

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO - UENF

DANIELLA COSTANTINI DAS CHAGAS RIBEIRO

ANÁLISE COMPARATIVA DOS EXTRATOS DE *Cannabis sativa* E *Cecropia hololeuca* EM RELAÇÃO À MORFINA NO CONTROLE DA INFLAMAÇÃO E DA DOR NOCICEPTIVA EM MODELO MURINO

Campos dos Goytacazes, RJ

2025

DANIELLA COSTANTINI DAS CHAGAS RIBEIRO

ANÁLISE COMPARATIVA DOS EXTRATOS DE *Cannabis sativa* E *Cecropia hololeuca* EM RELAÇÃO À MORFINA NO CONTROLE DA INFLAMAÇÃO E DA DOR NOCICEPTIVA EM MODELO MURINO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientadora: DSc Profa. Fernanda Antunes

Campos dos Goytacazes - RJ

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

R484 Ribeiro, Daniella Costantini das Chagas.

ANÁLISE COMPARATIVA DOS EXTRATOS DE *CANNABIS SATIVA* E *CECROPIA HOLOLEUCA* EM RELAÇÃO À MORFINA NO CONTROLE DA INFLAMAÇÃO E DA DOR NOCICEPTIVA EM MODELO MURINO / Daniella Costantini das Chagas Ribeiro. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2025.

82 f. : il.

Bibliografia: 15 - 36.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.
Orientadora: Fernanda Antunes.

1. *Cannabis sativa*. 2. *Cecropia hololeuca*. 3. dor nociceptiva. 4. inflamação. 5. modelo murino. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 124

DANIELLA COSTANTINI DAS CHAGAS RIBEIRO

ANÁLISE COMPARATIVA DOS EXTRATOS DE *Cannabis sativa* E *Cecropia hololeuca* EM RELAÇÃO À MORFINA NO CONTROLE DA INFLAMAÇÃO E DA DOR NOCICEPTIVA EM MODELO MURINO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Aprovado em 5 de novembro de 2025

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
 **EULOGIO CARLOS QUEIROZ DE CARVALHO**
Data: 08/01/2026 20:01:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho (DSc.) – UENF

Documento assinado digitalmente
 **EDUARDO BUTTURINI DE CARVALHO**
Data: 09/01/2026 19:15:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Eduardo Butturini de Carvalho (DSc.) – UNIVASSOURAS

Documento assinado digitalmente
 **ARNOLDO ROCHA FACANHA**
Data: 07/01/2026 21:46:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Arnaldo Rocha Façanha (DSc.) – UENF

Documento assinado digitalmente
 **FERNANDA ANTUNES**
Data: 29/10/2025 21:50:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Fernanda Antunes (DSc.) – UENF (Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Os que conhecem minha história sabem que meu principal sustento é e permanece sendo o Criador de todas as coisas incríveis que investigamos todos os dias – as mesmas nas quais continuo a me maravilhar sempre. Então a Deus, primeiramente, se direciona sempre os meus agradecimentos. Também agradeço o apoio inexorável da minha família e do meu gentil Ricardo; dos amigos de bancada e batalha que, que em suas muitas passagens pelo laboratório me prestavam carinho e auxílio; do incrível e coeso quarteto formado com os amigos Deivison, Yury e Thamis nos serões de trabalho; das amadas amigas Nathália Méscolin (junto a mim desde a graduação), Lívia e Kamilla; e dos professores que me acompanharam nesta etapa sempre me auxiliando a construir e difundir mais conhecimento.

Gratidão às vidas dos animais utilizadas, pois, através delas, foi possível desenvolver um estudo que vai ajudar outras vidas a combater os desconfortos da dor. Graças a estes mais uma vez tem sido possível vencer este mal pouco a pouco. Pequenos e tão incríveis são os camundongos!

Todo meu carinho à querida Mestre Fernanda Antunes, que como costume dizer, é a melhor que temos. Sempre dedicada e vigorosa, não mediu esforços para que o trabalho fosse desenvolvido da melhor forma possível, sempre distribuindo seu tão precioso conhecimento de forma vasta e desmedida. Obrigada por me acompanhar nesta jornada! Ficam marcadas aqui minha admiração e amizade.

Por fim, meu agradecimento a esta preciosa banca. Professores com tão riquíssimo conhecimento me honraram com suas presenças e ponderações desta pesquisa, ajudando-me, assim, a prosseguir com excelência no duro e belo caminho da academia. Que através de nossos constantes trabalhos e investigações alcancemos o objetivo de trazer cura aos animais e à humanidade.

RESUMO

RIBEIRO, Daniella Costantini das Chagas; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; novembro de 2025; Análise comparativa dos extratos de *Cannabis sativa* e *Cecropia hololeuca* em relação à morfina no controle da inflamação e da dor nociceptiva em modelo murino. Orientadora: Profa Dra Fernanda Antunes.

A dor é uma sensação desagradável que pode sinalizar lesões possíveis ou reais que, na medicina humana, é um dos principais motivos de procura por assistência – o que gera amplos debates sobre fisiopatologia e tratamentos. Na medicina veterinária este tema também tem ganhado mais espaço entre as pesquisas acadêmicas, onde tem sido possível elucidar suas particularidades, mecanismos e resolução. Dentre as possibilidades de tratamento da dor, os opioides são medicamentos de escolha para tratar a condição, seja de complexidade moderada ou alta, mas também são associados a uma série de efeitos adversos, como sedação, constipação e náuseas. Nesse contexto, os tratamentos alternativos e a base de extratos naturais vem se destacando como opções possíveis, em distintos modelos de dor. Pensando nisto, este trabalho propôs uma análise comparativa entre os extratos de *Cannabis sativa* e *Cecropia hololeuca* em relação à morfina no tratamento antálgico de lesões agudas e inflamatórias induzidas em modelos experimentais em condições controladas. O objetivo foi determinar qual tratamento possui maior eficácia ante as injúrias dolorosas através da aplicação do método edema de pata (Hunskar e Hole, 1987) em modelos murinos. Após os testes e tratamentos realizados foi possível concluir que os extratos em questão tiveram ação pouco eficaz no tratamento profilático da dor nas doses trabalhadas, no entanto, demonstraram ação analgésica e anti-inflamatória com resolução clínica satisfatória no tratamento terapêutico, sem grande diferença estatística em relação ao tratamento com a morfina.

Palavras-chave: *Cannabis sativa*; *Cecropia hololeuca*; dor nociceptiva; inflamação; modelo murino.

ABSTRACT

RIBEIRO, Daniella Costantini das Chagas; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; novembro de 2025; Comparative analysis of *Cannabis sativa* and *Cecropia hololeuca* extracts in relation to morphine in the control of inflammation and nociceptive pain in a murine model. Supervisor: Profa Dra Fernanda Antunes.

Pain is an unpleasant sensation that can signal possible or real injuries. In human medicine, it is one of the main reasons for seeking care - which generates wide-ranging debates about pathophysiology and treatments. In veterinary medicine, this topic has also been gaining ground in academic research, where it has been possible to elucidate its particularities, mechanisms and resolution. Among the possibilities for treating pain, opioids are the drugs of choice to treat the condition, whether of moderate or high complexity, but they are also associated with a series of adverse effects, such as sedation, constipation and nausea. In this context, alternative treatments based on natural extracts have been highlighted as possible options in different pain models. With this in mind, this study proposes a comparative analysis between extracts of *Cannabis sativa* and *Cecropia hololeuca* in relation to morphine in the antalgic treatment of acute and inflammatory lesions induced in murine models under controlled conditions. The aim is to determine which treatment is more effective against painful injuries by applying the paw edema method (Hunskar and Hole, 1987) in experimental models. After the tests and treatments carried out, it was possible to conclude that the extracts in question were not very effective in the prophylactic treatment of the acute lesion at the doses used; however, they showed analgesic and anti-inflammatory action with satisfactory clinical resolution in the therapeutic treatment, with no great statistical difference compared to treatment with morphine.

Keywords: *cannabis sativa*; *cecropia hololeuca*; nociceptive pain; neuropathic pain; murine models.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Principais constituintes e atividades de diferentes espécies de Cecropia.....	28
Tabela 2.	“Princípio dos 3 R’s”.....	34
Tabela 3.	Parâmetros fisiológicos gerais de camundongos (Mus musculus) utilizados em pesquisas científicas.....	35
Tabela 4.	1ª Fase experimental.....	42
Tabela 5.	2ª Fase experimental.....	42
Tabela 6.	Resultado do teste da formalina e porcentagem de inibição entre os diferentes grupos e tratamentos.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Cannabis sativa na natureza. Fonte: UNINASSAU (2017).....	21
Figura 2.	Representação da estrutura química da anandamida. Fonte: Pubchem (2025).....	23
Figura 3.	Representação da estrutura química do 2-araquidonoil glicerol (2-AG).....	24
Figura 4.	Árvore embaúba-prateada (Cecropia hololeuca) na natureza. Fonte: (UENF, 2025).....	27
Figura 5.	Representação ilustrativa de flores de papoulas. Fonte: KÖHLER, Franz Eugen (1887).....	31
Figura 6.	Camundongo Mus musculus utilizado nesta pesquisa. Fonte: Swiss Info.....	36
Figura 7.	Animais em fase de aclimação. Fonte: Arquivo pessoal.....	38
Figura 8.	Modelo edema de pata sendo induzido pela formalina em camundongo us musculus. Fonte: Arquivo pessoal.....	39
Figura 9.	Analgesímetro digital utilizado para avaliação de limiar doloroso em modelos experimentais. Fonte: Arquivo pessoal.....	41
Figura 10.	Seringa VanishPoint utilizada para o teste da formalina. Fonte: Arquivopessoal.....	45

Figura 11.	Escala facial de dor para camundongos. Fonte: National Centre for Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research (2015).....	47
Figura 12.	Amostras de tecidos armazenadas em formol a serem cortadas e armazenadas em histossetes para posterior processamento. Fonte: Arquivo pessoal.....	49
Figura 13.	Aferições da pata direita dos animais tratados com Cannabis sativa durante o protocolo pré-lesão. Fonte: Autoria própria.....	53
Figura 14.	Camundongos após instilação de formalina na pata direita. (A): Pata direita com marcada lesão induzida por formalina. (B): Visível expressão de dor caracterizada por orelhas posicionadas para trás, alteração das vibrissas e leve aperto orbital. Fonte: Arquivo pessoal.....	54
Figura 15.	Aferições da pata direita dos animais tratados com Cannabis sativa durante o protocolo pós-lesão. Fonte: Autoria própria.....	55
Figura 16.	Camundongos tratados com Cannabis ao fim dos protocolos. (A) Resolução clínica do edema induzido por formalina após tratamento. (B) Animal com orelhas no posicionamento correto e sem alteração orbital ou de vibrissas. Fonte: Arquivo pessoal.....	58
Figura 17.	Aferições da pata direita dos animais tratados com Cecropia hololeuca durante o protocolo pré-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.....	59
Figura 18.	Aferições da pata direita dos animais tratados com Cecropia hololeuca durante o protocolo pós-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.....	61
Figura 19.	Camundongos tratados com Cecropia ao fim dos protocolos. (A) Resolução clínica do edema induzido por formalina após tratamento.	

	(B) Animal com orelhas no posicionamento correto e sem alteração orbital ou de vibrissas. Fonte: Arquivo pessoal.....	63
Figura 20.	Aferições da pata direita dos animais tratados com morfina durante o protocolo pré-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.....	64
Figura 21.	Aferições da pata direita dos animais tratados com morfina durante o protocolo pós-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.....	65
Figura 22.	Camundongos tratados com morfina ao fim dos protocolos. (A) Resolução clínica do edema induzido por formalina após tratamento. (B) Animal com orelhas no posicionamento correto e sem alteração orbital ou de vibrissas. Fonte: Arquivo pessoal.....	67
Figura 23.	Aferições da pata direita dos animais falsamente lesionados. Fonte: Arquivo pessoal.....	68
Figura 24.	Aferições da pata direita dos animais lesionados sem tratamento. Fonte: Arquivo pessoal.....	69
Figura 25.	Resolução clínica dos animais lesionados sem tratamento. Fonte: Arquivo pessoal.....	70

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	3
RESUMO	4
ABSTRACT	5
LISTA DE TABELAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
SUMÁRIO	10
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. HIPÓTESE.....	14
3. OBJETIVOS	14
3.1. OBJETIVO GERAL	14
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
4. REVISÃO DE LITERATURA	15
4.1. DOR: FISIOPATOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO	15
4.1.1. Dor e inflamação.....	17
4.1.2. Dor aguda e hiperalgesia.....	18
4.2. MODELO DE DOR AGUDA	20
4.3. CANNABIS SATIVA E O SISTEMA ENDOCANABINOIDE	21
4.4. CECROPIA HOLOLEUCA	26
4.5. MORFINA: OPIOIDE REFERÊNCIA.....	30
4.6. MODELOS EXPERIMENTAIS	33
5. MATERIAL E MÉTODOS	36
5.1. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS	43
5.1.1. Teste da Formalina.....	44
5.1.2. Analgesímetro de Von Frey	45
5.1.3. Avaliação clínica do modelo de dor aguda através da escala de expressão facial em camundongos (Grimace Scale)	46
5.1.4. Análise histopatológica	48
5.1.5 Ponto final humanitário.....	49
5.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	49

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
6.1. TESTE DA FORMALINA E PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO	50
6.2. ANALGESÍMETRO DE VON FREY	52
6.2.1. <i>Cannabis sativa</i>	52
6.2.2. Discussão <i>Cannabis sativa</i>	56
6.2.3. <i>Cecropia hololeuca</i>	58
6.2.4. Discussão <i>Cecropia hololeuca</i>.....	62
6.2.5. Morfina.....	63
6.2.6. Discussão Morfina.....	66
6.2.7. Grupo SHAM e Grupo Controle sem tratamento	68
6.2.8. Análise histopatológica	71
7. CONCLUSÃO	71
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

1. INTRODUÇÃO

Ao longo de 41 anos, mudanças revolucionárias ocorreram na compreensão do fenômeno da dor, além de publicações muito importantes no que se refere a sua definição e classificação, especialmente na última década. Como ocorrem avanços contínuos e consistentes quanto ao conhecimento sobre a dor e seus mecanismos, a terminologia da dor também deve ser modificada e ajustada (DeSantana *et al.*, 2020).

Pensando nisso, a nomenclatura para a definição e a classificação da dor segue a determinação da *International Association For Studies of Pain* (IASP), sendo descrita como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a, ou semelhante àquela associada a, dano real ou potencial ao tecido”.

Dentre as diversas classificações, uma delas é de que a dor pode ser apontada como aguda ou crônica. A aguda resulta em lesões teciduais ou nervosas por efeito de doenças diversas, traumatismo e cirurgia, é mais fácil de tratar, costuma ter boa resposta ao efeito dos analgésicos e durar entre 24 e 72 horas. A dor crônica não costuma ter início definido, podendo se estender por seis meses. As técnicas analgésicas utilizadas normalmente não tendem a ser eficientes e há a necessidade de se utilizar a chamada técnica multimodal para o tratamento da dor crônica (Natalini, 2007).

