

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO γ -TERPINENO EM MODELOS ANIMAIS DE DOR AGUDA

Ricardo Leal dos Santos Barros (Bolsista ICV/UFPI), Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida (Orientadora, Departamento de Bioquímica e Farmacologia/UFPI), Flávia Franceli de Brito Passos Freitas (Colaborador, doutoranda RENORBIO), Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa (Colaborador, LAPROBIO-UFS)

Introdução

Óleos essenciais são utilizados em escala mundial por possuírem diversas atividades farmacológicas, como antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiparasitária, inseticida, espasmolítica, antioxidante, anti-inflamatória e anticolinesterásica. Tais funções são atribuídas em grande parte aos monoterpenos, que compõem cerca de 90 % da totalidade de terpenóides presentes nos óleos. O γ -terpineno pertence a essa classe, apresenta atividade antioxidante e é lipossolúvel, o que permite uma fácil distribuição pelas membranas biológicas (SOUSA, 2011).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do γ -terpineno em modelos de nocicepção induzida por agentes como o glutamato, formalina, e capsaicina, e sua toxicidade aguda, a fim de determinar a DL50 do composto e sua possível interferência na via central da resposta motora, avaliada pelo teste do campo aberto.

Metodologia

O γ -terpineno (TPN) foi fornecido pelo Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa, membro do Laboratório de Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, LAPROBIO/UFS. Camundongos Swiss machos (25-35 g; n=6-8/grupo) foram utilizados nos testes de nocicepção e ratos do sexo feminino Wistar para a avaliação da toxicidade aguda, (dois grupos de n=5) (Parecer CEEA No. 008/12).

No estudo da toxicidade aguda, após um jejum de sólidos de 12 h os animais receberam γ -terpineno (TPN) e foram monitorados por 4 e 72 h após a administração. Nesse período foi registrada a presença parâmetros comportamentais que pudessem apontar algum grau central ou periférico de toxicidade, quantificado o número de mortos e determinada a DL50. Os animais foram observados até 14 dias após o início do experimento. No teste da formalina, os camundongos foram pré-tratados com TPN (6,25, 12,5 e 25mg/kg v.o) ou veículo-V (água destilada em Tween 80) 60min antes, ou morfina-MOR (5mg/kg s.c.), 30min antes, de receberem formalina 2 % (20 μ L/pata; i. pl.), sendo quantificado o tempo em segundos de lambida da pata que recebeu o estímulo, nas fases de 0 – 5 e 15 – 30 min. No teste da capsaicina, foi quantificado o tempo de lambida da pata estimulada com capsaicina (20 μ L, 2 μ g/pata), diante do pré-tratamento com TPN (25 e 50mg/kg) ou V, (v.o.; 60min) e MOR (5 mg/kg s.c.; 30min). No teste do glutamato, foi quantificado durante 15 min após a sua administração intraplantar na pata traseira direita do animal, o tempo que o este lambeu ou mordeu a pata, frente ao pré-tratamento, 60min antes, com TPN (6,25, 12,5 e 25mg/Kg) ou V por via oral, e 30min antes, com MK801 (0,03mg/kg; i.p.). No campo aberto, foi avaliado o número de vezes, durante 5 min, que estes invadem cada um dos 9 quadrantes da câmara de avaliação, após o tratamento prévio com TPN (12,5mg/kg p.o.), V ou diazepam-DZP (4mg/kg, i.p.).

Os resultados obtidos foram analisados por ANOVA e teste de Tukey, com nível de significância de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

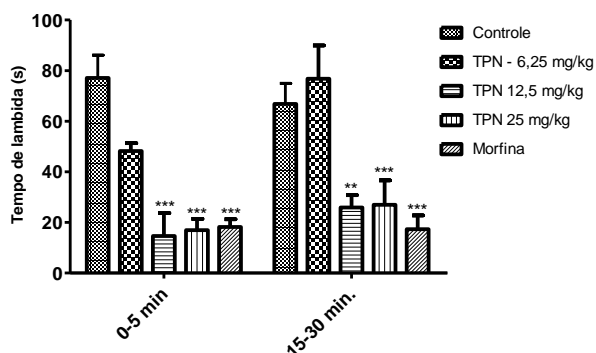


Figura 01: Efeito do γ -terpineno (TPN) sobre a nocicepção induzida por formalina 2% (20 μ L/pata) em camundongos Swiss machos (n = 6-8/grupo). Os animais foram tratados com V, TPN (6,25, 12,5 e 25mg/Kg v.o.) ou MOR (5mg/Kg s.c.) 60 ou 30 min antes do estímulo. Os valores são expressos como média \pm EPM (* p <0,05; ** p <0,01; *** p <0,001; ANOVA, Teste de Tukey).

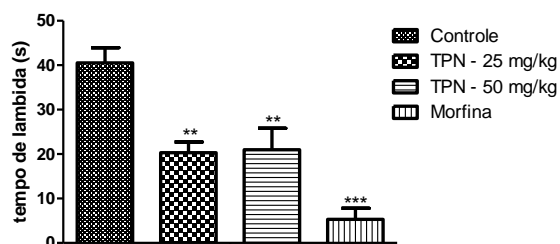


Figura 02: Efeito do γ -terpineno (TPN) sobre a nocicepção induzida pela capsaicina (20 μ L, 2 μ g/pata) em camundongos Swiss machos (n = 6-8/grupo). Os animais foram tratados com TPN (25 e 50mg/kg v.o.), MOR (5mg/kg i.p.) e V, 60 e 30 min antes do estímulo (*** p <0,001, ANOVA, Teste de Tukey).

