efeitos biológicos, com reconhecido potencial analgésico. O α -Ter diminuiu a nocicepção induzida pela inoculação de células S-180 na pata de camundongos, demonstrou a capacidade de aumentar a concentração de GSH, sugerindo que o α -Ter reduz o estresse oxidativo induzido por S-180 e, também, atenuou, os níveis de óxido nítrico, que participam diretamente na manutenção da sensibilização central e periférica através de mecanismos inflamatórios e neuropáticos por modulação de citocinas, fatos esses que podem contribuir para a redução das respostas nociceptivas induzidas pelas células tumorais (GOUVEIA et al., 2018).

O sistema opióide está diretamente relacionado com a modulação e controle da dor através de mecanismos inibitórios da condução e impulsos na medula espinal (ASLAKSEN; FORSBERG; GJERSTAD, 2018). A morfina é um alcaloide fenantreno

e varia entre os analgésicos mais utilizados para tratar desde a dor moderada à grave na prática clínica. O grupo hidroxilfenólico da morfina é crucial para a sua ligação aos receptores opióides e confere diretamente suas propriedades analgésicas (NYSSSEN et al., 2018).

Na figura 23 e na tabela 3, é possível observar através do método de docagem molecular a afinidade do α -Fel aos três receptores opioides humanos “clássicos”, o mu (μ), kappa (K) e delta (δ) (BAO et al., 2019). Em comparação com a morfina, o processo de docagem molecular avalia a geometria espacial e a energia livre de ativação durante a ligação ou “encaixe” da molécula ao receptor alvo (LIU et al., 2018). Através das interações moleculares, é possível desvendar diversos processos biomoleculares. A simulação computacional é uma ferramenta científica utilizada como meio de análise que possibilita a compreensão desses processos moleculares (LENGAUER; RAREY, 1996). O desenvolvimento de novos fármacos é uma das tarefas mais desafiadoras da ciência atual. A utilização de técnicas de ancoragem molecular é uma forma inovadora de determinar o desempenho de diversos candidatos a fármacos. A técnica de ancoragem foi projetada para encontrar a conformação correta de um ligante e seu receptor e apresenta uma vasta aplicação no desenvolvimento de pesquisa farmacológica. O processo de ligar uma molécula ao seu alvo proteico não é simples; vários fatores (entropia e entalpia), mobilidade do ligante e do receptor, o efeito do ambiente proteico na distribuição de carga sobre o ligante e suas interações com as moléculas de água ao redor influenciam as interações entre eles. A ideia por trás dessa técnica é gerar um conjunto abrangente de conformações do complexo receptor e ligante e classificá-lo de acordo com sua estabilidade (ALONSO; BLIZNYUK; GREARY, 2006).

Na docagem molecular, foi avaliada a energia livre de ativação do α -Fel e da Morfina para efeito de comparação, frente aos receptores opióides μ , δ e K. Como esperado, a morfina apresentou uma energia livre de ativação menor que zero, o mesmo acontecendo com o α -Fel, sugerindo o seu efeito opióide.

Diversos monoterpênos apresentam interações com receptores opióides. Os dados apresentados na figura 19 corroboram com o resultado demonstrado pela ancoragem molecular. Outras estruturas quimicamente relacionadas são

apresentadas na literatura com resultado semelhante, como o Isopulegol (ISO). O pré-tratamento dos animais com o antagonista não seletivo dos receptores opióides naloxona foi capaz de reduzir a antinocicepção do ISO, sugerindo uma possível ação antinociceptiva através do sistema opióide, por se ligar a receptores opióides ou por induzir a liberação de opióides endógenos (ANDRADE PRÓSPERO et al., 2018). A participação no sistema opióide pelo α -Fel foi demonstrado quando a naloxona foi associada com o α -Fel na dose de 100 mg/kg, v.o, mostrando a reversão da anti-hipernocicepção do α -Fel na hipersensibilidade mecânica induzida por ACF (FRANÇA, 2018).

Nessa perspectiva, o ácido γ -aminobutírico (GABA) também está amplamente distribuído no SNC, incluindo a região supra-espinhal e espinais e está envolvido diretamente na transmissão de sinais de dor aferentes e vias descendentes de modulação da dor (THIAUCOURT et al., 2018). Esse neurotransmissor apresenta a capacidade de modular a atividade do SNC por meio da ação no receptor inotrópico GABA_A mediando a excitabilidade neural através regulação do ânion Cl⁻ (HUANG; GRAU, 2018).

Na figura 21, é possível sugerir uma possível participação do α -Fel no sistema GABAérgico, visto a capacidade da bicuculina, um antagonista GABA_A, ter apresentado a capacidade de diminuir a atividade antinociceptiva do α -Fel. Os canais iônicos são proteínas de membrana que controlam a passagem de íons (Na⁺, K⁺, Ca²⁺ ou Cl⁻) através da membrana celular. A permeação de íons por esses canais é a base fundamental da excitabilidade celular. Diversos monoterpenos apresentam interação com esses receptores, como o mentol que potencializa as propriedades funcionais dos receptores GABA_A; o timol, que tem efeito direto nas correntes de entrada de cloreto receptores GABA_A (OZ et al., 2015); o carvacrol, que é um monoterpeno com estrutura semelhante ao α -Fel e destacou-se por apresentar propriedades neuromoduladoras e diminuição da hipernocicepção oncológica provocada por S-180 em tumor intraplantar possivelmente por efeito direto em receptor GABA (GUIMARÃES et al., 2014).