Por isso, mais do que uma experiência sensorial desagradável, a dor não avaliada e não tratada pode levar a altos níveis de estresse que, além de comprometer o bem-estar dos animais, pode também custar-lhes a própria vida, uma vez que a resposta à dor dispara uma série de respostas deletérias no organismo. Como exemplo, é possível citar a prostração como sinal imediato de mal-estar; inapetência, levando à redução de energia; respiração menos eficiente; risco de automutilação; recuperação tardia; e um fator preocupante que é o risco da dor aguda tornar-se crônica, o que dificulta ainda mais o processo de tratamento e cura.

Logo, para que o processo de interrupção e cura da dor seja possível, faz-se necessário o conhecimento acerca da fisiologia envolvida neste processo, incluindo as diferentes vias da dor, bem como dos mediadores e receptores envolvidos, a fim

de que seja proposto o protocolo mais adequado para obtenção do alívio pretendido (Hellebrekers, 2002).

Para o alcance deste alívio, destacam-se os fármacos opioides, que constituem uma classe de analgésicos que agem no Sistema Nervoso Central (SNC), utilizados como sedativos, anestésicos e fármacos de primeira escolha para tratamento e controle dos mais diferentes estádios de dor. No entanto, o uso prolongado e em doses altas, apesar de promover excelente efeito analgésico, pode acarretar inúmeras alterações celulares responsáveis pelo desenvolvimento de fenômenos clínicos como tolerância, síndrome de abstinência e dependência (Nascimento e Sakata, 2011).

Neste contexto, buscam-se outras opções de substâncias que possam ser tão eficazes quanto os fármacos opioides e tragam igualmente o bem estar e tratamento pretendido aos tipos de dor, porém, com menos efeitos adversos. Para tanto, o uso de terapias multimodais vem ganhando destaque no sentido de aperfeiçoar a terapia analgésica e reduzir o uso excessivo destes fármacos. Dentre as opções existentes, destacam-se os extratos naturais como coadjuvantes ou até mesmo enquanto terapêuticos principais nos mais diversos tratamentos de lesões em diferentes níveis de complexidade.

Os extratos naturais lançam-se enquanto uma alternativa revelada com estudos promissores na área, evidenciando-os como possibilidade viável, uma vez que o interesse em investigar plantas com atividade analgésica reside no fato de que as mesmas têm uma vasta aplicação em vários processos patológicos.

Pensando nisto, neste trabalho serão apresentados como exemplo destes fármacos os extratos de *Cecropia hololeuca* e de *Cannabis sativa* e suas respectivas eficácias sobre processos de inflamação, dor aguda e dor neuropática induzida em modelos experimentais. Logo, este trabalho justifica sua razão de existir na importância em se testar protocolos de controle de dor no intuito de trazer contribuições às práticas clínicas, reduzir o alto consumo de fármacos e, conseqüentemente, aumentar o bem-estar dos animais em processos dolorosos, visando à expansão destes resultados aos animais de companhia.

2. HIPÓTESE

A partir do exposto, lança-se a hipótese de que o extrato liofilizado da *Cecropia hololeuca* e o extrato de *Cannabis sativa* são eficazes no tratamento da inflamação e da dor aguda provocada por processos inflamatórios no modelo de edema de pata em camundongos *Mus musculus* em comparação ao tratamento com morfina, fármaco opioide de poder analgésico alto, utilizado para alívio de dores agudas intensas e crônicas.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Através desta pesquisa objetiva-se a reprodução de um modelo viável de dor aguda, utilizando a técnica edema de pata para utilização em testes que visam avaliar e comparar os efeitos farmacológicos dos tratamentos propostos, sendo eles, os extratos de *Cecropia hololeuca*, *cannabis sativa* e morfina. Desta forma, a eficácia dos tratamentos para a inflamação e dor aguda em modelos experimentais serão analisados e comparados entre si.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para o alcance do objetivo geral, os objetivos específicos consistem em:

1. Aumentar resultados clínicos de terapias alternativas em modelos murinos no quesito de controle de dor aguda;
2. Estudar um protocolo de controle de dor alternativo às terapias convencionais que envolvem o uso de opioides;
3. Reproduzir e avaliar o modelo de dor inflamatória / aguda;

4. Tecer uma análise comparativa com pacientes submetidos apenas à terapia analgésica com opioides em dosagem terapêutica.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. DOR: FISIOPATOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO

A dor é compreendida como consequência de um processo lesivo periférico ou central com percepção a nível encefálico. O início, a propagação e a percepção da dor são determinados, tanto na periferia quanto no sistema nervoso central (SNC), por uma série de mediadores químicos (Aleixo *et al.*, 2016).

Quando os nociceptores, ou seja, os neurônios sensoriais capazes de enviar sinais que causam a percepção da dor, são estimulados, as terminações nervosas sensoriais livres são ativadas e, dependendo do tipo de estimulação, o potencial de ação será transportado centralmente por uma classe específica de fibras que posteriormente, na medula espinhal, serão processados e traduzidos na sensação dolorosa. No entanto, dentro da fisiologia da dor, não há uma relação estímulo-resposta pré-determinada e estável, uma vez que este processo está atrelado na percepção e processamento dessa estimulação (Hellebrekers, 2002). A partir desta constatação, é possível afirmar que cada paciente pode se tornar único neste complexo dinamismo.

O primeiro passo na sequência dos eventos que originam o fenômeno sensitivo-doloroso é a transformação dos estímulos ambientais físicos ou químicos intensos em potenciais de ação, que das fibras nervosas periféricas são transferidos para o sistema nervoso central (SNC). Os receptores nociceptivos são representados pelas terminações nervosas livres presentes nas fibras mielínicas finas A-delta e amielínicas C (Teixeira, 2001).

As fibras A-delta são responsáveis pela primeira fase da dor, caracterizada pela velocidade de transmissão e intensidade, e são sensíveis a estímulos mecâni-

cos intensos (Alves *et al.*, 2017). Já as fibras C são responsáveis pela dor fraca, não são mielinizadas e transportam os sinais de maneira mais lenta.

Ambas as fibras A-delta e C utilizam as raízes dorsais dos nervos espinhais para alcançar a medula e fazer sinapse com lâminas específicas de sua substância cinzenta. Logo, é no corno posterior da medula espinhal (CPME) que este impulso será processado (Teixeira, 2019; Santos, 2012).

Nesse local ocorre a liberação de mediadores como glutamato, neurocinina A e substância P na fenda sináptica, as quais se ligam a receptores N-metil-D aspartato (NMDA) e de neurocinina (NK). A ligação desses receptores permite influxo de cálcio e sódio intercelular, que intensifica a despolarização e desencadeia prolongada hipersensibilização, o que caracteriza o estado de dor patológica (sensibilização central) (Fantoni, 2012).

Após o trauma tecidual, ocorrem alterações nas propriedades dos nociceptores, tais que outra classe de fibras ($A\beta$), que são de grande diâmetro, normalmente não associadas com a nocicepção, também podem transmitir “informação dolorosa” (Mathews *et al.*, 2020).

O nociceptor é especializado na transformação de eventos físicos e/ou químicos que ocorrem nos tecidos em potenciais de ação, interpretados como dolorosos no SNC. Os nociceptores relacionados às fibras A-delta reagem à estimulação mecânica e térmica, enquanto os nociceptores presentes nas fibras C que reagem a estímulos térmicos, mecânicos e químicos são os denominados nociceptores polimodais e estão presentes no sistema nervoso periférico (SNP) (Teixeira, 2001).

No entanto, cabe ressaltar que as fibras A-delta conduzem impulsos mais rapidamente e contribuem para a “incisão” rápida da resposta à dor aguda, funcionando primariamente como um aviso, com caráter protetor, que resulta num afastamento imediato do estímulo doloroso (Mathews *et al.*, 2022). O glutamato é um dos neurotransmissores mais utilizados no SNC e por ter período de ação muito rápido, pode ser a substância neurotransmissora secretada pelas fibras A-delta, responsáveis pela dor rápida (Guyton e Hall, 2006).

Além do glutamato, outro neurotransmissor envolvido neste processo é a substância P (SP). A SP atua como um neurotransmissor, neuromodulador ou fator trófico por meio da ligação aos receptores neurocinina-1. O peptídeo relacionado ao

gene da calcitonina (CGRP) é um potente vasodilatador e também está envolvido na indução da dor (Oliveira *et al.*, 2011). Na periferia, a substância P foi identificada nas terminações nervosas sensoriais do tipo C e nos aferentes autonômicos por todo o corpo. Ela também está presente em locais de inflamação, e a inflamação pode aumentar sua expressão (Van der Kleij e Bienenstock, 2007).

Há, ainda, uma população de nociceptores designados “silenciosos”, que podem ser ativados durante a inflamação ou a lesão tecidual, como a que está associada à doença intestinal inflamatória e à cistite, por exemplo. Muitos receptores “silenciosos” em condições normais, especialmente os relacionados com as fibras C, são ativados durante a ocorrência de processos inflamatórios em geral (Mathews *et al.*, 2022); (Teixeira, 2001).

Mas mediante tantos mecanismos, como classificar a dor? A dor enquanto fenômeno possui mais de uma classificação. É possível categorizá-la, em relação à fisiopatologia, quanto à sua origem, sendo nociceptiva (somática ou visceral), neuropática (central ou periférica) e psicogênica (Magdanello e Rodríguez, 2023) e, de acordo com a IASP, também pode ser classificada ainda como aguda ou crônica.

A dor aguda resulta de lesões teciduais ou nervosas por efeito de doenças diversas, traumatismo e cirurgia, sendo mais simples de tratar apresentando boa resposta ao efeito dos analgésicos, podendo durar entre 24 a 72 horas. Em comparativo, a dor crônica persiste além do período esperado de uma doença ou injúria e tem sido arbitrariamente definida como aquela com duração maior que três a seis meses, podendo manifestar-se espontaneamente ou ser provocada por vários estímulos externos (Souza *et al.*, 2018).

4.1.1. Dor e inflamação

Os nociceptores podem ser ativados por mecanismos específicos ou variados, inclusive, pelo processo inflamatório. Quando há lesão, neutrófilos atraem monócitos que, por sua vez, diferenciam-se em macrófagos, ativando as ciclooxigenases (COX), logo, ocorre vasodilatação e liberação tecidual de várias substâncias algio gênicas de origem intravascular (peptídeos, lipídeos). Essas substâncias se somam às liberadas pelas células traumatizadas ou que infiltram a região

lesada ou que reparam os tecidos (Teixeira e Forni, 2019). Com isso, a inflamação pode ser definida como a reação do tecido vivo vascularizado à injúria local.

Em adição às mudanças elétricas desencadeando nocicepção, a lesão tecidual inicia a síntese e liberação de substâncias que induzem a inflamação, a formação de edema, a vasodilatação e a migração de células como parte da resposta inflamatória e do processo de recuperação. Entretanto, estes mediadores também ativam e/ou sensibilizam os nociceptores e recrutam outros para exacerbar o sinal de dor (Pereira, 2006).

Entre estes mediadores, destaca-se o ácido araquidônico, que é convertido em prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, todos essenciais na regulação da inflamação e na sensibilização das terminações nervosas, contribuindo, assim, para a sensação de dor. Além disso, a migração de leucócitos para o local da lesão, um componente central da resposta inflamatória, é mediada por quimiocinas, como a interleucina-8 (IL-8), que atraem neutrófilos, resultando em dor e edema (Sasaki e Souza, 2008). A dor inflamatória é, portanto, um dos sinais clássicos da inflamação, que também inclui rubor, calor, inchaço e perda de função (Oliveira *et al.*, 2022)

Este é um processo dinâmico e orquestrado por interações entre mediadores da inflamação e células inflamatórias, tendo como sua característica mais clássica a vasodilatação, que é produzida por diversos mediadores, sendo eles citocinas e prostaglandinas, como: histamina (His), prostaglandinas E2 (PGE2), interleucina 1 β (IL-1 β), TNF- α , lipoxinas, cininas, leucotrienos, óxido nítrico (NO) e outros (Candeia, 2022).

A dor e o sistema imunológico influenciam-se mutuamente, o que torna difícil determinar se o bloqueio da nocicepção contribui para a redução da produção de citocinas pró-inflamatórias, ou vice-versa, com a redução da formação de citocinas pró-inflamatórias resultando em dor menos intensa.

4.1.2. Dor aguda e hiperalgesia

A dor aguda é um complexo que envolve processos fisiológicos e neurobiológicos que funcionam como um mecanismo de alerta frente a lesões teciduais iminentes ou já ocorridas. A ativação dos nociceptores periféricos, terminações nervosas

especializadas, é responsável pela detecção de estímulos contratado e pela transmissão de sinais ao sistema nervoso central, onde são processados e interpretados como dor (Figueiredo e Alves, 2019).

A dor aguda é consequência de um evento traumático abrupto e breve, como um procedimento cirúrgico, trauma ou inflamação, sendo caracterizada como um sinalizador, por meio de neurotransmissão ao córtex cerebral, de que há uma injúria tecidual (Hertel e Androukovtich, 2023). Ela é de caráter fisiológico, tem função de alerta e defesa, contribuindo para preservação da vida, sendo deflagrada por lesão corporal (Santos, 2012). Sua intensidade pode variar de leve a muito grave, é pontual e se resolve em questão de horas ou possivelmente semanas.

Como a dor aguda é transmitida pelas fibras A-delta que terminam na lâmina I dos cornos dorsais da medula espinhal que excitam neurônios de segunda ordem, esse tipo de dor desempenha um papel importante, pois faz com que o indivíduo se afaste do estímulo nocivo. Isso se dá, pois o principal neurotransmissor envolvido é o glutamato, que possui um período de ação rápido e contribui para o mecanismo da dor rápida no SNC.

Quando se fala em hiperalgesia, a referência é à sensibilização dos neurônios periféricos. Uma vez que a sensibilidade do nociceptor não é fixa, sua ativação, seja por estimulação repetida ou pela presença de mediadores inflamatórios, gera modificações na cinética dos canais iônicos com aumento da excitabilidade da membrana do nociceptor e diminuição do limiar de iniciação de um potencial de ação no neurônio sensorial primário. Com isto, gera-se o fenômeno da hiperalgesia primária (Cardoso, 2012).

No entanto, quando esses estímulos são intensos e prolongados, a sensibilização passa também a ocorrer nos neurônios centrais, que passam a reagir intensamente tanto à estimulação nociceptiva quanto à não nociceptiva. Como resultado, estímulos mecânicos não dolorosos, como o toque, passam a ser dolorosos e classificados como alodínia mecânica secundária, e os estímulos nociceptivos interpretados como mais intensos. Nesse caso, há o fenômeno da hiperalgesia secundária (Teixeira, 2009).

Cabe, ainda, ressaltar que a hiperalgesia é um sinal clássico de inflamação e envolve a ação de prostaglandinas (Hunskar e Hole, 1987; Kawashita, 2008).

4.2. MODELO DE DOR AGUDA

Os animais são comumente usados na investigação pré-clínica para o estudo da etiologia e fisiopatologia da dor, para desvendar vias de transdução de sinal, identificar e avaliar novas moléculas e regiões alvo, desenvolver estratégias terapêuticas e analisar a sua eficiência (Soliman *et al.*, 2022).

Modelos experimentais em animais foram desenvolvidos para facilitar a investigação dos mecanismos intrínsecos da dor inflamatória e neuropática, permitindo estudos que seriam difíceis ou inviáveis de realizar em seres humanos (Challa, 2015).

