

EFEITO DO *Astronium fraxinifolium* (GONÇALO-ALVES) EM MODELO EXPERIMENTAL DE NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS

Maria Thalyne Silva Araújo¹, Marília de Brito Borges¹, Talita Souza Santana¹, Bruno da Rocha Alves Lira¹, Leonardo Nunes Ferreira¹, Vladimir Lacerda Mariano Filho¹, Maria Elizabeth Pereira Nobre², Glauce Socorro de Barros Viana²

1. Estudante de Iniciação Científica da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (Estácio – FMJ), Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.
2. Pesquisadora da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (Estácio – FMJ), Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

Resumo:

A dor é uma sensação associada a dano tecidual real ou potencial, e a inflamação é responsável por secretar mediadores que causam dor. As plantas aroeiras têm sido reveladas com potencial anti-inflamatório e antinociceptivo. A partir dessa premissa, devido às evidências da medicina popular sobre a espécie *Astronium fraxinifolium* (Gonçalo-Alves) no tratamento de doenças de caráter inflamatório, esse trabalho busca estudar a sua potencial atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, avaliando os efeitos do decocto da casca do caule (dccAF), em modelo experimental, por meio do teste da nocicepção induzida por formalina. Os resultados revelaram que o dccAF apresenta atividades antinociceptiva e anti-inflamatória por reduzir o tempo de lambadura da pata, nas fases neurogênica e inflamatória do teste, corroborando com objetivo da investigação de apresentar terapêutica mais segura e com menos efeitos colaterais à saúde humana, em comparação com os tratamentos convencionais.

Autorização legal: O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (Estácio – FMJ), com o Protocolo de número 2015.1-011.

Palavras-chave: *Astronium fraxinifolium*; Nocicepção; Inflamação.

Apoio financeiro: Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte (Estácio – FMJ).

Introdução:

A dor é uma experiência emocional desagradável, associada a dano tecidual real ou potencial. A nocicepção consiste nos processos de transdução, transmissão e modulação de sinais neurais gerados em resposta a um estímulo nocivo externo, referindo-se aos sinais que chegam ao sistema nervoso central (SNC) resultantes da ativação dos nociceptores.

Algumas substâncias modulam a excitabilidade dos nociceptores, tornando-os mais sensíveis aos estímulos, como: bradicina, prostaglandinas e substância P. Acredita-se que as citocinas pró-inflamatórias que participam do processo nócico podem ter origem em células neuronais, gliais e imunológicas. Dessa maneira, a dor e o sistema imunológico interferem-se reciprocamente, já que a migração de leucócitos associada à inflamação é responsável por secretar mediadores químicos que produzem dor.

A antinocicepção consiste na redução da capacidade de sentir dor. Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) são os medicamentos mais amplamente prescritos para o tratamento da dor e da inflamação. Os AINEs inibem ambas as isoformas da enzima ciclo-oxigenase, sendo responsáveis, na maioria das vezes, pelos efeitos colaterais (devido à inibição de COX-1) e benéficos (devido à inibição de COX-2). A maioria desses fármacos apresenta, assim, efeitos adversos, como: gastropatias, nefropatias e ação imunossupressora.

Compostos naturais oriundos de plantas, tais como: flavonoides, esteroides, lignanas, polifenóis, cumarínicos, terpenos e alcaloides são cientificamente comprovados para aliviar a inflamação, dor e febre. Vários estudos têm buscado a comprovação de atividades das plantas medicinais em diversas patologias, com base nos conhecimentos acumulados na medicina popular. Esse tipo de análise se apoia tanto na comprovação da

eficácia desses produtos, quanto na investigação dos princípios ativos, de maneira a apresentar mais opções terapêuticas, com agentes mais seguros e com menos efeitos colaterais à saúde humana.

Portanto, devido às evidências da medicina popular sobre planta *Astronium fraxinifolium* (Anacardiaceae), conhecida por Gonçalo-Alves, no tratamento de doenças de caráter inflamatório, esse estudo busca correlacioná-la à sua potencial atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, em modelo experimental de nocicepção em camundongos, visto que, na literatura consultada, há poucos ensaios e dados científicos que envolvam essas atividades.