O processo fisiológico da nocicepção encontra-se em estado de hiperexcitabilidade durante processos inflamatórios perante a liberação densa de

mediadores inflamatórios. A hiperatividade das fibras sensoriais é um reflexo do organismo a danos teciduais como a (carcinogênese), levando à dor aguda ou crônica (DE FREITAS PIRES et al., 2019).

O fator de necrose tumoral (TNF) é uma das principais citocinas pró-inflamatórias do organismo. É sintetizada e liberada em forma solúvel em resposta à inflamação tecidual ou à lesão por diversos tipos de células (macrófagos, mastócitos, células de Schwann e células endoteliais). O TNF é capaz de induzir hiperalgesia aguda por afetar a função de nervos periféricos, por mecanismo indireto através da ativação de resposta imune e liberação de outras citocinas pró-inflamatórias, bem como prostaglandinas (PGs) e aminas simpáticas. O TNF desempenha um papel crucial na regulação do sistema trigeminal e hiperalgesia mediada por TRPV1 (LIS et al., 2017) e sua superprodução está diretamente relacionada a alterações estruturais sinápticas de neurônios espinais e hipocampais associados com dor crônica (LIU et al., 2017a). Diversas evidências demonstram que o aumento de TNF- α após a lesão nervosa, contribui diretamente para aumento da excitabilidade de nervos não lesionados, desencadeando processos neuropáticos (KALLIOMÄKI et al., 2016). O α -Fel apresentou a capacidade de reduzir os níveis de TNF- α .

Além disso, o α -Fel demonstrou capacidade de diminuir os níveis de interleucina 1 β (IL-1 β), uma citocina pró-inflamatória com importantes funções homeostáticas no organismo normal, porém o aumento da produção de IL-1 β está implicada em diversas alterações fisiopatológicas. Ela pode ser liberada por diversas células (endoteliais, gliais, Schwann, micróglia, astrócitos, fibroblastos, macrófagos e mastócitos) (REN; TORRES, 2009). Condições neuropáticas apresentam elevados níveis de IL-1 β , possivelmente por ativação das raízes dorsais ganglionares neurais e por aumento da atividade da medula espinal (HUNG; LIM; DOSHI, 2017).

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina que está envolvida em inúmeros processos é produzida pelas células estromas, monócitos e linfócitos, e sua expressão é aumentada pela IL-1 β e TNF- α (YE et al., 2018). A IL-6 participa de diversos processos imunes, inflamatórios e neuropáticos pela ótica do estudo desenvolvido. Ressalta-se a sinalização clássica, que é mediada pelo receptor de IL-6 ligado à membrana (mbIL-6R). A IL-6 liga o mbIL-6R, levando ao recrutamento de gp130, que

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

ativa a JAK1 e JAK2, levando à fosforilação dos fatores de transcrição (STAT1 e STAT3). Inibidores de JAKs, são alvos potenciais desenvolvidos para o tratamento de diversas doenças inflamatórias e cancerígenas (JONES; MAERZ; BUCKNER, 2018). O α -Fel demonstrou a capacidade de reduzir os níveis de IL-6 que tem um papel essencial na sinalização no SNC. Serizawa et al., (2018) demonstrou que a administração de anticorpo de receptor anti-IL-6 diminuiu a sensibilidade à dor em modelo de encefalomielite experimental autoimune em animais.

O α -Fel também exibiu a capacidade de reduzir os níveis de interleucina-4 (IL-4), que é uma citocina produzida por um subgrupo de células T CD4 +, TH2, por basófilos e mastócitos (NELMS et al., 1999), macrófagos, células dendríticas, células natural killer (NK) e eosinófilos (KOLLER et al., 2010). A IL-4 desempenha um papel central na regulação da diferenciação de células T, participa na estimulação e liberação de IL-5, 10 e 13, inibe a produção de Interferons (IFN) por células TCD4 (PAUL, 2015). A IL-4 encontra-se superexpressa em cânceres humanos e de roedores (WANG; JOYCE, 2010). A IL-4 pode se ligar a três diferentes cadeias receptoras, predominantemente nas células cancerígenas através do complexo IL-4R do tipo II (IL-4R α e IL-13R α 1) e fosforila STAT6, levando ao aumento ou diminuição da proliferação e resistência apoptótica (SUZUKI et al., 2015).

Nesse contexto, no estudo realizado por De Christo Scherer et al. (2019) em macrófagos, o α -Fel diminuiu os níveis intracelulares de NO e ânion superóxido, indicando que o α -Fel pode reduzir o estresse oxidativo intracelular. Foi demonstrado também que a produção de IL-6 e TNF- α por fibroblastos foi significativamente suprimido pelo α -Fel.

O resultado apresentado na figura 25 configura uma possível capacidade do α -Fel em modular a atividade inflamatória de diversas citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 e a pro-carcinogênica da IL-4. Os monoterpenos são exemplos de produtos naturais que demonstraram um perfil promissor, como agentes que modificam o processo inflamatório através da modulagem de diversos mediadores da cascata inflamatória, como as citocinas. Através da redução de uma ou mais citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 foi observada, em quase todos os monoterpenos estudados, aumento da citocina anti-inflamatória IL-10, os quais mostraram ter um

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

efeito anti-inflamatório. TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A, IFN γ e TGF- β 1 são alguns exemplos de mediadores inflamatórios que os monoterpenos como α -terpineol, mentol e carvacrol apresentam na literatura capacidade de modular (QUINTANS et al., 2019).