Logo, a experimentação animal oferece a vantagem de que os fatores relevantes para a dor aguda e fatores envolvidos no desenvolvimento e manutenção da dor crônica possam ser investigados sistematicamente para encontrar relações causais (Soliman *et al.*, 2022).

Nesta pesquisa, a hiperalgesia foi induzida através do método do teste da formalina, onde a substância é injetada no subcutâneo da face plantar do pé direito do animal. O teste da formalina em camundongos é sensível aos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e a outros analgésicos. O teste emprega um estímulo nociceptivo químico que provoca uma resposta espontânea indicativa de uma dor que terá curso agudo e controlado, sem cronicidade do quadro. O teste tem duas fases diferentes, possivelmente refletindo diferentes tipos de dor (Hunskar e Hole, 1987).

De acordo com os autores deste método, a dor da fase inicial do teste ocorre devido a efeitos diretos nos nociceptores; e essa fase pode ser inibida por analgésicos de ação central. Por outro lado, a fase tardia parece se dever a uma resposta inflamatória parcialmente mediada por prostaglandinas e pode ser inibida por AINEs e esteroides, bem como por medicamentos de ação central.

A injeção subcutânea de formalina inicia uma série de eventos com um curso essencialmente uniforme. Este modelo reproduz vários aspectos da inflamação aguda, mas não deve ser considerado como modelo para respostas inflamatórias crôni-

cas que geralmente envolvem reações imunológicas a substâncias antigênicas (Hunskaar e Hole, 1987).

4.3. *CANNABIS SATIVA* E O SISTEMA ENDOCANABINOIDE

A *Cannabis sativa* pertence à família Cannabaceae, e apesar de ser originária da Ásia, é cultivada em diversas regiões do mundo, sendo conhecida por vários nomes populares, como maconha, cânhamo, haxixe, entre outros. Esta espécie é cultivada e utilizada há séculos por diversas culturas, e seu principal composto, o canabidiol, tem sido amplamente estudado no campo da medicina devido aos seus efeitos positivos em tratamentos de diversas condições, incluindo a dor inflamatória e neuropática, indicando-a como um importante agente farmacológico.



Figura 1. Cannabis sativa na natureza. Fonte: UNINASSAU (2017).

As primeiras evidências do uso da *Cannabis sativa* ocorreram há, aproximadamente, dois mil e quinhentos anos a. C., na Ásia (SOUZA *et al.*, 2019). Foi trazida

para cá pelos escravos negros e o seu uso disseminou-se rapidamente entre eles e os índios brasileiros, que passaram a cultivá-la. Além do uso como psicoativo, plantas do gênero *Cannabis* já foram úteis em diversos segmentos, incluindo a manufatura têxtil por suas fibras naturais de alta resistência (PAMPLONA, 2014). Séculos mais tarde, com a popularização da planta entre intelectuais franceses e médicos ingleses do exército imperial na Índia, ela passou a ser considerada um excelente medicamento indicado para muitos males (CARLINI, 2006).

Dentre os compostos da planta, destacam-se o Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), mas além deste composto, a *Cannabis sativa* contém o canabidiol (CBD) que possui potencial terapêutico usado nos casos de ansiedade, epilepsia, anticonvulsivante, tratamento para distúrbio do sono, além de conter propriedades anti-inflamatórias (Pernoncini e Oliveira, 2014).

Há relatos da utilização da planta para fins medicinais no tratamento de diversas doenças, com valor terapêutico significativo. Os compostos originalmente identificados em plantas do gênero *Cannabis* foram chamados coletivamente de canabinoides, com efeitos associados aos receptores canabinoides (CB1 e CB2). Com a diversidade de estruturas naturais e sintéticas de substâncias com atuação nestes receptores, ampliou-se bastante o grupo de compostos classificados como canabinoides, de maneira que os de ocorrência natural e origem vegetal são denominados fitocanabinoides (Pamplona, 2016), sendo os canabinoides produzidos endogenamente chamados de endocanabinoides.

Tanto o Δ^9 -THC quanto os outros componentes canabinoides interagem com os receptores endocanabinoides que são acoplados à proteína G, identificados como: receptor canabinoide tipo 1 (CB1) e receptor canabinoide tipo 2 (CB2). CB1 é encontrado principalmente no SNC enquanto o CB2 é predominantemente presente no sistema imunológico (Pernoncini e Oliveira, 2014).

Os extratos de *Cannabis* contêm numerosos compostos relacionados, a maioria dos quais insolúveis em água. Os canabinoides mais abundantes são o THC, seu precursor canabidiol, e o canabinol, um produto de decomposição formado espontaneamente a partir do THC. O canabidiol e o canabinol não possuem as propriedades psicoativas do THC, mas podem apresentar atividade anticonvulsivante e induzir o metabolismo hepático de fármacos (Rang *et al.*, 2016).

Independente da classe química ou origem, os canabinoides agem em receptores distribuídos em todo o organismo, com particular concentração no sistema nervoso central (Pamplona, 2016). De acordo com o autor, os endocanabinoides geram uma série de efeitos fisiológicos distintos, que vão da regulação térmica corporal e do apetite até modulação de processos cognitivos.

Os endocanabinoides mais bem estabelecidos são a anandamida e o 2-araquidonoil glicerol (2-AG) com muitas funções, entre as quais atuação como mediadores “retrógrados”, passando informações dos neurônios pós-sinápticos para os pré-sinápticos (Rang *et al.*, 2016). Para ilustrar a natureza química destes mediadores endógenos citados, apresenta-se a seguir a estrutura molecular da anandamida (Figura 2), destacando sua cadeia derivada do ácido araquidônico.

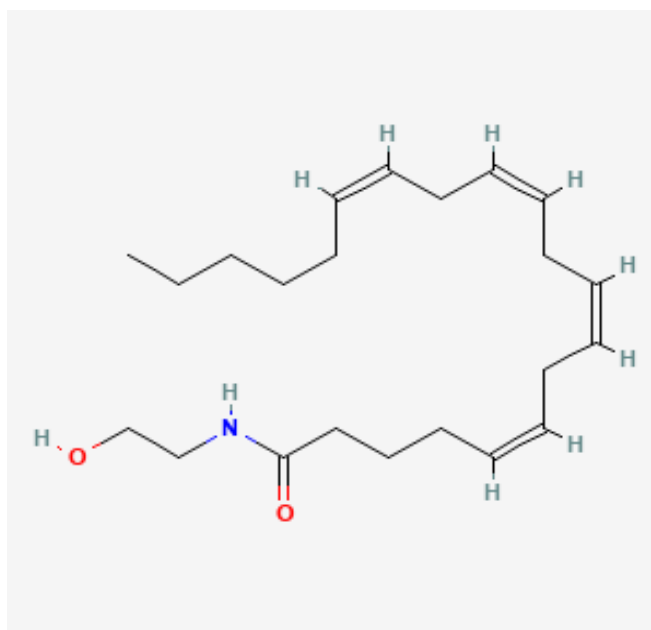


Figura 2. Representação da estrutura química da anandamida. Fonte: Pubchem (2025).

Da mesma forma, o 2-araquidonoil glicerol (2-AG) destaca-se como um agonista endógeno fundamental. Embora compartilhe vias de sinalização com a anandamida, possui características estruturais distintas que influenciam sua afinidade e

eficácia nos receptores canabinoides. A representação esquemática de sua estrutura química pode ser observada a seguir na figura 3.

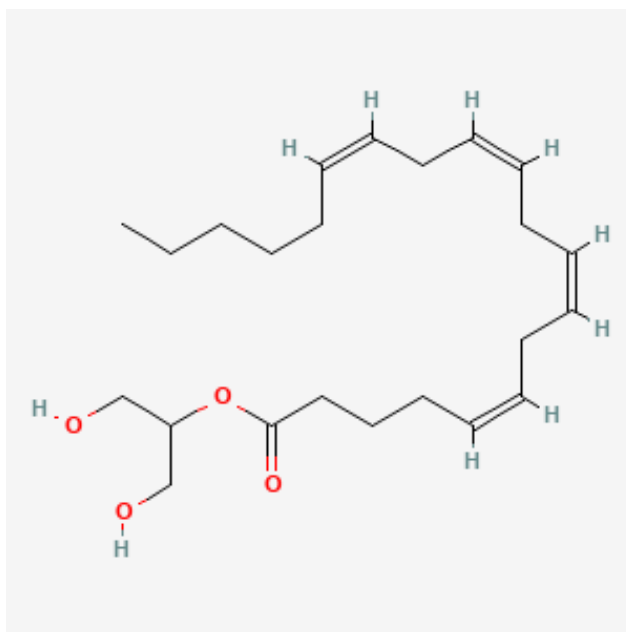


Figura 3. Representação da estrutura química do 2-araquidonoil glicerol (2-AG).
Fonte: Pubchem (2025).

Estes compostos são derivados de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, com destaque principal para o ácido araquidônico. Mas estas substâncias não são armazenadas exclusivamente pelo SNC, elas também agem como mediadoras locais em tecidos sendo produzidas após alterações na homeostase celular (Miranda, 2022).

Quando se fala em dor, pesquisas apontam que em camundongos com supressão de CB1 periférico, a administração de canabinoides reduz consideravelmente a eficácia de analgesia dos mesmos, indicando assim, que o receptor CB1 periférico é significativamente importante na analgesia mediada por canabinoides (Oliveira, 2017). Isso se dá devido ao fato de que o CB1 é um receptor acoplado às proteínas transmembranas Gi/o, e encontra-se em número moderado no sistema nervoso

periférico e amplamente no SNC, principalmente em áreas que processam e modulam a nocicepção.

Pelo fato de os receptores CB1 serem vinculados, via Gi/o, à inibição da adenilato ciclase e de canais de cálcio operados por voltagem, e à ativação de canais de potássio retificadores de entrada sensíveis à proteína G, causando hiperpolarização da membrana, estes efeitos são similares àqueles mediados por receptores opioides (Rang *et al.*, 2016).

Quando a inflamação está em debate, a literatura demonstra que há diversos mecanismos de ação da *Cannabis* neste processo – além do fato de que nem todos são totalmente elucidados, o que justifica as amplas investigações em curso a respeito. Mas dentre o que já podem ser mencionados, envolvem o papel da sinalização do receptor canabinoide como regulador da expressão gênica de células imunes (Klein *et al.*, 2003) e sua influência sobre adesão de leucócitos, ativação de mastócitos e no estresse oxidativo. E, apesar de ser necessária uma maior investigação, tem-se descoberto a relação entre ligantes do sistema endocanabinoide com a via da ciclooxygenase-2 (PTGS2), sendo esta responsável por acionar uma cascata mediadora de processos inflamatórios (Silva, 2023).

Logo, é possível afirmar que os compostos ativos da planta, como o Δ^9 -THC e CBD exercem efeitos anti-inflamatórios por meio da modulação do sistema endocanabinoide. Tem sido demonstrado que a interação com os receptores CB1 e CB2 inibe a liberação de mediadores inflamatórios, como citocinas e quimiocinas, resultando em redução da resposta inflamatória periférica. Além disso, a *Cannabis* demonstrou capacidade de modular a resposta imune, atenuando a ativação de células inflamatórias e promovendo a apoptose de leucócitos (Araújo, 2024; Silva, 2023).

Também é possível citar que a *Cannabis*, mais especificamente o CBD, tem o potencial de inibir a captação da adenosina através da inibição competitiva de um transportador de equilíbrio (ENT1) (Ribeiro, 2012). Ao bloquear a captação de adenosina, o CBD permite que mais adenosina permaneça no espaço extracelular, aumentando sua disponibilidade. Com isso, a maior concentração de adenosina ativa os receptores A1 e A2A, que estão envolvidos em diversas funções fisiológicas, como a redução da inflamação e a neuroproteção. Cabe observar que a ativação do receptor A2A é responsável por alguns dos efeitos anti-inflamatórios observados do

fármaco, como a diminuição da expressão sérica de TNF α , IL-6 e ciclooxigenase-2 (COX-2) (Naya *et. al*, 2023).

Logo, a ativação do receptor A2A pela adenosina elevada está ligada à supressão de marcadores pró-inflamatórios e à atenuação da resposta inflamatória em diferentes contextos.

No entanto, por mais que os medicamentos à base de *Cannabis* sejam, em sua maioria, seguros, alguns efeitos colaterais leves podem ocorrer, como a sonolência, sedação, amnésia e humor eufórico. Portanto, são necessárias mais pesquisas para avaliar benefícios e riscos, bem como a via e dosagens ideais de administração, que ainda é incerta (Pantoja-Ruiza, Camila, *et al.*, 2022) – o que não torna a utilização dos extratos da planta algo inseguro, visto a demonstração de seus benefícios em inúmeros ensaios laboratoriais e com canabinoides distintos.

Cabe também ressaltar que no Brasil, por meio da Resolução RE n° 3.893, de 24 de Novembro de 2022, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), incluiu a *Cannabis* na lista de plantas medicinais, mas só autoriza a importação do CBD (canabidiol) para pacientes com doenças crônicas (ANVISA, 2022).

Na medicina veterinária existe um limbo jurídico que não permite, mas não veta o veterinário de prescrever substâncias, uma vez que a Portaria n° 344 da ANVISA prevê que os inscritos nos conselhos de medicina, medicina veterinária e odontologia já possuem autorização para prescrever e dispensar substâncias de controle especial (BRASIL, 2021).

4.4. CECROPIA HOLOLEUCA

A *Cecropia hololeuca*, popularmente conhecida como embaúba-prateada, pertence ao gênero *Cecropia* que consiste em cerca de 60 espécies, sendo algumas delas utilizadas na medicina tradicional. Os flavonoides e compostos fenólicos que contém nesta espécie são amplamente distribuídos no reino vegetal e responsáveis por uma variedade de atividades farmacológicas, inclusive nos processos inflamatórios (Teixeira, 2018).

A etimologia do termo *Cecropia* vem de Cecrops, filho da Terra, meio homem, meio serpente, ou da palavra grega que significa chamar, ecoar, referindo-se ao caule e ramos ocos de plantas desse gênero, usados na fabricação de instrumentos de sopro. *Hololeuca* vem do grego *holos* (todo) e *leuco* (branco), em alusão aos pelos das folhas (Carvalho, 2003).

De acordo com o sistema de Classificação de Cronquist, de 1981, o gênero *Cecropia* está inserido na família *Cecropiaceae* e esta, por sua vez, na ordem *Urticales*. No Brasil, as espécies deste gênero são mais conhecidas pelos nomes populares 'embaúba', 'imbaúba' ou 'umbaúba' e outras variações. Eles provêm do termo "ambaíba", que no tupi significa árvore oca, uma alusão aos caules ocos das espécies de *Cecropia* (Teixeira, 2018).



Figura 4. Árvore embaúba-prateada (*Cecropia hololeuca*) na natureza. Fonte: (UENF, 2025).

O uso de plantas do gênero *Cecropia* na medicina popular é bastante difundido e várias espécies tiveram seus usos documentados para diversas funções. No caso da *Cecropia hololeuca*, foram identificados compostos na espécie que são ricos em orientina e isoorientina, catequina, epicatequina, procianidinas, ácido protocatecuico e ácido clorogênico (Daga *et al.*, 2020). A orientina e a isoorientina são flavonoides C-glicosídicos e marcadores de espécies vegetais, as quais são reportadas na literatura por suas diversas propriedades farmacológicas enquanto as catequinas e epicatequinas são compostos fenólicos da classe dos flavanóis, que atuam como antioxidantes. A presença de compostos fenólicos como ácido gálico, ácido cafeico e catequina, contribui para a ação anti-inflamatória desse extrato (Daga *et al.*, 2020).