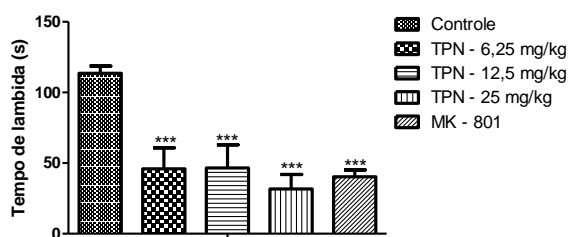


Figura 03: Efeito do γ -terpineno (TPN) sobre a nocicepção induzida pelo glutamato (20 μ L; 10 μ mol/pata; i.pl.) em camundongos Swiss machos (n = 6-8/grupo). Os animais foram tratados com TPN (6,25, 12,5 e 25mg/kg; p.o.), V, e MK801 (0,03mg/kg; i.p.) 60 ou 30 min antes do estímulo (*** p <0,001, ANOVA, Teste de Tukey).

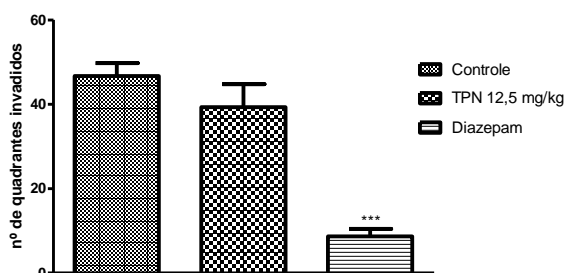


Figura 04: Efeito do γ -terpineno (TPN) sobre a atividade locomotora, através do teste do campo aberto, de camundongos Swiss machos (n = 6-8/grupo). Os animais foram tratados com TPN (12,5mg/Kg v.o.), DZP (4mg/kg i.p.) e V, 60 e 30 min antes do estímulo (*** p <0,001, ANOVA, Teste de Tukey).

No teste da formalina, observou-se que as doses de 12,5 e 25mg/kg de TPN apresentaram atividade antinociceptiva significativa, diminuindo a resposta nociceptiva tanto na primeira (dor neurogênica) quanto na segunda fase (dor de origem inflamatória) em relação ao grupo controle (Figura 01), o que sugere efeito antinociceptivo do composto, a nível central ou periférico. A primeira fase corresponde ao dano lesivo direto do formaldeído aos axônios das fibras nervosas. Conforme essa lesão progride, são liberados os mediadores inflamatórios responsáveis pela segunda fase do teste (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Para o teste da capsaicina, o TPN (25 e 25mg/Kg) promoveu redução significativa do tempo de lambida da pata do animal em relação ao grupo controle (Figura 02), o que sugere que a

substância interfira na liberação ou ação de substâncias que atuam na ativação, via receptor vanilóide (TRPV1), de fibras aferentes nociceptivas tipo C (FLORES, 2012).

Para verificar se o efeito antinociceptivo do γ -terpineno envolve o sistema glutamatérgico, realizou-se o teste do glutamato, onde todas as doses testadas (6,25, 12,5 e 25 mg/kg) reduziram significativamente o tempo de lambida da pata submetida ao estímulo em relação ao grupo controle (Figura 03). Sugere-se, portanto, que o γ -terpineno interfira na liberação ou a ação de substâncias que atuam na ativação dos receptores NMDA, potencialmente como antagonista competitivo, presentes nas fibras nociceptivas (BEIRITH, *et al.*, 2002).

Na avaliação da atividade locomotora, o TPN não alterou significativamente o número de quadrantes invadidos em relação ao grupo controle (Figura 04), sugerindo a ausência de efeito depressor central, que pudesse interferir com as respostas motoras presentes nos testes de nocicepção (ARCHER, 1973).

Conclusão

O γ -terpineno não apresenta toxicidade aguda, sem alteração dos parâmetros comportamentais avaliados. Como não houve mortes, o cálculo da DL₅₀ foi impossibilitado. Esse monoterpene apresentou ainda ação antinociceptiva significativa em modelos de nocicepção química, possivelmente com inibição da mediação glutamatérgica e de receptores vanilóides, sem a interferência de um efeito depressor central.

Apoio: FINEP/UFPI/CAPES

Referências

- ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behavior**, v. 21 (2), p. 205-235, 1973.
- BEIRITH, A., SANTOS, A. R., CALIXTO, J. B. Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain Research**, n. 924(2), p. 219-228, 2002.
- FLORES, M. P., CASTRO, A. P. C. R. NASCIMENTO, J. S. Analgésicos tópicos. **Rev. Bras. Anestesiol.**, Campinas, v. 62, n. 2, abr. 2012.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, n. 1, p. 103-14, 1987.
- SOUSA, D. P. Analgesic-like activity of essential oils constituents. **Molecules**, v. 16, p. 2233-2252, 2011.
- VALADARES, M.C. Avaliação de toxicidade aguda: Estratégias após a “era do teste DL50”. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3 (2), p. 93-98, 2006.

Palavras-chave: Efeito antinociceptivo. Monoterpene. γ -terpineno.