A dor oncológica é diferente de outras formas de dor (aguda ou crônica), pois apresenta-se em vários sistemas (somáticos e viscerais) de vias neuropáticas. A dor descontrolada é mediada através da sensibilização dos nervos periféricos e centrais, com subsequentes alterações neuropáticas na estrutura e função dos nervos, de modo a amplificar, prolongar e disseminar a dor (ARNSTEIN, 2018). Quando o tumor envolve os nervos, as cápsulas viscerais e os ossos, ocorre uma forma singular de lesão e compressão celular, propiciando alterações neuroimunes que excretam diferentes substâncias neuroinflamatórias que são recrutadas para liberar substâncias químicas pró-inflamatórias, promovendo o crescimento de novos nervos que aumentam ainda mais a sensibilidade, provocando hiperalgesia e alodinia enquanto outras alterações nervosas perpetuam a sinalização da dor, mesmo após o estímulo ter passado (BROWN; RAMIREZ, 2015).

Por certo, de acordo com a hipótese apresentada por Gouveia et al. (2018c), tem-se que a dor oncológica apresenta-se por mecanismos complexos e multifatoriais, que envolvem processos oxidativos e inflamatórios, em que, durante a carcinogêneses, estarão hiperativos resultando em hiperexcitabilidade sensorial, provocando dor crônica do tipo neuropática. Este processo apresenta uma vasta gama de sítios de atuação, e aquela substância que apresentar capacidade de modular um ou várias etapas do processo, conseqüentemente, apresentará ação antinociceptiva em mecanismos de nocicepção oncológica. No estudo realizado, o α -Fel apresentou capacidade multifuncional na modulação dos processos que envolvem a fisiopatologia da dor oncológica. Infere-se, a partir desta análise, a importância de estudos posteriores para delinear completamente os mecanismos de ação por meio dos quais o α -Fel exercerá a atividade antinociceptiva destacada.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

No estudo farmacológico da ação antinociceptiva do α -Fel em modelo de dor oncológica pode-se concluir que:

- Apresentou efeito antialodínico: Cotratamento, tratamento agudo e pós-tratamento subagudo
- Foi capaz de reduzir o tamanho do tumor no cotratamento e pós-tratamento subagudo
- Não demonstrou alteração significativa na massa relativa dos órgãos (coração, pulmão, rins, fígado e baço) e massa corporal dos animais.
- Demonstrou ação antioxidante por diminuir os níveis de TBARS e aumentar a concentração de GSH.
- Foi capaz de modular dos níveis citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-4 e IL-6).
- Demonstrou participação no sistema opióide e GABAérgico.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABE, T. et al. Electrophysiological findings in adult patients with neoplastic plexopathies. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 381, p. 484–485, 15 out. 2017.

ABESHOUSE, A. et al. Comprehensive and Integrated Genomic Characterization of Adult Soft Tissue Sarcomas. **Cell**, v. 171, n. 4, p. 950- 965.e28, 2 nov. 2017.

AL-HASANI, R.; BRUCHAS, M. R. Molecular Mechanisms of Opioid Receptor-dependent Signaling and Behavior. **Anesthesiology**, v. 115, n. 6, p. 1, 1 out. 2011.

ALONSO, H.; BLIZNYUK, A. A.; GREASY, J. E. Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design. **Medicinal Research Reviews**, v. 26, n. 5, 2006.

ANDRADE PRÓSPERO, D. F. et al. Effects of isopulegol in acute nociception in mice: Possible involvement of muscarinic receptors, opioid system and l-arginine/NO/cGMP pathway. **Chemico-Biological Interactions**, v. 293, p. 55–60, 25 set. 2018.

ANUFORO, O. U. U. et al. Natural killer cells play an essential role in resolution of antigen-induced inflammation in mice. **Molecular Immunology**, v. 93, p. 1–8, 1 jan. 2018.

ARNOLD, W. D. et al. Electrodiagnostic Findings heralding Neoplastic Brachial Plexopathy. **PM&R**, v. 4, n. 3, p. 238–240, 1 mar. 2012.

ARNSTEIN, P. Adult Cancer Pain: An Evidence-Based Update. **Journal of Radiology Nursing**, v. 37, n. 1, p. 15–20, 1 mar. 2018.

ASLAKSEN, P. M.; FORSBERG, J. T.; GJERSTAD, J. The opioid receptor mu 1 (OPRM1) rs1799971 and catechol-O-methyltransferase (COMT) rs4680 as genetic markers for placebo analgesia. **PAIN**, v. 159, n. 12, p. 2585–2592, dez. 2018.

ATTAL, N. Pharmacological treatments of neuropathic pain: The latest recommendations. **Revue Neurologique**, 11 out. 2018.

AUSTIN, A. E.; SHANAHAN, M. E.; ZVARA, B. J. Association of childhood abuse and prescription opioid use in early adulthood. **Addictive Behaviors**, v. 76, p. 265–269, 1

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
jan. 2018.

BAO, W. et al. Opioid neurobiology, neurogenetics and neuropharmacology in zebrafish. **Neuroscience**, 31 jan. 2019.

BARKER, T. et al. Muscular-based and patient-reported outcomes differentially associate with circulating superoxide dismutases and cytokines in knee osteoarthritis. **Cytokine**, v. 115, p. 45–49, 1 mar. 2019.

BECHAKRA, M. et al. Opioid responsiveness of nociceptive versus mixed pain in clinical cancer patients. **European Journal of Cancer**, v. 105, p. 79–87, dez. 2018.