A Tabela 1, a seguir, resume as principais espécies do gênero, como os principais efeitos e componentes químicos conhecidos. Destaca-se a *C. Hololeuca* e suas propriedades anti-inflamatórias, diuréticas e antidiarreicas.

Tabela 1. Principais constituintes e atividades de diferentes espécies de *Cecropia* spp. Fonte: Daga, 2020.

Species	Main constituents	Main activities
<i>C. pachystachya</i>	Orientin, isoorientin, isovitexin, vitexin, chlorogenic acid, catechin, epicatechin, procyanidins, protocatechuic acid, pomolic and oleanolic acids, and α -amyrin	Diuretic, tonic, anti-hemorrhagic, anti-inflammatory, hypotensive, sedative, cicatrizing, antimicrobial, and hypoglycemic
<i>C. glaziovii</i>	Orientin, isoorientin, isovitexin, catechin, epicatechin, procyanidins, and chlorogenic acid	Hypoglycemic, hypotensive, diuretic, anti-inflammatory, and antimicrobial
<i>C. obtusifolia</i>	Isoorientin, palmitic, stearic, vanillic acids, sitosterone, vinyl guaiaicol, o-Tolylaldehyde, and chlorogenic acid	Hypoglycemic, analgesic, central depressant, and anti-inflammatory
<i>C. peltata</i>	Pomolic acid, α -amyrin, β -amyrin, derivatives of stigmasterol, and chlorogenic acid	Wound healing, antiparasitic, hypoglycemic, and anti-inflammatory
<i>C. hololeuca</i>	Orientin and isoorientin, catechin, epicatechin, procyanidins, protocatechuic acid, and chlorogenic acid	Anti-inflammatory, diuretic, and antidiarrheal

C. pachystachya: *Cecropia pachystachya*, *C. glaziovii*: *Cecropia glaziovii*, *C. hololeuca*: *Cecropia hololeuca*

Os flavonoides, apesar de ainda não serem completamente conhecidos, apresentam um importante potencial terapêutico e diferentes atividades biológicas, como atividade antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antibacteriana, antiparasitária, atividade imunomoduladora, anti-inflamatória e antioxidante (intimamente ligada à

estrutura dos flavonoides e ao número de substituintes hidroxilas) (Moraes *et al.*, 2022).

De forma geral, a pesquisa sobre o gênero tende a se concentrar em espécies mais comuns e amplamente distribuídas, como a *Cecropia pachystachya* ou *Cecropia glaziovii*. Das mais de 60 espécies deste gênero, apenas 10 apresentam relatos sobre seus compostos químicos. No entanto, os flavonoides já identificados em embaúbas pertencem às classes dos flavan-3-óis (catequinas), flavonóis e flavonas. As flavonas C-glicosiladas com aglicona do tipo apigenina ou luteolina são os flavonoides mais comuns no gênero (Teixeira, 2018). Por isto, é muito provável que os mecanismos de ação anti-inflamatória sejam semelhantes entre as espécies do mesmo gênero, uma vez que elas compartilham um perfil fitoquímico similar.

No que tange à sua ação anti-inflamatória, os flavonoides encontrados na planta tem ação direta em quadros deste tipo. Os flavonoides são capazes de diminuir a síntese de diferentes citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8, através de mecanismos moleculares que incluem inibição dos fatores de transcrição NF-kB e proteína ativadora-1 (AP-1), e redução da atividade da proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK) (Seraini *et al.*, 2010).

Na dor, Teixeira (2018) em sua análise demonstra que o tratamento com o extrato aquoso de *Cecropia hololeuca* e suas frações aquosa e orgânica sugerem que o mecanismo antinociceptivo destes compostos pode estar relacionado a uma diminuição da síntese de mediadores inflamatórios em tecidos periféricos ou por bloqueio direto de seus receptores, o que resulta em um efeito antinociceptivo. Seus achados científicos comprovam que extratos e frações isoladas de *Cecropia hololeuca* apresentam atividade anti-edematogênica, antinociceptiva e anti-inflamatória em todas as etapas do estudo embasando alguns relatos etnobotânicos que relacionam o uso desta espécie e gênero às doenças que cursem com dor e inflamação (Teixeira, 2018).

Cabe ressaltar, que em meio à literatura pesquisada, não houve relatos de efeitos adversos pelo uso dos tratamentos com extratos da planta, o que confere mais uma vantagem sobre seu uso em relação aos opioides.

4.5. MORFINA: OPIOIDE REFERÊNCIA

A morfina ($C_{17}H_{19}NO_3$), substância alcaloide, tem suas origens na história do ópio. O ópio é conhecido desde a antiguidade. Existem imagens arqueológicas que sugerem o seu emprego nas culturas sumérias, enquanto outros estudos demonstram que a maioria dos povos antigos já conhecia e utilizava esta substância, incluindo os assírios, árabes, egípcios, gregos, romanos, chineses e persas (Martins *et al.*, 2012).

O ópio, substância original do grupo farmacológico opioide, é extraído da papoula, nome popular do *Papaver somniferum*, uma das muitas espécies da família das Papaveráceas, que se caracteriza por apresentar folhas solitárias e frutos capsulados (Duarte, 2005).

De acordo com o Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID, 2004), ao se fazer cortes na cápsula da papoula, quando ainda verde, obtém-se um suco leitoso, o ópio. Quando seco, este suco passa a se chamar pó de ópio e nele existem várias substâncias com grande atividade. A substância mais conhecida é a morfina, palavra que vem do deus da mitologia grega Morfeu, o deus dos sonhos.



Figura 5. Representação ilustrativa de flores de papoulas. Fonte: KÖHLER, Franz Eugen (1887).

Outras papoulas, em especial a *Papaver bracteatum* e a *Papaver orientale* são ricas em tebaína e servem para a produção de hidromorfona, hidrocodona e outros opioides sintéticos (Martins *et al.*, 2012).

Pode-se dizer que o fato mais importante do início do século XIX foi a descoberta da morfina, obtida por Friedrich Sertürner, um alemão, assistente de farmacêutico, que trabalhou no isolamento de princípios ativos do ópio em 1801 (Duarte, 2005). Entretanto, a primeira referência inquestionável ao suco da papoula é encontrada nos escritos de Theophrastus, filósofo grego sucessor de Aristóteles, no terceiro século a.C. Os gregos já conheciam as propriedades medicinais do ópio, usado principalmente devido às suas propriedades analgésicas, antitussígenas e antidiarreicas (Fernandes, 2018).

A morfina foi o primeiro analgésico introduzido na medicina e é utilizado como parâmetro no desenvolvimento de novos analgésicos, embora nenhum outro possa ser considerado superior à morfina, apenas equivalente (Soares *et al.*, 2007). Este é o motivo pelo qual a substância é tão utilizada como referência no quesito de comparação a outros analgésicos.

Dentre os principais derivados naturais do ópio, além da morfina, se encontram a codeína, a tebaína, a noscapina e a papaverina. Os principais derivados semissintéticos são a heroína, oximorfona, oxicodona e hidrocodona, enquanto que os totalmente sintéticos são a metadona, fentanil, sufentanil e alfentanil (Gozzani, 1994).

Outro progresso a ser contabilizado, desta vez no século XX, foi a possibilidade de administrar opioides por outras vias além da oral, da subcutânea e da muscular. Destacam-se a via espinhal, a transdérmica, as submucosas (nasal e sublingual) e a intra-articular (Duarte, 2005).

Desde a metade do século XX, existia o conceito da provável existência de estruturas celulares que reconhecessem as diversas moléculas, permitindo assim a sua ativação. Essas estruturas, denominadas receptores, demonstravam alto grau de especificidade para cada substância (Martins *et al.*, 2012).

A morfina é um fármaco agonista, isto é, a interação fármaco-receptor desencadeia um evento bioquímico que corresponde à sua ação biológica. Ela exerce seus efeitos através dos receptores μ , δ e κ , com maior afinidade pelos receptores μ (Gozzani, 1994). Uma elevada concentração de receptores está localizada no corno dorsal da medula espinhal, núcleo trigêmeo medular, tálamo, hipotálamo, substância periaquedutal cinzenta, núcleos da rafe, na região ventral superior do bulbo e da ponte *locus ceruleus*. Algumas dessas regiões estão relacionadas às vias inibitórias descendentes que modulam a transmissão do estímulo doloroso (Soares *et al.*, 2007).

Todos os receptores opiáceos estão ligados através das proteínas G à inibição da adenilato ciclase. A proteína G é um componente de um grupo de proteínas chamado de receptores acoplados à proteína G (GPCRs). Esses receptores estão presentes na membrana plasmática das células e são responsáveis por detectar moléculas externas e ativar respostas celulares. Os receptores opiáceos também exercem efeitos sobre os canais iônicos através da proteína G diretamente acoplada ao canal. Desta forma, os opioides promovem a abertura dos canais de potássio, causando hiperpolarização, e inibem a abertura dos canais de cálcio voltagem dependentes, inibindo a liberação do transmissor (Rang *et al.*, 2016).

Devido à ampla distribuição dos receptores opioides, a ligação da molécula de morfina acarretará diversos outros efeitos além da analgesia. Os efeitos mais importantes são observados no sistema nervoso central e no trato gastrointestinal, sendo bastante diversos (Fernandes, 2018).

Além disso, tem sido demonstrado que a morfina proporciona liberação de histamina, o que pode provocar prurido e constrição bronquiolar. A histamina é uma amina básica armazenada nos grânulos dos mastócitos e dos basófilos e produz efeitos ao atuar nos receptores H1, H2, H3 e H4 das células-alvo tais como vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e estimulação cardíaca (Rang *et al.*, 2016).

4.6. MODELOS EXPERIMENTAIS

A história da ciência mostra que se buscou nos animais a chave para a compreensão das doenças, bem como estratégias terapêuticas para tratá-las. Desta forma, a pesquisa pré-clínica, ao longo dos anos, se tornou uma etapa fundamental para garantir que os medicamentos ou protocolos de tratamentos fossem seguros e eficazes (Duarte, 2022).

No contexto da medicina, seja humana ou veterinária, o uso de modelos de experimentação animal tem contribuído para o entendimento de muitos aspectos referentes à genética, doenças e interações medicamentosas de diversos fármacos. Devido ao curto período reprodutivo destes animais e à rápida maturação de seu organismo, tais modelos têm representado numerosos testes no campo da medicina e das ciências biológicas (Krink, 2000).

Com o avanço das pesquisas e resultados que estas traziam, uma série de normativas foi criada e a legislação relacionada ao uso de animais em pesquisa científica no Brasil constitui algo recente. Além de estabelecer normas para as práticas didáticas e científicas de vivisseções de animais em todo o território nacional, ela também visa ao bem estar animal e à determinação e fiscalização das normas de funcionamento dos diversos tipos de biotérios (Silva, 2022).

Diversos eventos contribuíram para a criação e o fortalecimento da legislação vigente no Brasil e no mundo, além de ampliarem a discussão acerca da necessidade de expansão de métodos alternativos ao uso animal na experimentação e em práticas relacionadas ao bem-estar animal. Dentre estes marcos históricos, destaca-se o “Princípio dos 3R’s”, definidos na Tabela 2, a seguir:

Tabela 2. “Princípio dos 3 R’s. Fonte: Silva

Princípio	Definição
Replacement (<i>Substituição</i>)	Trata-se de métodos que substituem ou evitam o uso de animais em pesquisas científicas. Ex. Utilização de cultura de células, modelos computacionais etc.
Reduction (<i>Redução</i>)	Refere-se ao fundamento que minimiza o uso de animais utilizados por experimento. Ex. Uso da estatística para determinar o menor número de animais que poderiam ser utilizados com eficácia durante o ensaio experimental etc.
Refinement (<i>Refinamento</i>)	Ferramenta que visa minimizar o sofrimento animal e objetiva melhorias relacionadas ao bem-estar animal. Ex. Uso de analgésicos, controle do macro e microambiente onde o animal está acondicionado, humanização dos procedimentos etc.

O princípio dos 3R’s foi originalmente proposto por Charles Hume, na década de 1950, fundador da *Universities Federation for Animal Welfare*, e ainda hoje representa um marco revolucionário e norteador das legislações que regem a utilização de animais para fins didáticos e/ou científicos em diversos países, inclusive no Brasil.

Quanto aos animais de preferência nos trabalhos de pesquisa, destacam-se os roedores machos, visto que eles não apresentam os possíveis efeitos decorrentes das variações fisiológicas, nos níveis dos hormônios gonadais que ocorrem durante o ciclo estral das fêmeas (Gomes e Melo, 2022).

Em 2002, a revelação do genoma do camundongo mostrou que existem cerca de 24.000 genes, os quais são distribuídos em 40 cromossomos, enquanto os humanos possuem 46 cromossomos. A similaridade entre os genomas do camundongo e humano é de 70% a 90% (Duarte, 2022).

O modelo utilizado nesta pesquisa é o camundongo *Mus musculus*. Este camundongo de laboratório é um híbrido cujo genoma é um mosaico de três subespécies: *Mus musculus domesticus*, *Mus musculus musculus* e *Mus musculus castaneus*. Logo, como o camundongo de laboratório foi criado para ter maior uniformidade genética, ele se tornou geneticamente muito diferente dos selvagens e são menos agressivos (Duarte, 2022).

Tabela 3. Parâmetros fisiológicos gerais de camundongos (*Mus musculus*) utilizados em pesquisas científicas. Fonte: Lira, 2022.

Tempo médio de vida	1.5 a 2.5 ano
Temperatura corporal (retal)	37,1 - 39,0°C
Frequência cardíaca	450 – 700 batimentos por minutos*
Pressão arterial média (PAM)	93 – 103 mmHg*
Sistólica (PS)	110 – 117 mmHg*
Diastólica (PD)	75 – 85 mmHg*
Frequência respiratória	106 – 230 min ⁻¹
PO ₂	35,0 mmHg
PCO ₂	78 – 84 mmHg
pH	7,37
Massa corporal	
Ao nascimento	1 – 1,5g
Machos (adulto jovem)	35 – 40g*
Fêmeas (adulto jovem)	30 – 35g*
Ingestão hídrica	15 – 21g/100g de massa corporal
Ingestão alimentar	12 – 18g/100g de massa corporal
Maturidade sexual	
Machos	5 – 7 semanas de vida*
Fêmeas	4 – 5 semanas de vida
Ciclo estral	4 a 5 dias*
Tempo de gestação	19 a 21 dias*
Número de filhotes por ninhada	10 – 12*

Dadas as características genéticas e comportamentais supracitadas, que favorecem a reprodutibilidade experimental, o *Mus musculus* foi selecionado como modelo biológico. A Figura 6 ilustra um exemplar da linhagem utilizada no desenvolvimento deste estudo.



Figura 6. Camundongo *Mus musculus* utilizado nesta pesquisa. Fonte: Swiss Info.