Metodologia:

Decocto da casca do caule de *Astronium fraxinifolium* (dccAF): Utilizou-se material liofilizado do decocto da casca do caule de *Astronium fraxinifolium* (dccAF), sendo diluído em água destilada para uma concentração final de 25 mg/mL e administrado por via oral (v.o.) nas doses de 12,5, 25 e 50 mg/kg.

Animais: Camundongos Swiss (20 a 25 g), provenientes do biotério da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte, foram alojados em gaiolas (6 animais/caixa), à temperatura $24\pm 2^\circ\text{C}$, sob condições de ciclo de claro/escuro 12h/12h e tiveram livre acesso à dieta padrão (Purina Chow) e água potável.

Protocolo experimental: TESTE DA FORMALINA - O teste da formalina consiste na aplicação de um estímulo químico (formaldeído a 2%) para indução da nocicepção em camundongos. O teste permite avaliar a resposta do animal a uma dor moderada e contínua causada pelo dano tecidual, bem como o papel de sistemas endógenos de regulação da dor. A formalina injetada na pata do animal induz um efeito nociceptivo bifásico. A primeira fase, ou fase neurogênica, deve-se a uma irritação direta das fibras C sensoriais que liberam alguns neurotransmissores e mediadores, como a substância P. A segunda fase, ou fase inflamatória é caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios, tais como: serotonina, histamina, bradicinina e prostaglandinas. As drogas de ação central podem inibir ambas as fases, a exemplo dos narcóticos (morfina, codeína), enquanto as drogas de ação periférica, como os AINEs (aspirina, indometacina) e corticosteroides, inibem somente a segunda fase. Camundongos Swiss, machos adultos (20-25 g) foram usados para o teste da nocicepção induzida por formalina. Nesse experimento,

foram injetados 40 μl de formalina a 2% (v/v, intraplantar) na pata traseira direita dos animais. Em seguida, o tempo (s) gasto pelo animal lambendo a pata foi medido durante 5 minutos (1ª fase, neurogênica) e 25 min depois da injeção de formalina (2ª fase, inflamatória) por mais 5 minutos. Os animais foram divididos em cinco grupos (n=9 a 21). Ao controle negativo foi administrado solução salina a 0,9% (0,1 mL/10g, v.o.), e, ao controle positivo, foi administrado morfina (5 mg/kg, v.o.), como droga de referência. Os animais foram pré-tratados com salina, morfina ou decocto da casca do caule de *Astronium fraxinifolium* nas doses 12,5, 25 e 50 mg/kg (v.o.) 60 minutos antes da injeção de formalina.

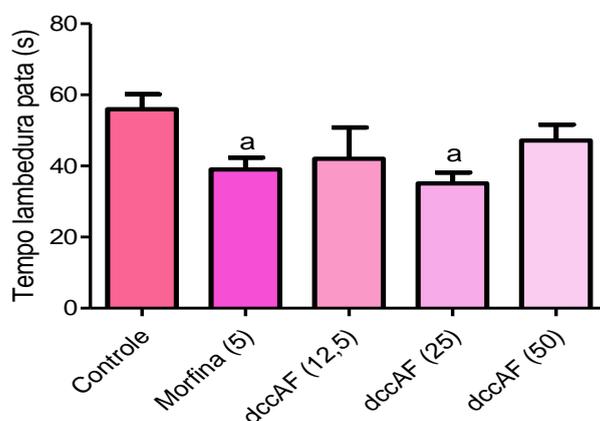
Análise dos dados: Foram utilizados os testes t-Student e ANOVA para comparações múltiplas, seguido do teste Newman-Keuls como post hoc. As diferenças foram consideradas significativas para $p < 0,05$.

Resultados:

Avaliação da administração de *Astronium fraxinifolium* sobre a nocicepção induzida por formalina:

O dccAF, na dose de 25 mg/kg ($35,1\pm 3,1$, n=11), foi capaz de reduzir em torno de 37% a resposta (tempo de lambadura) na primeira fase (neurogênica) do teste da formalina, em relação ao controle ($56,0\pm 4,2$, n=21) e apresentando resultados similares ao controle positivo, a morfina ($39,0\pm 3,4$, n=9), que reduziu em 30% o tempo de lambadura da pata. As doses de 12,5 e 50 mg/kg não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle.