BECKINGSALE, T. B.; SHAW, C. Epidemiology of bone and soft-tissue sarcomas. **Orthopaedics and Trauma**, v. 31, n. 3, p. 144–150, 1 jun. 2017.

BELL, A. The neurobiology of acute pain. **The Veterinary Journal**, v. 237, p. 55–62, 1 jul. 2018.

BHALLA, S.; ANDURKAR, S. V. Neurobiology of opioid withdrawal: Role of the endothelin system. **Life Sciences**, v. 159, p. 34–42, 15 ago. 2016.

BIALAS, P. et al. Pain in tones – Is it possible to hear the pain quality? A pilot trial. **Patient Education and Counseling**, 11 ago. 2018.

BLACKBURN, L. M. et al. The Use of Comfort Kits to Optimize Adult Cancer Pain Management. **Pain Management Nursing**, 1 mar. 2018.

BÖTTCHER, B. et al. Impact of the opioid system on the reproductive axis. **Fertility and Sterility**, v. 108, n. 2, p. 207–213, 1 ago. 2017.

BRADMAN, M. J. G. et al. Practical mechanical threshold estimation in rodents using von Frey hairs/Semmes–Weinstein monofilaments: Towards a rational method. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 255, p. 92–103, 30 nov. 2015.

BROWN, M. R. D.; RAMIREZ, J. D. Neuroimmune mechanisms in cancer pain. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 9, n. 2, p. 103–111, 2015.

BURRELL, B. D. Comparative biology of pain: What invertebrates can tell us about

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
how nociception works. **Journal of neurophysiology**, v. 117, n. 4, p. 1461–1473, 1 abr. 2017.
- BUSCH, C. J. Malondialdehyde epitopes as mediators of sterile inflammation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1862, n. 4, p. 398–406, 1 abr. 2017.
- CALTAGIRONE, C.; SPOLETINI, I.; SPALLETTA, G. Inadequate pain relief and consequences in oncological elderly patients. **Surgical Oncology**, v. 19, n. 3, p. 178–183, 1 set. 2010.
- CARRASCO, C. et al. Neuropathic Pain: Delving into the Oxidative Origin and the Possible Implication of Transient Receptor Potential Channels. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 95, 2018.
- CARROLL, I.; MACKEY, S.; GAETA, R. The role of adrenergic receptors and pain: The good, the bad, and the unknown. **Seminars in Anesthesia, Perioperative Medicine and Pain**, v. 26, n. 1, p. 17–21, 1 mar. 2007.
- CATA, J. P. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the oncological surgical population: beneficial or harmful? A systematic review of the literature. **British Journal of Anaesthesia**, v. 119, n. 4, p. 750–764, 1 out. 2017.
- CATTARUZZA, F. et al. Transient receptor potential ankyrin 1 mediates chronic pancreatitis pain in mice. **American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology**, v. 304, n. 11, p. G1002-12, 1 jun. 2013.
- CDC- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Understanding the Epidemic | Drug Overdose | CDC Injury Center**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/drugoverdose/epidemic/index.html>>. Acesso em: 18 mar. 2019.
- CHAKRAVARTHY, S. et al. The many facets of dopamine: Toward an integrative theory of the role of dopamine in managing the body's energy resources. **Physiology & Behavior**, v. 195, p. 128–141, 15 out. 2018.
- CHAPLAN, S. R. et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 53, n. 1, p. 55–63, 1 jul. 1994.

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
- DAI, W. et al. Carvacrol suppresses proliferation and invasion in human oral squamous cell carcinoma. **OncoTargets and therapy**, v. 9, p. 2297–304, 2016.
- DE CHRISTO SCHERER, M. M. et al. Wound healing activity of terpinolene and α -phellandrene by attenuating inflammation and oxidative stress in vitro. **Journal of Tissue Viability**, 14 fev. 2019.
- DE FORNI, M. et al. Cardiotoxicity of high-dose continuous infusion fluorouracil: a prospective clinical study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 10, n. 11, p. 1795–1801, nov. 1992.
- DE FREITAS PIRES, A. et al. Lectin purified from Lonchocarpus campestris seeds inhibits inflammatory nociception. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 53–60, 15 mar. 2019.
- DIB-HAJJ, S. D. et al. Voltage-gated sodium channels in pain states: Role in pathophysiology and targets for treatment. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 65–83, 1 abr. 2009.
- ELLISON, D. L. Physiology of Pain. **Critical Care Nursing Clinics of North America**, v. 29, n. 4, p. 397–406, 1 dez. 2017.
- FARINA, M.; ASCHNER, M. Glutathione antioxidant system and methylmercury-induced neurotoxicity: An intriguing interplay. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, 16 jan. 2019.
- FIELDS, H. L.; MARGOLIS, E. B. Understanding opioid reward. **Trends in Neurosciences**, v. 38, n. 4, p. 217–225, 1 abr. 2015.
- FINNERUP, N. B. et al. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. **Pain**, v. 157, n. 8, p. 1599–606, 2016.
- FOUQUET, G. et al. Serotonin, hematopoiesis and stem cells. **Pharmacological Research**, 11 ago. 2018.
- FRANÇA, A. R. D. S. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO α -FELANDRENO COMPLEXADO COM β -CICLODEXTRINA NO MODELO DE DOR**

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

INFLAMATÓRIA CRÔNICA EM RATAS. [s.l.] UFPI, 2018.