Cabe ressaltar que ratos, camundongos e outros roedores representam 95% de todos os animais usados e os primatas não humanos representam 0,33%. Ao lado da constituição genética, existem muitas semelhanças anatômicas entre esses animais e o ser humano, pois eles possuem um mesmo conjunto de órgãos como coração, fígado, rins, pulmão e outros tecidos (Oliveira, 2022), tornando-os modelos ideais para experimentação e tratamentos diversos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

Para a experimentação animal desta pesquisa foram utilizados camundongos provenientes do biotério da Unidade de Estudos Avançados (UEA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), do estado do Rio de Janeiro.

Todos os protocolos experimentais foram produzidos de acordo com as normas e princípios éticos de experimentação em animais de laboratório, tendo sido enviado e aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) sob protocolo de número 9410250924.

Os animais do estudo foram mantidos em gaiolas, à temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), em ciclo claro-escuro de 12 horas, com comida e água *ad libitum*, com peso entre 28 a 30 gramas.

O extrato de *Cecropia hololeuca* utilizado neste trabalho foi elaborado no Laboratório de Ciências Químicas (LCQUI) da Universidade Estadual do Norte Fluminense, enquanto o extrato de *Cannabis sativa* foi obtido através de um convênio com a Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) na concentração de 50% CBD e 50% THC. Todas as substâncias estavam sob forma bruta e foram solubilizadas em azeite de oliva acrescido de dimetilsulfóxido (DMSO) em microdose para a estabilização do composto.

Cabe ressaltar que não há dose padrão para nenhum dos extratos trabalhados, pelo fato dos mesmos ainda estarem sendo experimentados em diversas doses e finalidades distintas. No caso da *Cecropia*, que carece de mais estudos no meio científico, será trabalhada a dose de 90 mg/kg, sendo esta uma dose com efeito analgésico comprovado, segundo estudos anteriores realizados na própria Unidade de Experimentação Animal da UENF, setor onde esta pesquisa é conduzida.

Quanto à *Cannabis*, apesar da crescente adesão ao seu uso terapêutico, ainda não existem diretrizes clínicas padronizadas ou ensaios clínicos randomizados robustos que definam um protocolo universal de dose para diferentes doenças. De acordo com Johnson *et al.* (2010), doses entre 10 e 20 mg de THC, isolado ou combinado ao CBD, são as mais frequentemente utilizadas no manejo da dor neuropática crônica, com perfil de segurança aceitável.

Cabe ainda ressaltar que as doses possuem maior variação de acordo com a composição do óleo. Doses maiores são preconizadas em óleos que contêm apenas CBD, no entanto, quando se trata de óleos *full spectrum*, ou seja, de espectro completo (com presença de THC e múltiplos canabinoides), a dose fica mais complexa a definir.

Quanto às vias de administração dos extratos, por se tratar de substâncias ainda sem padronização segura por via endovenosa, foi escolhida a via oral, através de administração orogástrica (gavagem), que é a via padrão para administração de extratos. Este método foi escolhido em acordo com as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), que demonstra que a

gavagem permite a administração da dosagem exata e é o método mais preciso dentre os procedimentos por administração oral, uma vez que o volume da substância pode ser administrado com segurança.

A morfina foi administrada de modo intraperitoneal, na dose de 5 mg/kg. A via intraperitoneal é comumente usada em ratos e camundongos para administração de substâncias. Não é necessária anestesia e a injeção é feita no quadrante abdominal inferior do lado direito do animal (CONCEA, 2023).

Cabe ressaltar que antes de qualquer teste ser iniciado, os animais passaram por uma fase anterior de aclimação em câmaras de observação por cerca de 20 (vinte) minutos para que pudessem ficar adequadamente ambientados. Ressalta-se também que não foi necessário qualquer regime de jejum prévio aos testes.



Figura 7. Animais em fase de aclimação. Fonte: Arquivo pessoal.

Logo na primeira fase das experimentações, onde foi analisada a resposta inflamatória e hiperalgesia, foi utilizada uma amostra de 24 (vinte e quatro) camundongos *Mus musculus*, que foram divididos em grupos de seis (6) animais. Este é um número mínimo estatisticamente relevante e que respeita o princípio dos 3 R's já

apresentados. A determinação do número mínimo de camundongos necessários para um estudo de experimentação envolve considerações estatísticas que visam garantir a confiabilidade dos resultados e garantam que os dados coletados forneçam uma interpretação válida e significativa. As diretrizes gerais recomendam que um tamanho de amostra de pelo menos 3 a 5 indivíduos por grupo seja adotado em muitos estudos iniciais, sendo este número frequentemente considerado o mínimo para detectar diferenças estatísticas (Serdar *et al.*, 2021).

Para o teste da formalina, o Grupo 1 foi previamente tratado por 3 dias com 10 mg/kg de *Cannabis sativa*; o Grupo 2 recebeu 90 mg/kg do extrato de *Cecropia hololeuca*; e o Grupo 3 recebeu 5 mg/kg de morfina. No dia do teste os animais também receberam as substâncias meia hora antes do início do procedimento. Os extratos foram administrados por via oral e a morfina foi administrada por via intraperitoneal.

Depois, o modelo edema de pata induzido pela formalina foi realizado através de injeção de 20 μ L de formalina a 2,5% na região subplantar da pata direita traseira.



Figura 8. Modelo edema de pata sendo induzido pela formalina em camundongo *mus musculus*. Fonte: Arquivo pessoal.

Foi avaliado o tempo gasto pelo animal lambendo a pata, o que será um indicativo da primeira fase da resposta nociceptiva (entre 0 e 5 minutos), e no intervalo correspondente de 15 a 30 minutos seguintes, que será o indicativo da segunda fase da resposta nociceptiva (dor inflamatória), após a injeção de formalina (Hunskar e Hole, 1987). Foi calculada a porcentagem de inibição da dor através da fórmula:

$$\text{Porcentagem de Inibição (\%)} = \frac{(T_{\text{controle}} - T_{\text{tratamento}})}{T_{\text{controle}}} * 100$$

onde o T_{controle} é a média de tempo de lambedura do grupo controle e o Tratamento é a média de tempo de lambedura do grupo tratado. Os dados coletados foram analisados estatisticamente para determinar se houve diferença significativa entre os grupos.

Para a segunda fase dos testes, os mesmos animais, além de mais um grupo de 24 (vinte e quatro) animais, que receberam os mesmos tratamentos, mas desta vez **após** a indução da lesão, passaram pela avaliação da dor nas lesões através do aparelho analgesímetro digital, versão digitalizada dos filamentos de Von Frey. Este teste tem como objetivo avaliar mudanças na sensibilidade tátil em resposta a um estímulo mecânico resultantes de um dano neural. Cada indivíduo de cada grupo foi avaliado durante sete dias, que é o tempo determinado de duração de uma injúria aguda.

Os filamentos de Von Frey são utilizados para determinar parâmetros de origem tátil, mecânica e para quantificar objetivamente processos nociceptivos, já que a deformação de suas hastes pode ser transformada em parâmetros de força com unidade em gramas, fazendo com que a avaliação do processo doloroso deixe de ser subjetivo e passe a ter um caráter mais direto (Valadão *et al.*, 2002).



Figura 9. Analgesímetro digital utilizado para avaliação de limiar doloroso em modelos experimentais. Fonte: Arquivo pessoal.

O aparelho, modelo EFF 301, número de série 1 230512 (Insight ®) possui um braço transdutor de força ligado a um pino sensor, através do qual é realizada uma força de intensidade crescente contra a superfície da pata traseira do animal para que seja determinado o limiar de retirada da pata (resposta de Flinch). A intensidade da nocicepção do animal é quantificada como a variação na pressão obtida subtraindo-se a média de três valores expressos em gramas (força) observada antes do procedimento experimental (0 hora) e da média de três valores em gramas (força) após a administração dos estímulos, que variam de acordo com o experimento.

Desta forma, os grupos foram separados da seguinte maneira, de acordo com os testes. Para a avaliação inicial da atividade antinociceptiva, os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos distintos, variando-se o tratamento prévio

administrado. A Tabela 4 detalha o delineamento experimental adotado nesta 1ª Fase, especificando as doses utilizadas e a aplicação subsequente do teste da formalina.

Tabela 4. 1ª Fase experimental. Fonte: autoria própria.

Grupo 1	Tratamento prévio com 10 mg/kg de <i>C. Sativa</i>	Lesão seguida pelo teste da formalina
Grupo 2	Tratamento prévio com 90 mg/kg de <i>C. Hololeuca</i>	Lesão seguida pelo teste da formalina
Grupo 3	Tratamento prévio com 5 mg/kg de morfina	Lesão seguida pelo teste da formalina

Dando continuidade à investigação, a 2ª Fase expandiu o protocolo para incluir a avaliação de hipersensibilidade mecânica através do analgesímetro de Von Frey. Nesta etapa, foram contemplados tanto tratamentos prévios quanto tardios (pós-lesão), além de grupos controle adicionais. A distribuição detalhada destes grupos é apresentada no quadro a seguir (Tabela 5).

Tabela 5. 2ª Fase experimental. Fonte: autoria própria.

Grupo 1	Tratamento prévio com 10 mg/kg de <i>C. Sativa</i>	Lesão seguida pelo teste da formalina + analgesímetro de Von Frey
---------	--	---

Grupo 2	Tratamento prévio com 90 mg/kg de <i>C. Hololeuca</i>	Lesão seguida pelo teste da formalina + analgesímetro de Von Frey
Grupo 3	Tratamento prévio com 5 mg/kg de morfina	Lesão seguida pelo teste da formalina + analgesímetro de Von Frey
Grupo 4	Tratamento tardio com 10 mg/kg de <i>C. Sativa</i>	Lesão + tratamento + analgesímetro de Von Frey
Grupo 5	Tratamento tardio com 90 mg/kg de <i>C. Hololeuca</i>	Lesão + tratamento + analgesímetro de Von Frey
Grupo 6	Tratamento tardio com 5 mg/kg de morfina	Lesão + tratamento + analgesímetro de Von Frey
Grupo 7 (SHAM – animais falsamente lesionados)	Animais injetados com solução salina a 0,9%	Observação + analgesímetro de Von Frey
Grupo 8	Animais sem tratamento	Lesão seguida pelo teste da formalina + analgesímetro de Von Frey

5.1. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Todas as medidas controle foram realizadas antes dos testes, onde cada animal foi o seu próprio controle. Foram realizadas medidas das patas antes da injeção de formalina para estabelecimento de uma medida padrão fisiológica. Também foi

realizado um padrão de tolerância no analgesímetro de Von Frey, a fim de compreender o nível de pressão suportada pelos animais no aparelho.

O efeito do tratamento com as substâncias foi estudado em dois protocolos: tardiamente, após o estabelecimento da lesão; e previamente ao desenvolvimento do quadro da inflamação e dor aguda.

5.1.1. Teste da Formalina

Na primeira fase, onde o teste da formalina foi contemplado, os Grupos 1, 2 e 3 foram tratados com os extratos e a morfina durante três dias, uma vez a cada 24 horas antes do teste e no dia do teste, 30 minutos antes da injeção de formalina.

O teste da formalina é um dos modelos mais utilizados para explicar os mecanismos de dor e analgesia. O modelo é constituído por duas fases distintas. A primeira fase representa o efeito irritante da formalina nas fibras-C sensoriais e a segunda fase é uma resposta de dor inflamatória.

Em média, cerca de 10 a 20% das fibras C apresentam em suas terminações nociceptores latentes que são normalmente inativos e não respondem aos estímulos nociceptivos agudos. Estes nociceptores latentes de fibra C sofrem ativação gradual durante a resposta inflamatória, contribuindo ativamente para o desenvolvimento da hiperalgesia primária (Coutaux *et al.*, 2005).

Analgésicos de ação central, como a morfina, inibem as duas fases do teste; drogas de ação periférica, como os anti-inflamatórios não esteroidais e corticosteroides, inibem somente a segunda fase (Hunskar e Hole, 1987).

A lesão foi realizada através da inoculação de 20 µL de uma solução de formalina a 2,5%, no intuito de provocar uma reação inflamatória aguda seguida de um edema doloroso. Foram utilizadas seringas de insulina (1 mL) de ponta extrafina retrátil, de 29G x 1/2" VanishPoint® (Figura 8). Como o tecido plantar dos animais é extremamente delicado, este modelo foi escolhido a fim de evitar lesões adicionais por trauma.

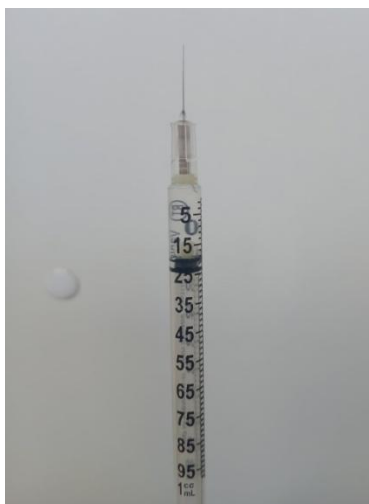


Figura 10. Seringa VanishPoint utilizada para o teste da formalina. Fonte: Arquivo-pessoal.

Cada animal foi avaliado individualmente após a lesão e o tempo de lambedura na pata após a inoculação da substância irritante foi contabilizado no momento seguinte à lesão. Ao fim do teste é possível observar clinicamente os sinais cardinais da inflamação (dor, vermelhidão, calor local, edema e perda de função). Os edemas foram medidos ao fim do teste com um paquímetro.

5.1.2. Analgesímetro de Von Frey

Para avaliar modificações na sensação e no desenvolvimento da dor aguda, foi utilizado o aparelho analgesímetro digital, versão digitalizada dos filamentos de Von Frey.

Esses filamentos são ferramentas usadas para medir a sensibilidade tátil e a resposta à dor em testes sensoriais quantitativos, bem como para determinar parâmetros de origem tátil e mecânica e quantificar objetivamente processos nociceptivos (Valadão *et al.*, 2002).

A hipernocicepção estudada pelo método de Von Frey, o qual avalia a sensibilidade tecidual ao estímulo mecânico, foi descrito por Maximilian Von Frey, fisiologista alemão, em 1896, e modificado por Cunha *et al.* (2004), para uma versão eletrôni-

ca em camundongos (Costa, 2019). Logo, o aparelho tem aplicações práticas clínicas para humanos e também para animais domésticos e de laboratório.

O aparelho é composto por um transdutor de pressão conectado a um contador digital, cuja intensidade de pressão é expressa em gramas força (gf). O contato do transdutor de pressão à pata é realizado através de uma ponteira descartável de polipropileno.

As alterações nos limiares nociceptivos foram avaliadas exercendo-se uma pressão crescente na planta da pata do animal até a produção de uma resposta caracterizada como sacudida ou “flinch”, que consiste num movimento rápido de retirada. Os estímulos são repetidos, em geral, até o animal apresentar três medidas similares com uma clara resposta de retirada ou por suportar até 3 segundos de pressão. Depois é calculada a média de três valores em gramas (força) após a administração dos estímulos, que variam de acordo com o experimento.

5.1.3. Avaliação clínica do modelo de dor aguda através da escala de expressão facial em camundongos (Grimace Scale)

Pesquisas têm demonstrado que alterações na expressão facial são um meio para a avaliação de dor em ratos. Pensando nisto, Langford e colaboradores (2010) desenvolveram a Escala Grimace, cuja metodologia tem a vantagem de não ser invasiva, necessitando somente da captação de imagens das expressões faciais dos camundongos (Hoepers, 2022).