Gráfico 1: Avaliação do tratamento agudo com *Astronium fraxinifolium* na primeira fase do teste da nocicepção induzida por formalina.



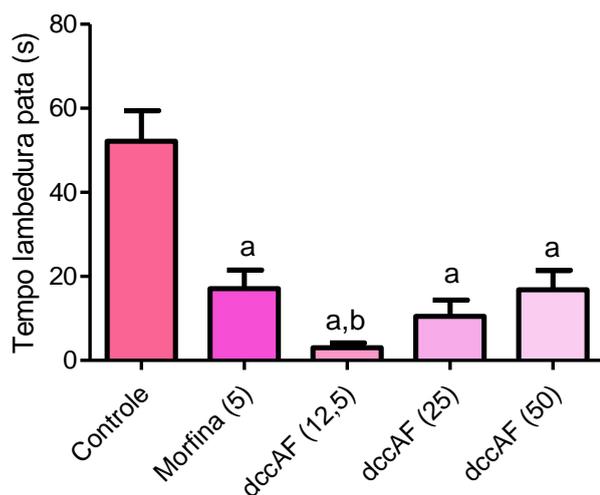
Fonte: A autora.

As colunas representam médias \pm EPM do tempo de lambadura da pata (em 5

minutos) de camundongos submetidos ao tratamento agudo com dccAF nas doses de 12,5, 25 e 50 mg/kg (v.o.). A morfina (5 mg/kg, v.o.) foi usada como droga de referência. **a** vs controle, * $p < 0,05$.

Reduções significativas de 94, 80 e 68% no tempo de lambertura foram observadas respectivamente com as doses de 12,5 mg/kg ($3,0 \pm 1,2$, $n=11$), 25 mg/kg ($10,5 \pm 3,9$, $n=10$) e 50 mg/kg ($16,8 \pm 4,6$, $n=12$) na segunda fase (inflamatória) do teste da formalina, em relação ao controle ($52,1 \pm 7,3$, $n=14$). O dccAF na dose de 12,5 mg/kg promoveu ainda uma redução significativa de 83% em relação ao efeito promovido pela morfina ($17,1 \pm 4,4$, $n=9$), utilizada como controle positivo, tendo essa última reduzido em 67% o tempo de lambertura em relação ao grupo controle.

Gráfico 2: Avaliação do tratamento agudo com *Astronium fraxinifolium* na segunda fase do teste da nocicepção induzida por formalina.



Fonte: A autora.

As colunas representam médias \pm EPM do tempo de lambertura da pata (em 5 minutos) de camundongos submetidos ao tratamento agudo com dccAF nas doses de 12,5, 25 e 50 mg/kg (v.o.) na 2ª fase do teste da formalina. A morfina (5 mg/Kg, v.o.) foi usada como droga de referência. **a** vs controle, *** $p < 0,001$; **b** vs morfina, ** $p < 0,01$.

Discussão:

O perfil fitoquímico geral do extrato de *A. fraxinifolium* apresenta prevalência qualitativa de taninos e flavonoides, o que justifica as atividades etnofarmacológicas da espécie como antidiarreica, cicatrizante e anti-inflamatória (CARDOSO; SALGADO; VILEGAS, 2014). A sua espécie congênere *Astronium urundueva* (Aroeira-do-Sertão)

apresenta algumas atividades farmacológicas comprovadas, em virtude da sua composição química, sendo os taninos responsáveis pela ação analgésica e anti-inflamatória (VIANA *et al.*, 1997) e as chalconas como anti-inflamatórias (VIANA; BANDEIRA; MATOS, 2003), sugerindo prováveis atividades farmacológicas para o gênero *Astronium*.

A atividade antinociceptiva dos extratos de cascas (constituídas, principalmente, por taninos condensados) e de folhas (perfil fitoquímico com elevada concentração de flavonoides) de *A. fraxinifolium* foi avaliada, por outros autores, através do modelo de nocicepção induzida por formalina. Os resultados mostraram que extratos de cascas e de folhas, na dose de 500 mg/kg (v.o.), apresentaram redução da dor neurogênica (1ª fase) em 10% e 17%, mas estas reduções não foram estatisticamente significativas. Contudo, ambos os extratos apresentaram atividade antinociceptiva para a dor inflamatória (2ª fase) com reduções de 37% e 46% respectivamente, porém somente a ação do extrato das folhas foi estatisticamente significativa (SERIKAVA, 2014).