GARLAND, E. L. Pain Processing in the Human Nervous System: A Selective Review of Nociceptive and Biobehavioral Pathways. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 39, n. 3, p. 561–571, 1 set. 2012.

GARZOLI, S. et al. Multidisciplinary Approach to Determine the Optimal Time and Period for Extracting the Essential Oil from *Mentha suaveolens* Ehrh. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 20, n. 6, p. 9640–55, 26 maio 2015.

GEBER, C. et al. Pain in chemotherapy-induced neuropathy – More than neuropathic? **PAIN®**, v. 154, n. 12, p. 2877–2887, 1 dez. 2013.

GHITANI, N. et al. Specialized Mechanosensory Nociceptors Mediating Rapid Responses to Hair Pull. **Neuron**, v. 95, n. 4, p. 944- 954.e4, 16 ago. 2017.

GIORNO, T. B. S. et al. Antinociceptive effect and mechanism of action of isatin, N-methyl isatin and oxopropyl isatin in mice. **Life Sciences**, v. 151, p. 189–198, 15 abr. 2016.

GOUVEIA, D. N. et al. α -Terpineol reduces cancer pain via modulation of oxidative stress and inhibition of iNOS. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 652–661, 1 set. 2018a.

GOUVEIA, D. N. et al. α -Terpineol reduces cancer pain via modulation of oxidative stress and inhibition of iNOS. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 652–661, 1 set. 2018b.

GOUVEIA, D. N. et al. Natural products as a perspective for cancer pain management: a systematic review. **Phytomedicine**, 22 nov. 2018c.

GUIMARÃES, A. G. et al. Evidence for the involvement of descending pain-inhibitory mechanisms in the attenuation of cancer pain by carvacrol aided through a docking study. **Life Sciences**, v. 116, n. 1, p. 8–15, 22 out. 2014.

HALEEM, D. J. Serotonin-1A receptor dependent modulation of pain and reward for improving therapy of chronic pain. **Pharmacological Research**, v. 134, p. 212–219, 1

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

ago. 2018.

HASHEMI, S. M. B. et al. Efficiency of Ohmic assisted hydrodistillation for the extraction of essential oil from oregano (*Origanum vulgare* subsp. *viride*) spices. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 41, p. 172–178, 1 jun. 2017.

HASSIOTIS, C. N. The role of aromatic *Salvia officinalis* L. on the development of two mycorrhizal fungi. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 77, p. 61–67, 1 abr. 2018.

HEINRICHER, M. M. et al. Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 214–225, 1 abr. 2009.

HOLTZ, L. et al. Oncologic Pain Attitudes, Intensity And Treatment In Brazil. **Value in Health**, v. 20, n. 9, p. A877, 1 out. 2017.

HOLUBEC, L. et al. Dynamic monitoring of cardio-specific markers and markers of thyroid gland function in cancer patients--a pilot study. **ANTICANCER RESEARCH**, v. 27, p. 1883–1886, 2007.

HSIEH, L.-C. et al. Induction of α -Phellandrene on Autophagy in Human Liver Tumor Cells. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 43, n. 01, p. 121–136, jan. 2015.

HSIEH, S.-L. et al. Induction of Necrosis in Human Liver Tumor Cells by α -Phellandrene. **Nutrition and Cancer**, v. 66, n. 6, p. 970–979, 18 ago. 2014.

HUANG, Y.-J.; GRAU, J. W. Ionic plasticity and pain: The loss of descending serotonergic fibers after spinal cord injury transforms how GABA affects pain. **Experimental Neurology**, v. 306, p. 105–116, 1 ago. 2018.

HUDSPITH, M. J. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 17, n. 9, p. 425–430, 1 set. 2016.

HUI, J. Y. C. Epidemiology and Etiology of Sarcomas. **Surgical Clinics of North America**, v. 96, n. 5, p. 901–914, 1 out. 2016.

HUNG, A. L.; LIM, M.; DOSHI, T. L. Targeting cytokines for treatment of neuropathic

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

pain. **Scandinavian Journal of Pain**, v. 17, p. 287–293, 1 out. 2017.

HUNG, V. K. L. et al. Over-expression of endothelin-1 in astrocytes, but not endothelial cells, ameliorates inflammatory pain response after formalin injection. **Life Sciences**, v. 91, n. 13–14, p. 618–622, 15 out. 2012.

IHSAN, A. U. et al. Role of oxidative stress in pathology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and male infertility and antioxidants function in ameliorating oxidative stress. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 714–723, 1 out. 2018.

IMMKE, D. C.; GAVVA, N. R. The TRPV1 receptor and nociception. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 17, n. 5, p. 582–591, 1 out. 2006.

ING, J. W. Head and Neck Cancer Pain. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v. 50, n. 4, p. 793–806, 1 ago. 2017.

ISLAM, M. T. et al. Therapeutic Potential of Essential Oils Focusing on Diterpenes. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 9, p. 1420–1444, 1 set. 2016.

JIANG, J. et al. (+)-Borneol alleviates mechanical hyperalgesia in models of chronic inflammatory and neuropathic pain in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 757, p. 53–58, 15 jun. 2015.

JONES, B. E.; MAERZ, M. D.; BUCKNER, J. H. IL-6: a cytokine at the crossroads of autoimmunity. **Current Opinion in Immunology**, v. 55, p. 9–14, 1 dez. 2018.

KALLIOMÄKI, M.-L. et al. Genetic susceptibility to postherniotomy pain. The influence of polymorphisms in the Mu opioid receptor, TNF- α , GRIK3, GCH1, BDNF and CACNA2D2 genes. **Scandinavian Journal of Pain**, v. 12, p. 1–6, 1 jul. 2016.