De acordo com o autor, a composição do score das expressões faciais se divide em cinco categorias, sendo elas:

1. Aperto orbital: camundongos com dor apresentam um estreitamento na área orbital, manifestando-se como fechamento (parcial ou completo) dos olhos ou “aperto” dos olhos.
2. Achatamento do nariz/bochecha: camundongos com dor apresentam sucessivamente menos protuberância do nariz e da bochecha, com eventual ausência do vinco entre as bochechas e as almofadas dos bigodes.

3. Posição da orelha: as orelhas dos camundongos com dor tendem a dobrar, enrolar e inclinar para frente ou para fora. O espaço entre as orelhas pode parecer mais largo.
4. Alterações da bochecha: quanto maior a sensação dolorosa, maior o arqueamento das bochechas.
5. Alterações nas vibrissas: em um estado fisiológico, as vibrissas do camundongo ficam relaxadas e estendidas. Quando o animal sente dor, ele tende a retrain as vibrissas, aproximando-as da face.

A Escala Grimace de camundongos			
Categorias	Ausente (0)	Moderadamente presente (1)	Severo (2)
Estreitamento ocular			
Arqueamento nasal			
Arqueamento da bochecha			
Posicionamento auricular			
Posicionamento das vibrissas			

Figura 11. Escala facial de dor para camundongos. Fonte: National Centre for Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research (2015).

Cabe ressaltar que no presente trabalho, a Grimace Scale foi utilizada como um complemento da avaliação clínica dos animais, evidenciando a ausência e a presença de dor moderada ou intensa nos diferentes grupos, através de imagens registradas ao fim do experimento.

5.1.4. Análise histopatológica

Para atestar a segurança dos extratos e seus impactos em órgãos envolvidos em metabolização, após a eutanásia dos animais foram coletados rins e fígado. As amostras foram fixadas em solução tamponada de formaldeído a 10% durante 24 horas e subsequentemente clivadas, armazenadas em histossetes plásticos (casete histológico).



Figura 12. Amostras de tecidos armazenadas em formol a serem cortadas e armazenadas em histossetes para posterior processamento. Fonte: Arquivo pessoal.

Em seguida, as amostras foram processadas num Processador Automático de Tecidos (LEICA TP1020 ®) incluídas em parafina para serem cortadas através de um micrótomo semiautomático (LEICA RM2145 ®) em seções de 5 mm e coradas pela Hematoxilina e Eosina (HxE).

As fotomicrografias obtidas foram documentadas e arquivadas. Os órgãos coletados foram avaliados quanto à preservação de arquitetura, degeneração e presença ou não de infiltração leucocitária.

5.1.5 Ponto final humanitário

Definir o ponto final humanitário é estipular o momento em que uma ação deva ser tomada a fim de minimizar o sofrimento animal. Nesta pesquisa, este momento foi definido imediatamente ao fim dos testes experimentais, através de sobredose anestésica de 270 a 300 mg/kg de cetamina e 15 a 30 mg/kg de xilazina.

5.2. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para o teste da formalina e para a análise do volume dos edemas, os dados levantados e contabilizados na equação de porcentagem de inibição foram analisados através de média e erro padrão (E.P.). Análise de variância (ANOVA) e teste Tukey foram usados para medir o grau de significância para $p < 0,05$.

Já os dados do teste de Von Frey foram tabelados e avaliados através do programa GraphPad Prism versão 6. Foi realizada Análise de Variância One-Way, com pós-teste Newmann Keuls, admitindo confiabilidade de 95% ($p < 0,0001$). Além disso, os dados fora da curva de distribuição normal foram corrigidos pelo teste de Bartlett's.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. TESTE DA FORMALINA E PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO

A primeira fase dos testes envolveu o teste da formalina e avaliação comportamental dos camundongos. Os animais foram tratados com os extratos e a morfina por 3 dias e no dia da indução da lesão, 30 minutos antes da injeção de formalina. O objetivo desta avaliação inicial é verificar se há efeito profilático dos fármacos nas doses testadas.

Os dados mostram médias (em segundos) de tempo em comportamento nociceptivo (lambertura ou mordedura da pata) nas duas fases do teste – fase 1 (neurogênica) e fase 2 (inflamatória) – além do percentual de inibição da nocicepção em relação ao controle negativo, conforme apontado na Tabela 6.

Tabela 6. Resultado do teste da formalina e porcentagem de inibição entre os diferentes grupos e tratamentos. Fonte: autoria própria.

Medicamentos	Dose	1a Fase		2a Fase	
		Média (s) $\pm$ EPM	Inibição (%)	Media (s) $\pm$ EPM	Inibição (%)
Control Sham	0,02 mL NaCl 0,9%	0 s	N/A	0 s	N/A
Control Negativo	0,02 mL formalina	77,667 $\pm$ 8,345	0	20,5 $\pm$ 3,452	0
Cecropia	90 mg/kg	55,667 $\pm$ 10,544	28,32618026	17,500 $\pm$ 2,814	14,63414634
Cannabis	10 mg/kg	54,167 $\pm$ 8,047	30,25751073	18,000 $\pm$ 4,074	12,19512195
Morfina	5 mg/kg	8,500 $\pm$ 1,284 *	89,05579399	0,00 $\pm$ 0,00*	100

*Significativo em relação ao controle após análise de variância (ANOVA) seguida de Teste Tukey ($p < 0,05$).

O Grupo SHAM apresentou 0 segundo de comportamento nociceptivo em ambas as fases, mostrando que a solução fisiológica e a injeção em si não induzem

dor. Em contraposição, os animais injetados com formalina e sem tratamento demonstraram longo tempo de comportamento nociceptivo - 77,67 s (Fase 1) e 20,5 s (Fase 2) - estabelecendo o padrão de dor aguda no modelo.

No que tange aos tratamentos utilizados, a *C. hololeuca* reduziu o tempo para 55,67 s (inibição: 28,3%), demonstrando efeito antinociceptivo moderado na fase 1 e 17,5 s (inibição: 14,6%) na fase 2, indicando efeito também sobre a hipersensibilização inflamatória, porém, com menor intensidade na dose testada.

Os resultados da *C. sativa* demonstraram o tempo para fase 1 de 54,17 s (inibição: 30,3%), próximo ao efeito do *Cecropia*; e fase 2 de 18,0 s (inibição: 12,2%). Assim como a *Cecropia*, o extrato de *Cannabis* apresenta efeito moderado na inibição de ambos os tipos de dor no referido teste, com uma diferença percentual um pouco mais elevada.

No entanto, o grupo tratado com morfina sugere diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo, uma vez que a fase 1 atingiu inibição de 89,1% (resultado significativo destacado pelo asterisco) e fase 2 com 100% de inibição – evidenciando amplo potencial em ambas as fases, como um resultado já esperado.

Os resultados estatísticos obtidos no teste revelam diferenças claras na eficácia antinociceptiva de cada intervenção. No grupo controle negativo, os animais apresentaram tempo elevado de comportamento nociceptivo tanto na fase neurogênica quanto na inflamatória do teste, demonstrando a efetividade do modelo em provocar dor aguda e inflamação. O Grupo SHAM, com injeção de solução fisiológica, serviu como referência para ausência de dor, com limiar alto e estável ao longo do acompanhamento.

Os grupos tratados com extratos naturais, tanto de *Cecropia* quanto de *Cannabis*, mostraram redução do comportamento nociceptivo em ambas as fases do teste. No entanto, essa inibição foi moderada (entre 12–30%) em comparação à morfina, mas ainda assim, refletindo a capacidade de atuação sobre mecanismos de dor tanto periférica quanto central.

Cabe ressaltar que a dor da fase inicial do teste ocorre devido aos efeitos diretos nos nociceptores, podendo ser inibida por analgésicos de ação central, enquanto a fase tardia se deve a uma resposta inflamatória parcialmente mediada por

prostaglandinas (Hunskar e Hole, 1987). O componente inflamatório da resposta nociceptiva, a segunda fase, começa após um período de 10 a 15 minutos e é mediada pela liberação de mediadores, como bradicinina, histamina, aminas simpaticomiméticas, fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas (Costa, 2019). Logo, isso reforça a ideia de que os extratos, ainda em ação moderada, conseguiram promover inibição dolorosa e efeito anti-inflamatório nas doses testadas.

Por sua vez, a morfina evidenciou efeito antinociceptivo robusto, com quase total inibição dos comportamentos de dor na fase neurogênica e supressão completa na fase inflamatória. Isso está relacionado ao seu mecanismo de ação como agonista dos receptores μ , bloqueando a transmissão dos sinais nociceptivos na medula espinhal e regiões superiores do sistema nervoso central. Os receptores μ são responsáveis pela maioria dos efeitos analgésicos dos opiáceos (Soares *et al.*, 2007).

O efeito de morfina se traduz em analgesia intensa, com substancial diminuição da hipersensibilidade induzida pela formalina, validando sua referência como potente controle positivo em modelos de dor aguda inflamatória.

Logo, os resultados demonstram que os extratos naturais oferecem atividade antinociceptiva, embora menos intensa que a morfina, sugerindo sua aplicação potencial como adjuvante ou alternativa fitoterápica em situações clínicas de dor inflamatória e testes em doses mais altas, uma vez atestada sua segurança sistêmica.

6.2. ANALGESÍMETRO DE VON FREY

6.2.1. *Cannabis sativa*

Nesta segunda fase dos experimentos, dois grupos (Grupo 1 e Grupo 3) receberam tratamento à base do extrato de *Cannabis* em dois protocolos distintos: profilático (antes da indução da lesão) e terapêutico (depois da indução da lesão), e foi realizada a manutenção do tratamento até o fim do período agudo da lesão / inflamação.

O Grupo 1 recebeu tratamento prévio com o extrato de *Cannabis* por 3 dias antes da indução da lesão e depois foi tratado por mais 7 dias totalizando 10 dias de

tratamento. Os animais foram avaliados nas faixas de 30, 60 e 90 minutos após a administração do óleo (a exceção do dia da lesão, onde foram avaliados na faixa de 30 e 90 minutos), conforme a Figura 13:

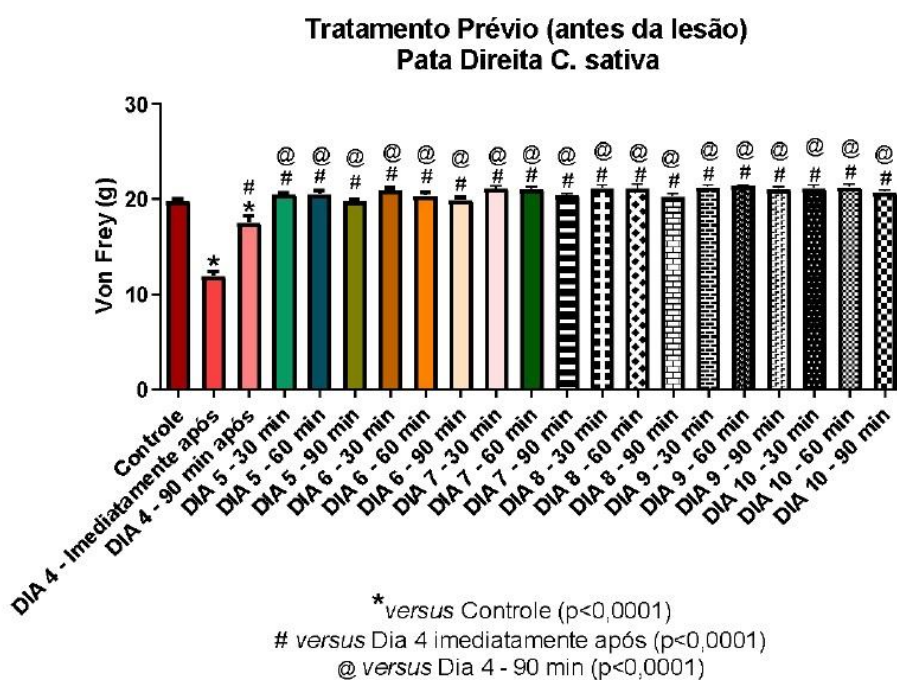


Figura 13. Aferições da pata direita dos animais tratados com Cannabis sativa durante o protocolo pré-lesão. Fonte: Autoria própria.

O principal objetivo foi investigar se haveria controle da dor aguda e inflamação durante todos os dias de lesão instaurada no membro direito e seu desfecho clínico ao longo dos dias.

De acordo com o teste estatístico, foi possível observar que as aferições referentes a todos os dias de tratamento se aproximaram às do grupo controle, exceto no dia 4, ou seja, imediatamente após a indução da lesão. No entanto, após 90 minutos de instauração do tratamento, nota-se que o limiar volta a subir significativamente, sugerindo início do efeito do tratamento com *Cannabis*. Já do dia 5 ao dia

10, os valores permanecem elevados indicando manutenção da analgesia e redução da hipersensibilidade.

Estatisticamente, nota-se uma queda significativa no limiar de resposta à dor imediatamente após a indução pela formalina, caracterizando o desenvolvimento de hiperalgesia inflamatória. Esse efeito é comprovado pela diferença altamente significativa em relação ao grupo controle, conforme apontado pelo valor de $p < 0,0001$, indicando estabelecimento do modelo de dor aguda e inflamação, representado na Figura 14.

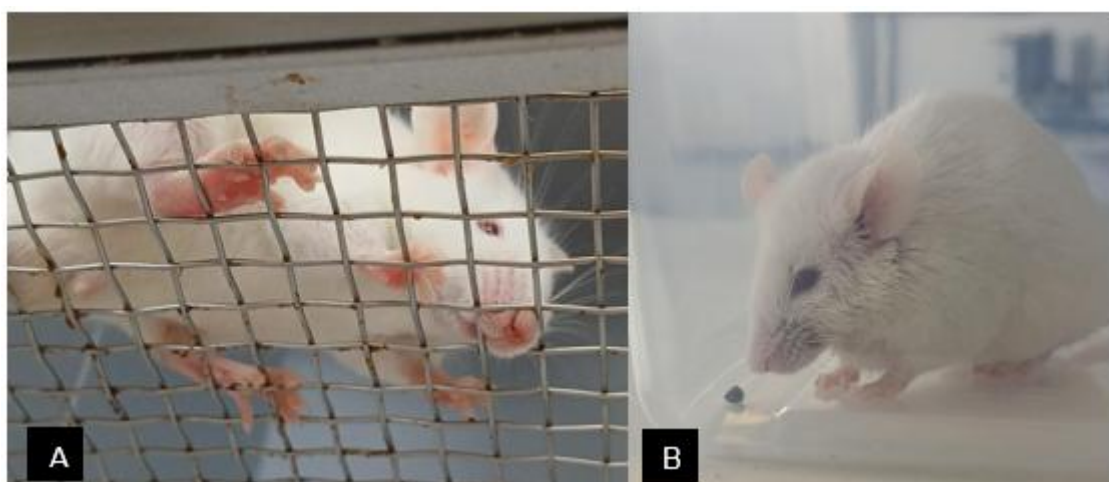


Figura 14. Camundongos após instilação de formalina na pata direita. (A): Pata direita com marcada lesão induzida por formalina. (B): Visível expressão de dor caracterizada por orelhas posicionadas para trás, alteração das vibrissas e leve aperto orbital. Fonte: Arquivo pessoal.