No presente trabalho, evidenciamos que o dccAF apresentou atividade antinociceptiva e anti-inflamatória nas duas fases do teste da formalina, com reduções mais significativas do que a morfina e em menores doses (12,5, 25 e 50 mg/kg, v.o.) na fase inflamatória.

Assim, *A. fraxinifolium* mostrou atividades antinociceptiva e anti-inflamatória, corroborando com a sua utilização popular. Todavia, novos experimentos devem ser realizados na tentativa de elucidar os compostos e as doses que promovem tais ações farmacológicas.

Conclusões:

O decocto da casca do caule de *Astronium fraxinifolium* apresenta atividades antinociceptiva e anti-inflamatória por reduzir o tempo de lambertura da pata, na 1ª fase (neurogênica) e na 2ª fase (inflamatória) do teste da formalina, tendo sido observada uma melhor resposta nessa última.

Conclui-se, portanto, que o decocto da casca do caule de *A. fraxinifolium* apresenta atividade antinociceptiva e anti-inflamatória, destacando que o maior efeito da planta parece estar relacionado com a sua atividade anti-inflamatória. Análises posteriores são necessárias para consolidar o estudo e avaliar a farmacocinética e a farmacodinâmica do fitoterápico.

Referências bibliográficas

BESSON, J. M. The neurobiology of pain. **The Lancet**, v. 353, n. 9164, p. 1610–1615, 1999.

BOSHALE, U. A. *et al.* A cohort study to evaluate cardiovascular risk of selective and nonselective cyclooxygenase inhibitors (COX-Is) in arthritic patients attending orthopedic department of tertiary care hospital. **Niger. Med. J.**, v. 55, p. 417-22, 2014.

CARDOSO, C. R. P.; SALGADO, H. R. N.; VILEGAS, W. Controle de qualidade preliminar de *Astronium fraxinifolium*: uma planta promissora do cerrado brasileiro. **Ciência e Tecnologia**, v. 6, p. 218-223, 2014.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, Amsterdam, v. 4, n. 2, p. 161-174, 1977.

FEIN, A. Nociceptores: as células que sentem dor. In: PETROV, P. *et al.* **Dor On Line**. Ribeirão Preto: Artmed, 2011, p. 106.

HUCHO, T.; LEVINE, J. D. Signaling pathways in sensitization: toward a nociceptor cell biology. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 365-376, 2007.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**, Bergen, v. 14, n. 1, p. 69–76, 1985.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Patofisiologia da Dor. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n.1, p.1-12, 2008.

MARTINS, A. O. B. P. B. *Identificação do perfil químico e avaliação das atividades antioxidante, gastroprotetora, cicatrizante e antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das cascas de Astronium fraxinifolium Schott ex.Spreng. (Gonçalavo)*. 2013. 95 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Regional do Cariri, Crato-CE, 2013.

MATOS, F.J. A. **Plantas Mediciniais**. Guia de seleção e emprego de plantas medicinais do nordeste do Brasil. Fortaleza: UFC, 1989.

SERIKAVA, S. M. O. Avaliação da atividade anti-ulcerogênica, antidiarréica e antiinflamatória de *Astronium fraxinifolium* Schott: uma espécie medicinal do cerrado. 2014. Disponível em:

<<http://repositorio.unesp.br/handle/11449/121131>>. Acesso em: 25 set. 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P. A pesquisa e a produção brasileira de medicamento a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia. **Revista NEXUS Ciência e Tecnologia**, v. 1, n. 1, p. 24-27, 2001.

VIANA, G. S. B. *et al.* Analgesic and antiinflammatory effects of the tannin fraction and *Myracrodruon urundueva* Fr. All. **Phytotherapy Research**, v. 11, p.118-122, 1997.

VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F. J. A. Analgesic and antiinflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundueva* Allemão. **Phytomedicine**, v. 10, n. 2, p. 189-195, 2003.

ZAFRED, R. R. T. *Avaliação das atividades farmacológicas dos extratos brutos de Astronium fraxinifolium Schott. (Anacardiaceae)*. 2014. 90f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2014.