KHURANA, R. K. et al. Administration of antioxidants in cancer: debate of the decade. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 4, p. 763–770, 1 abr. 2018.

KISTNER, K. et al. Systemic desensitization through TRPA1 channels by capsazepine and mustard oil - a novel strategy against inflammation and pain. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 28621, 30 set. 2016.

KIYAMA, R. Estrogenic terpenes and terpenoids: Pathways, functions and

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica applications. **European Journal of Pharmacology**, v. 815, p. 405–415, 15 nov. 2017.
- KOLAJ, I.; IMINDU LIYANAGE, S.; WEAVER, D. F. Phenylpropanoids and Alzheimer's disease: A potential therapeutic platform. **Neurochemistry International**, v. 120, p. 99–111, 1 nov. 2018.
- KOLLER, F. L. et al. Epithelial interleukin-4 receptor expression promotes colon tumor growth. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 6, p. 1010–7, jun. 2010.
- KRAWCZYK, N. et al. Rising Trends of Prescription Opioid Sales in Contemporary Brazil, 2009–2015. **American Journal of Public Health**, v. 108, n. 5, p. 666–668, maio 2018.
- KRAYCHETE, D. C.; SAKATA, R. K. Use and Rotation of Opioids in Chronic Non-oncologic Pain. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 62, n. 4, p. 554–562, 1 jul. 2012.
- LENGAUER, T.; RAREY, M. Computational methods for biomolecular docking. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 6, n. 3, p. 402–406, 1 jun. 1996.
- LETE, I. et al. Effectiveness of an antioxidant preparation with N-acetyl cysteine, alpha lipoic acid and bromelain in the treatment of endometriosis-associated pelvic pain: LEAP study. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 228, p. 221–224, 1 set. 2018.
- LIMA, D. F. et al. Antinociceptive activity of the monoterpene α -phellandrene in rodents: possible mechanisms of action. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 2, p. 283–292, 1 fev. 2012.
- LIS, K. et al. Inhibition of TNF reduces mechanical orofacial hyperalgesia induced by Complete Freund's Adjuvant by a TRPV1-dependent mechanism in mice. **Pharmacological Reports**, v. 69, n. 6, p. 1380–1385, 1 dez. 2017.
- LIU, Y. et al. TNF- α Differentially Regulates Synaptic Plasticity in the Hippocampus and Spinal Cord by Microglia-Dependent Mechanisms after Peripheral Nerve Injury. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 37, n. 4, p. 871–881, 2017a.

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
- LIU, Z. et al. Malondialdehyde: A novel predictive biomarker for post-stroke depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 220, p. 95–101, 1 out. 2017b.
- LIU, Z. et al. Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: A review. **Chemosphere**, v. 203, p. 139–150, 1 jul. 2018.
- LORENTE, L. et al. Serum Malondialdehyde Levels and Mortality in Patients with Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. **World Neurosurgery**, v. 113, p. e542–e547, 1 maio 2018.
- LUTZ, P.-E.; KIEFFER, B. L. Opioid receptors: distinct roles in mood disorders. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 3, p. 195–206, 1 mar. 2013.
- MAGALHÃES, H. I. F. et al. In vitro and in vivo antiproliferative activity of calotropis procera stem extracts. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, n. 2, p. 407–416, 2010.
- MARTÍNEZ, A. et al. Antinociceptive Effect and GC/MS Analysis of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil from its Aerial Parts. **Planta Medica**, v. 75, n. 05, p. 508–511, 30 abr. 2009.
- MCDONALD, J.; LAMBERT, D. G. Opioid mechanisms and opioid drugs. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 17, n. 9, p. 464–468, 1 set. 2016.
- MCMACKIN, M. Z. et al. Use of von Frey filaments to assess nociceptive sensitization in the hornworm, *Manduca sexta*. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 257, p. 139–146, 15 jan. 2016.
- MEGAT, S.; PRICE, T. J. Therapeutic opportunities for pain medicines via targeting of specific translation signaling mechanisms. **Neurobiology of Pain**, v. 4, p. 8–19, 1 ago. 2018.
- MENDES, G. L. et al. Assessment of mechanisms involved in antinociception caused by sesquiterpene polygodial. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 292, n. 1, p. 164–72, jan. 2000.

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
- MERCADANTE, S.; BRUERA, E. Opioid switching in cancer pain: From the beginning to nowadays. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 99, p. 241–248, 1 mar. 2016.
- MERCADANTE, S.; CUOMO, A. Breakthrough Cancer Pain: Ten Commandments. **Value in Health**, v. 19, n. 5, p. 531–536, 1 jul. 2016.
- MILLAN, M. J.; COLPAERT, F. C. Opioid systems in the response to inflammatory pain: sustained blockade suggests role of kappa- but not mu-opioid receptors in the modulation of nociception, behaviour and pathology. **Neuroscience**, v. 42, n. 2, p. 541–53, 1991.
- NAGARAJU, S. et al. Case Report: Primary De Novo Sarcoma In Transplant Pancreas Allograft. **Transplantation Proceedings**, v. 49, n. 10, p. 2352–2354, 1 dez. 2017.
- NASCIMENTO, L. et al. **COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Unxia camphorata* L.f. (Asteraceae) COM OCORRÊNCIA NA CAMPINA DE ACARÁ, PARÁ.** [s.l: s.n.].
- NASER, P. V. R. K. Molecular, Cellular and Circuit Basis of Cholinergic Modulation of Pain. **Neuroscience**, v. 387, p. 135–148, 1 set. 2018.
- NELMS, K. et al. THE IL-4 RECEPTOR: Signaling Mechanisms and Biologic Functions. **Annual Review of Immunology**, v. 17, n. 1, p. 701–738, 28 abr. 1999.
- NESAKUMAR, N.; BERCHMANS, S.; ALWARAPPAN, S. Chemically modified carbon based electrodes for the detection of reduced glutathione. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 264, p. 448–466, 1 jul. 2018.
- NISHIJIMA, C. M. et al. Citral: A monoterpene with prophylactic and therapeutic anti-nociceptive effects in experimental models of acute and chronic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 736, p. 16–25, 5 ago. 2014.
- NOACCO, N. et al. Simple colorimetric method to determine the in vitro antioxidant activity of different monoterpenes. **Analytical Biochemistry**, v. 555, p. 59–66, 15 ago. 2018.