Com a manutenção do tratamento com extrato de *Cannabis sativa*, observou-se uma rápida elevação no limiar de dor já aos 90 minutos após a lesão, permanecendo significativamente mais alto nos dias subsequentes em comparação ao momento imediatamente pós-formalina.

O grupo seguinte (Grupo 3) recebeu o extrato de *Cannabis* somente após a indução da lesão e foi tratado e avaliado durante 7 dias, nas faixas de 30, 60 e 90

minutos após a administração do óleo (com exceção do dia da lesão). Buscou-se aferir se haveria alguma mudança estatística ou clínica nos animais com um protocolo iniciado após o estabelecimento da lesão.

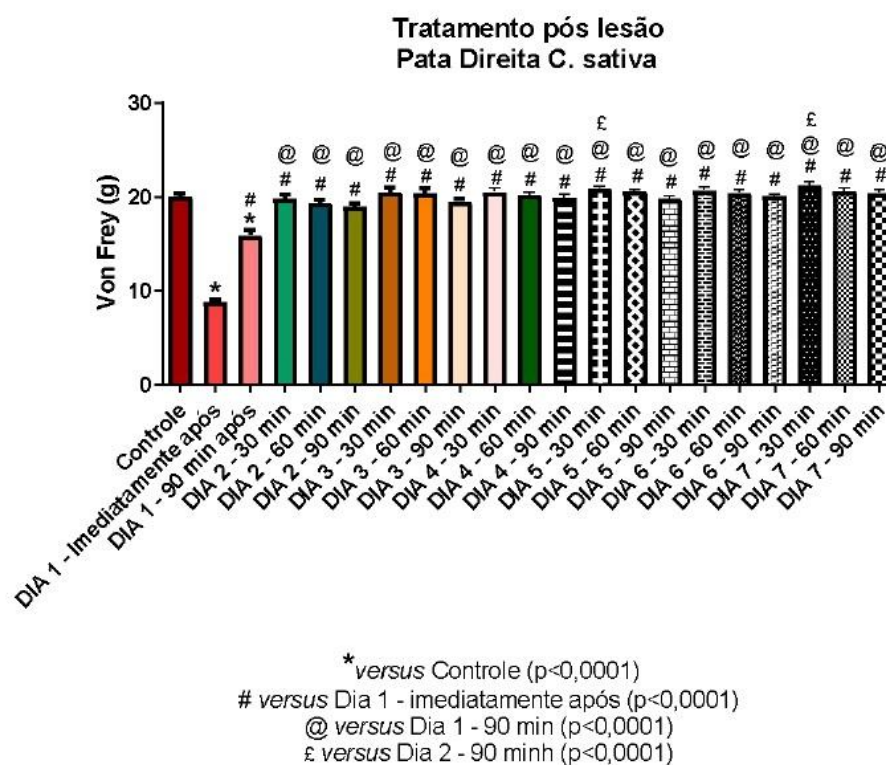


Figura 15. Aferições da pata direita dos animais tratados com Cannabis sativa durante o protocolo pós-lesão. Fonte: Autoria própria.

No protocolo pós-lesão o gráfico demonstra como o tratamento com extrato de *Cannabis* influenciou o limiar de dor em camundongos após a indução de dor aguda com formalina. Logo após a lesão, os animais apresentaram queda acentuada no limiar nociceptivo, indicando hiperalgesia intensa – sendo esta diferença significativa comparada ao grupo controle.

Após iniciar o tratamento com o extrato, já nos primeiros 90 minutos observou-se recuperação parcial do limiar de dor – padrão semelhante observado no gru-

po anterior. Do segundo ao sétimo dia, os limiares permaneceram elevados, estatisticamente superiores ao grupo imediatamente pós-lesão e em parte dos grupos, também superiores a 90 minutos do primeiro dia e ao segundo dia. Esses resultados demonstram que, mesmo com tratamento iniciado somente após a lesão, o extrato de *Cannabis sativa* rapidamente restaurou e manteve altos os limiares nociceptivos, sugerindo redução sustentada da hipersensibilidade à dor inflamatória.

6.2.2. Discussão *Cannabis sativa*

Em ambos os grupos a monitoração temporal sugeriu que o pico de ação do extrato ocorreu na faixa temporal dos 90 minutos de tratamento e reverteu rapidamente a hipersensibilidade induzida anteriormente. Isso vem de acordo com os estudos de Huestis (2009), que explica que, principalmente em soluções oleosas devido a sua afinidade por gordura, a absorção do extrato de *Cannabis* é mais lenta, com concentrações plasmáticas mais baixas quando comparadas às vias inalatória ou intravenosa, por exemplo.

É importante ressaltar que o manejo do tratamento ao longo dos dias promoveu efeito analgésico sustentado durante todo o período de observação, como revelado pelas diferenças estatísticas entre os diferentes grupos temporais. Além da boa tolerância ao analgesímetro, ao longo dos dias de tratamento notou-se redução progressiva do edema das patas, conduzindo-os a um desfecho clínico satisfatório – evidenciando potencial anti-inflamatório do extrato. Isso vem de encontro com o já afirmado por Bloom e colaboradores (2020) quando apontam que crescentes evidências experimentais apoiam o uso de compostos derivados da *Cannabis*, o CBD e o $\Delta 9$ -THC, na redução da inflamação e na melhoria dos sintomas em diferentes condições inflamatórias.

Os mecanismos de ação da *Cannabis* na inflamação periférica têm revelado que o $\Delta 9$ -THC e CBD exercem efeitos anti-inflamatórios por meio da modulação do sistema endocanabinoide, especificamente na interação com os receptores CB1 e CB2, inibindo a liberação de mediadores inflamatórios, como citocinas e quimiocinas, resultando em redução da resposta inflamatória periférica (Araújo, 2024).

No que tange ao comportamento dos animais, notou-se nos primeiros dias de tratamento, em que os animais apenas recebiam a medicação, dois indivíduos do Grupo 1 que apresentaram leve letargia, cochilando na gaiola de aclimação. Outros dois animais apresentaram excitação, intensificando sua atividade na gaiola.

Esse fenômeno vem de encontro com o que a literatura prevê: quando alguns pacientes tratados com extrato de *Cannabis* apresentam sonolência ou, em outros casos, excitabilidade nos primeiros dias de tratamento, e esse padrão pode ser explicado pela complexa interação dos fitocanabinoides (em especial o THC) com o sistema nervoso central, especialmente por meio dos receptores CB1. Estes receptores possuem alta densidade em regiões do cérebro que regulam sono-vigília, memória, humor e comportamentos emocionais, como o hipotálamo, prosencéfalo basal, cerebelo e córtex cerebral (Silva *et al.*, 2022), gerando os efeitos observados.

Os fitocanabinoides atuam modulando a liberação de diferentes neurotransmissores, como dopamina, serotonina, noradrenalina, acetilcolina e GABA, que influenciam diretamente os estados de alerta, sono, tranquilidade e excitação; no entanto, cabe ressaltar que em cada paciente pode haver uma resposta individual (Nascimento, 2021; Silva *et al.*, 2022).

Ressalta-se, ainda, que, após três dias de medicação, esses animais já apresentaram estabilidade comportamental e foram cooperativos para a realização dos ensaios até o desfecho clínico.

Assim como o Grupo 1, o Grupo 3 também alcançou boa resolução clínica ao final dos 7 dias de tratamento, com redução dos edemas de pata, bem como desaparecimento dos sinais cardinais da inflamação, conforme a Figura 12. A resolução do quadro algico e inflamatório corrobora o estudo descrito por Marinho e Silva-Neto (2023), que apontou que, dentre os efeitos dos derivados canabinoides, a modulação imunológica referente à supressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e outras citocinas como fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), interleucina 6 (IL-6), interferon-gama (IFN- γ) e interleucina 12 (IL-12) produz atividade anti-inflamatória potente.

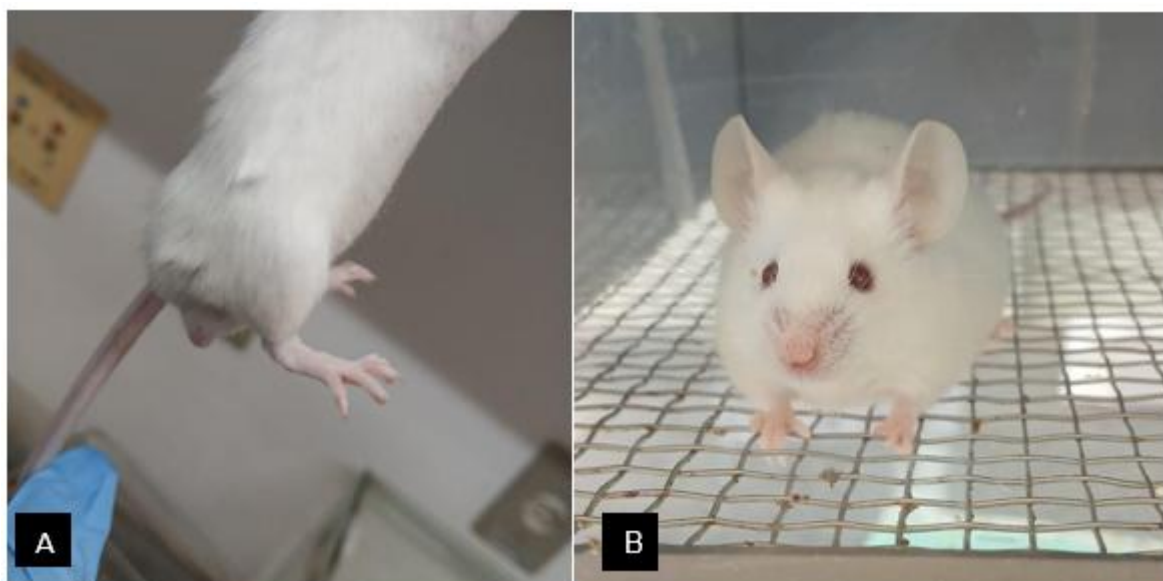


Figura 16. Camundongos tratados com Cannabis ao fim dos protocolos. (A) Resolução clínica do edema induzido por formalina após tratamento. (B) Animal com orelhas no posicionamento correto e sem alteração orbital ou de vibrissas. Fonte: Arquivo pessoal.

Enquanto o CBD reduz a produção de $\text{TNF-}\alpha$ e induz a redução da atividade da enzima amida hidrolase de ácido graxo (FAAH), principal enzima responsável pela degradação da anandamida, que promove efeitos analgésicos e anti-inflamatórios, o THC tem sido observado por produzir efeitos anti-inflamatórios pelo antagonismo do $\text{TNF-}\alpha$ (Klein *et al.*, 2000).

Desta forma, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os distintos protocolos e ambos os grupos alcançaram resolução clínica satisfatória. De igual modo, a imagem de tranquilidade e bem estar de acordo com a Grimace Scale ao fim do tratamento pôde ser constatada.

6.2.3. *Cecropia hololeuca*

Seguindo o mesmo padrão do tratamento estabelecido anteriormente, o Grupo 2 recebeu tratamento profilático e o Grupo 5 recebeu o tratamento terapêutico do

extrato de *Cecropia hololeuca* e foi realizada a manutenção do tratamento até o fim do período agudo da lesão / inflamação.

No Grupo 2 os animais foram tratados por três dias e tiveram lesão induzida ao quarto dia, 30 minutos depois de mais uma dose do extrato. Após a indução, receberam tratamento por mais 7 dias, totalizando 10 dias de tratamento e avaliação.

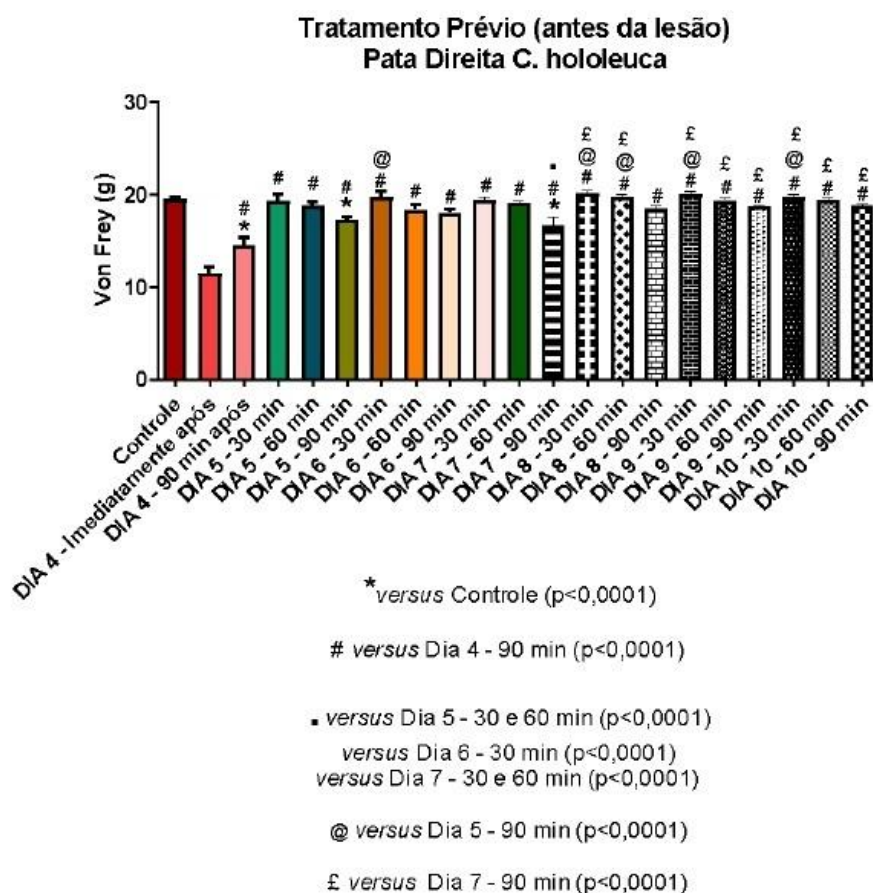


Figura 17. Aferições da pata direita dos animais tratados com *Cecropia hololeuca* durante o protocolo pré-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.

O grupo de tratamento prévio com *Cecropia* manteve um padrão semelhante ao padrão dos grupos de *Cannabis*: o grupo controle mantém limiares altos, indican-

do ausência de hipersensibilidade. No 4º dia, imediatamente após a lesão, há queda no limiar, confirmando hiperalgesia.

Nos dias seguintes (incluindo 30/60/90 min após lesão e nos dias 5º ao 10º), após o início do tratamento, há recuperação do limiar de dor. Isso é evidenciado pelo aumento significativo dos valores de Von Frey já a partir de 90 min e manutenção nas medidas dos dias subsequentes (#). As comparações estatísticas reforçam que os animais tratados permaneceram menos sensíveis à dor em relação ao pico de hiperalgesia.

Assim como o extrato de *Cannabis*, o extrato de *Cecropia* agiu eficazmente na reversão da hipersensibilidade à dor causada por formalina – não só promovendo recuperação rápida do limiar nociceptivo, mas também sustentando esse efeito protetor ao longo dos dias observados. Os dados sugerem atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato, com efeito comparável ao controle ao fim do tratamento, no décimo dia.

O Grupo 5 recebeu o tratamento somente após a lesão durante sete dias e os animais foram testados nas faixas de 30, 60 e 90 minutos após a administração do extrato, à exceção do primeiro dia).