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
- NYSSSEN, P. et al. Morphine, a potential inhibitor of myeloperoxidase activity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1862, n. 10, p. 2236–2244, 1 out. 2018.
- OLADOSU, F. A.; TU, F. F.; HELLMAN, K. M. Nonsteroidal antiinflammatory drug resistance in dysmenorrhea: epidemiology, causes, and treatment. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 218, n. 4, p. 390–400, 1 abr. 2018.
- OMONIJO, F. A. et al. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. **Animal Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 126–136, 1 jun. 2018.
- OZ, M. et al. Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cellsOZ, M. et al. Effects of monoterpenes on ion channels of excitable cells. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 152, p. 83–97, 1 ago. 2015. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 152, p. 83–97, 1 ago. 2015.
- PALHARES, M. R. et al. Synergistic antinociceptive effect of a calcium channel blocker and a TRPV1 blocker in an acute pain model in mice. **Life Sciences**, v. 182, p. 122–128, 1 ago. 2017.
- PARDO-FERNÁNDEZ, J.; GARCÍA-SOBRINO, T.; COSTA-ARPÍN, E. Neuropatías, radiculopatías y plexopatías. **Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 11, n. 78, p. 4698–4710, 1 maio 2015.
- PAUL, W. E. History of interleukin-4. **Cytokine**, v. 75, n. 1, p. 3–7, 1 set. 2015.
- PINHO-RIBEIRO, F. A.; VERRI, W. A.; CHIU, I. M. Nociceptor Sensory Neuron–Immune Interactions in Pain and Inflammation. **Trends in Immunology**, v. 38, n. 1, p. 5–19, 1 jan. 2017.
- POLLI, A. et al. Relationship Between Exercise-induced Oxidative Stress Changes and Parasympathetic Activity in Chronic Fatigue Syndrome: An Observational Study and in Patients and Healthy Subjects. **Clinical Therapeutics**, 18 jan. 2019.
- PORTENOY, R. K.; AHMED, E. Cancer Pain Syndromes. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 32, n. 3, p. 371–386, 1 jun. 2018.

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
- QUINTANS, J. S. S. et al. Monoterpenes modulating cytokines - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, p. 233–257, 1 jan. 2019.
- RASHID, S. et al. Mitigation of 5-Fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 66, p. 185–193, 1 abr. 2014.
- REN, K.; TORRES, R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 57–64, 1 abr. 2009.
- RISCH, N.; POINTEAU, F.; POQUET, N. Nociception. **Kinésithérapie, la Revue**, v. 17, n. 186, p. 5–15, 1 jun. 2017.
- SAN MAURO MARTIN, I. et al. Anti-inflammatory and antioxidant feeding and supplementation may serve as adjuvants in women with fibromyalgia. **Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism**, v. 15, p. 3–9, 1 mar. 2019.
- SANTOS, P. L. et al. Citronellol, a monoterpene alcohol with promising pharmacological activities - A systematic review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 123, p. 459–469, 1 jan. 2019.
- SARA, J. D. et al. 5-fluorouracil and cardiotoxicity: a review. **Therapeutic advances in medical oncology**, v. 10, p. 1758835918780140, 2018.
- SCHEEFHALS, N.; MACGILLAVRY, H. D. Functional organization of postsynaptic glutamate receptors. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 91, p. 82–94, 1 set. 2018.
- SELVAGGI, K.; ABRAHM, J. Metastatic spinal cord compression: the hidden danger. **Nature Clinical Practice Oncology**, v. 3, n. 8, p. 458–461, 1 ago. 2006.
- SERIZAWA, K. et al. Anti-IL-6 receptor antibody improves pain symptoms in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. **Journal of Neuroimmunology**, v. 319, p. 71–79, 15 jun. 2018.
- SHARMA, S. K.; VIJ, A. S.; SHARMA, M. Mechanisms and clinical uses of capsaicin. **European Journal of Pharmacology**, v. 720, n. 1–3, p. 55–62, 15 nov. 2013.

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

SHUI, S. et al. The investigation of anti-inflammatory activity of Yi Guanjian decoction by serum metabonomics approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 133, p. 41–48, 30 jan. 2017.

SIMMONS, Z. Electrodiagnosis of Brachial Plexopathies and Proximal Upper Extremity Neuropathies. **Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America**, v. 24, n. 1, p. 13–32, 1 fev. 2013.

SINDHU, S. et al. Chemoprevention by essential oil of turmeric leaves (*Curcuma longa* L.) on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 5, p. 1188–1192, 1 maio 2011.

SIQUEIRA, H. D. S. et al. α -Phellandrene, a cyclic monoterpene, attenuates inflammatory response through neutrophil migration inhibition and mast cell degranulation. **Life Sciences**, v. 160, p. 27–33, 1 set. 2016.

STONE, J. B.; DEANGELIS, L. M. Cancer-treatment-induced neurotoxicity—focus on newer treatments. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 13, n. 2, p. 92–105, 22 fev. 2016.

SUBEDI, M. et al. An overview of tramadol and its usage in pain management and future perspective. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 443–451, 1 mar. 2019.

SUH, Y. H.; CHANG, K.; ROCHE, K. W. Metabotropic glutamate receptor trafficking. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 91, p. 10–24, 1 set. 2018.

SUZUKI, A. et al. Targeting of IL-4 and IL-13 receptors for cancer therapy. **Cytokine**, v. 75, n. 1, p. 79–88, 1 set. 2015.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIAH, U. R. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1–21, 20 dez. 2016.

THIAUCOURT, M. et al. Posterior Insular GABA Levels Inversely Correlate with the Intensity of Experimental Mechanical Pain in Healthy Subjects. **Neuroscience**, v. 387,

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
p. 116–122, 1 set. 2018.
- TORRES-BERRIO, A.; NAVA-MESA, M. O. The opioid system in stress-induced memory disorders: From basic mechanisms to clinical implications in post-traumatic stress disorder and Alzheimer's disease. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 88, p. 327–338, 10 jan. 2019.
- VADUVA, R. C. et al. Diagnóstico y tratamiento de las neuropatías y radiculopatías. **Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 10, n. 77, p. 5227–5235, 1 abr. 2011.
- VAIDYA, B. et al. The neuroprotective role of the brain opioid system in stroke injury. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 7, p. 1385–1395, 1 jul. 2018.
- VALDERRAMA, F.; RUIZ, F. An optimal control approach to steam distillation of essential oils from aromatic plants. **Computers & Chemical Engineering**, v. 117, p. 25–31, 2 set. 2018.
- VANHOLME, B.; EL HOUARI, I.; BOERJAN, W. Bioactivity: phenylpropanoids' best kept secret. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 56, p. 156–162, 1 abr. 2019.
- VELASCO, R. et al. Neuropathic Pain and Nerve Growth Factor in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Prospective Clinical-Pathological Study. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 54, n. 6, p. 815–825, 1 dez. 2017.
- VENDRAMINI-COSTA, D. B. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of racemic goniotalamin, a styryl lactone. **Life Sciences**, v. 139, p. 83–90, 15 out. 2015.
- VERLINDEN, H. Dopamine signalling in locusts and other insects. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 97, p. 40–52, 1 jun. 2018.
- WANG, H.-W.; JOYCE, J. A. Alternative activation of tumor-associated macrophages by IL-4: priming for protumoral functions. **Cell cycle (Georgetown, Tex.)**, v. 9, n. 24, p. 4824–35, 15 dez. 2010.
- WEBB, J. A.; LEBLANC, T. W. Evidence-based Management of Cancer Pain. **Seminars in Oncology Nursing**, v. 34, n. 3, p. 215–226, 1 ago. 2018.

- PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica
- WILBOURN, A. J. Plexopathies. **Neurologic Clinics**, v. 25, n. 1, p. 139–171, 1 fev. 2007.
- WOOLF, C. J.; MA, Q. Nociceptors—Noxious Stimulus Detectors. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 353–364, 2 ago. 2007.
- WU, Y. et al. Novel natural-product-like caged xanthenes with improved druglike properties and in vivo antitumor potency. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 12, p. 2584–2588, 15 jun. 2015.
- YAN, Y. et al. Research progress of mechanisms and drug therapy for neuropathic pain. **Life Sciences**, v. 190, p. 68–77, 1 dez. 2017.
- YE, M.-Y. et al. IL-6 and IL-20 as potential markers for vitality of skin contusion. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 59, p. 8–12, 1 out. 2018.
- YOUSEF, H. N.; ABOELWAFI, H. R. The potential protective role of taurine against 5-fluorouracil-induced nephrotoxicity in adult male rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 69, n. 5, p. 265–274, 14 jun. 2017.
- ZATORSKI, H. et al. High activity of endogenous opioid system protects against gastric damage development in mouse models of gastric mucosal injury. **Pharmacological Reports**, 25 out. 2018.
- ZHANG, S. et al. Anti-neuroinflammatory and antioxidant phenylpropanoids from Chinese olive. **Food Chemistry**, v. 286, p. 421–427, 15 jul. 2019.
- ZHANG, X. et al. Sustained stimulation of β 2- and β 3-adrenergic receptors leads to persistent functional pain and neuroinflammation. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 73, p. 520–532, 1 out. 2018.
- ZHUO, M. Ionotropic glutamate receptors contribute to pain transmission and chronic pain. **Neuropharmacology**, v. 112, p. 228–234, 1 jan. 2017.
- ZUCKERBERG, C. **Ultrastructure of Sarcoma 180** **CANCER RESEARCH**. Buenos Aires: [s.n.]. Disponível em: <<http://cancerres.aacrjournals.org/content/canres/33/10/2278.full.pdf>>. Acesso em:

PINHEIRO-NETO, F.R. Avaliação da atividade antinociceptiva do α -Felandreno em modelo experimental de hipernocicepção oncológica

22 fev. 2019.