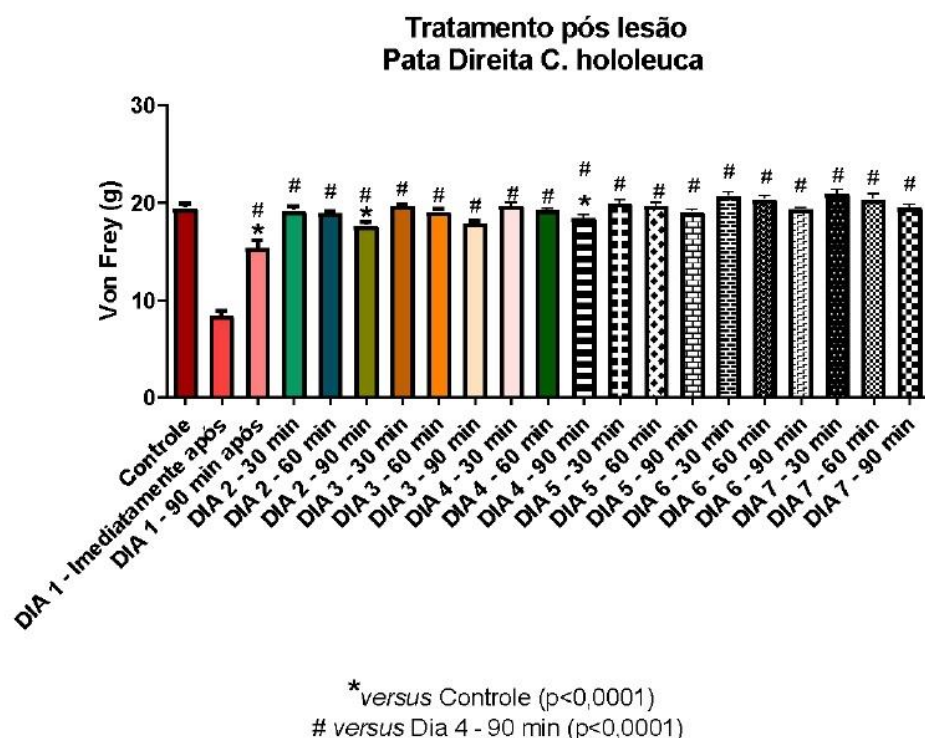


Figura 18. Aferições da pata direita dos animais tratados com *Cecropia hololeuca* durante o protocolo pós-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.

No primeiro dia, no momento de pós-lesão imediato foi possível notar uma queda expressiva no limiar, indicando hiperalgesia – significativamente diferente do controle. No entanto, 90 min após a administração do extrato, já ocorre recuperação parcial do limiar de dor, que aumenta notavelmente – indicando resposta rápida ao extrato.

Nas avaliações nos dias seguintes, o limiar permanece alto e estável, com barras próximas ao controle, reforçando que o efeito protetor é mantido ao longo do tratamento.

Mais uma vez é possível observar que, mesmo administrado após a indução da lesão, os efeitos analgésicos e anti-inflamatórios são alcançados e mantidos. Em ambos os grupos deste tratamento não houve alterações comportamentais ou efeitos adversos dignos de nota.

6.2.4. Discussão *Cecropia hololeuca*

Mais uma vez ambos os protocolos, profilático e terapêutico, promoveram rápida recuperação e normalização do limiar. É importante destacar que, em ambos os grupos, os sinais cardinais da inflamação foram reduzindo ao longo do tratamento, de modo que a vermelhidão e edema das patas dos camundongos regrediram progressivamente. Esse efeito anti-inflamatório pode ser associado aos flavonoides presentes no extrato. Segundo Rathhe e colaboradores (2009), um importante mecanismo de atividade anti-inflamatória dos flavonoides consiste na regulação da atividade de enzimas, entre elas a proteína tirosina-quinase, proteína quinase C, fosfodiesterase, fosfolipase A2, lipoxigenases e ciclooxigenase. Estas enzimas desempenham papel central na ativação de células endoteliais e numerosas outras células especializadas envolvidas na inflamação.

Mas isso não é tudo. A presença da rutina, importante flavonoide glicosídico pertencente à classe dos flavonóis, extensamente encontrados na natureza e reconhecidos por apresentar funções clínicas relevantes e potencialmente benéficas na prevenção de doenças, também é encontrada na *C. hololeuca* (Teixeira, 2018). Estes metabólitos atuam na inibição de mediadores pró-inflamatórios como TNF- α , reduzem o influxo de neutrófilos na área inflamada e estabilizam mastócitos. Desta forma, os flavonoides presentes no extrato contribuem para o efeito antiedematogênico e antinociceptivo observados, conforme Figura 19.



Figura 19. Camundongos tratados com *Cecropia* ao fim dos protocolos. (A) Resolução clínica do edema induzido por formalina após tratamento. (B) Animal com orelhas no posicionamento correto e sem alteração orbital ou de vibrissas. Fonte: Arquivo pessoal.

A inibição da inflamação promovida pelos flavonoides pode ocorrer através do sequestro e inibição da formação de uma grande variedade de radicais livres, que são capazes de atrair diversos mediadores inflamatórios responsáveis pela resposta inflamatória e dano tecidual (García-LaFuente *et al.*, 2009).

Após as avaliações das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória através dos testes realizados, acredita-se que direcionando o isolamento e a identificação de frações e compostos ativos da *Cecropia hololeuca* seja possível identificar quais frações do extrato bruto são diretamente responsáveis pelos efeitos observados.

6.2.5. Morfina

O grupo em questão (Grupo 3), bem como o padrão dos outros grupos que receberam tratamento prévio, foi medicado durante três dias com morfina por via

intraperitoneal e ao quarto dia teve lesão induzida 30 minutos depois da administração do fármaco, sendo, posteriormente, avaliado nas faixas de 30, 60 e 90 minutos.

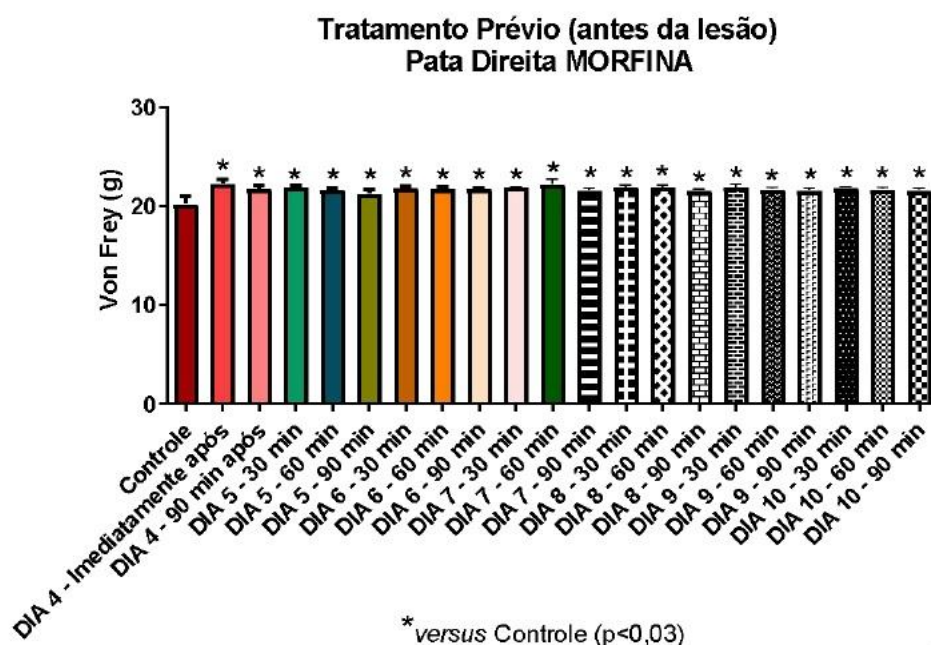


Figura 20. Aferições da pata direita dos animais tratados com morfina durante o protocolo pré-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.

O pré-tratamento com morfina foi extremamente eficaz em prevenir o desenvolvimento de hiperalgesia induzida por formalina, como já esperado. Os camundongos mantiveram limiares aumentados de resposta mecânica, demonstrando significativa redução da sensibilidade à dor inflamatória em comparação ao grupo controle, desde o início até o final do protocolo experimental. Isso evidencia a neuroproteção do opioide através da inibição da transmissão dos sinais nociceptivos na medula espinhal e em regiões superiores do sistema nervoso central, prevenindo a dor.

Por outro lado, o grupo seguinte (Grupo 6) recebeu a morfina por via intraperitoneal por 7 dias somente após a indução da lesão e seguiu sendo avaliado na faixa de 30, 60 e 90 minutos durante todos os dias de tratamento.

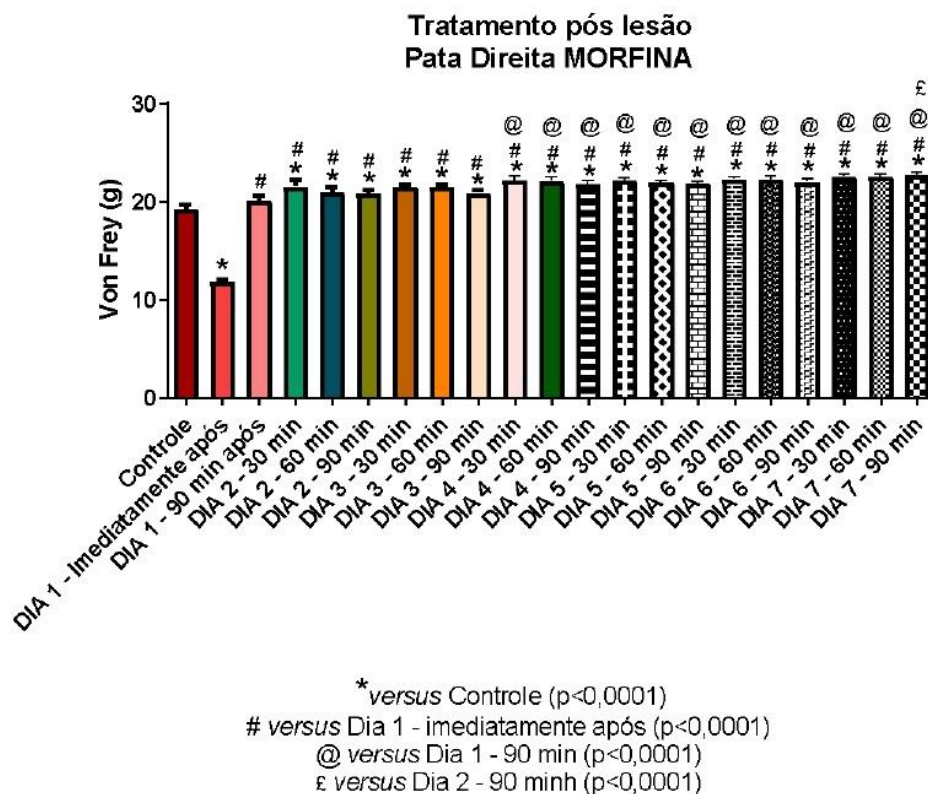


Figura 21. Aferições da pata direita dos animais tratados com morfina durante o protocolo pós-lesão. Fonte: Arquivo pessoal.

Foi possível observar que, imediatamente após a lesão, houve queda acentuada do limiar de resposta mecânica indicando hiperalgesia significativa comparada ao grupo controle. No entanto, após início do tratamento com morfina (90 minutos em diante), observa-se uma rápida recuperação do limiar denotando efeito analgésico significativo ($p < 0,0001$).

Nos dias subsequentes os valores permanecem elevados até o sétimo dia, com múltiplas diferenças altamente significativas entre os grupos avaliados. A estabilidade dos altos valores sugere manutenção do efeito analgésico e supressão da hipersensibilidade.

6.2.6. Discussão Morfina

A morfina é um analgésico opioide que possui efeitos importantes no sistema nervoso central e sistema gastrointestinal. Esse fármaco atua nos receptores opiáceos que estão ligados à proteína G, promovem abertura dos canais de potássio e inibem a abertura dos canais de cálcio voltagem dependentes. Com isso, não há liberação de transmissor, causando analgesia (Soares *et al.*, 2007).

Por sua potência e eficácia, é droga de escolha em diversos tratamentos que envolvam bem estar e controle de dor, bem como em procedimentos que requeiram drogas de efeito anestésico, além de se consagrar como fármaco de parâmetro na comparação com outros analgésicos.

No entanto, a morfina não apenas age como analgésico, como também foi notada a sua ação anti-inflamatória. Ao longo dos dias de tratamento e observação, foi possível constatar que, assim como nos tratamentos anteriores, a morfina também promoveu redução dos edemas e dos sinais cardinais da inflamação. Isso ocorre porque a morfina influencia diretamente células do sistema imune, como linfócitos, monócitos e neutrófilos, reduzindo a produção e liberação de mediadores pró-inflamatórios, entre eles citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6) e quimiocinas. Essa ação ocorre tanto pela ativação de receptores opioides presentes nessas células quanto por modulação indireta do eixo neuroimune (Zhang *et al.*, 2016).

No entanto, já em 1994 Onodera e colaboradores (1994) comentavam sobre evidências que a morfina aumenta a liberação de histamina nos terminais nervosos. A possível ação da histamina e seus receptores sobre a transmissão nociceptiva na medula espinhal também pode modificar o processo inflamatório periférico (Soares *et al.*, 2007) – o que também pode causar alguns dos efeitos adversos conhecidos, como reações mediadas pela liberação de histamina, como coriza e coceira.

Além disso, o uso prolongado de opioides comprovadamente pode causar dependência. O abuso de drogas gerou um importante problema de saúde pública e um problema social controverso. Heroína, morfina e outros analgésicos opiáceos ainda são frequentemente usados indevidamente no mundo (Liang *et al.*, 2016).

Para fins de identificação dos efeitos da morfina, a maior parte do trabalho se concentrou em análises dos efeitos agudos da droga. Logo, não foi observado

qualquer comportamento anormal nos animais submetidos a 7 ou 10 dias de tratamento com a droga ou reações mediadas por histamina, mas foi observada redução do trânsito intestinal – efeito colateral esperado.

Isso ocorre pois os receptores opioides são disseminados na submucosa e na mucosa do trato gastrointestinal. A ativação dos receptores μ locais reduz as secreções gástricas, intestinais, pancreáticas e biliares, enquanto a estimulação dos receptores μ dos neurônios no plexo mioentérico e submucoso inibe o peristaltismo e aumenta o tônus de repouso, bem como a motilidade não propulsiva do intestino (Camilleri, 2011; Sobczak *et al.*, 2014).

Embora os opioides sejam medicamentos eficazes para o alívio da dor, a incidência de constipação induzida por opioides varia muito, de 15% a até 81% (Lang-Illievich e Bornemann-Cimenti, 2019). Isso pode levar a um comprometimento significativo da qualidade de vida, frequentemente resultando na descontinuação da terapia com opioides.



Figura 22. Camundongos tratados com morfina ao fim dos protocolos. (A) Resolução clínica do edema induzido por formalina após tratamento. (B) Animal com orelhas no posicionamento correto e sem alteração orbital ou de vibrissas. Fonte: Arquivo pessoal.

6.2.7. Grupo SHAM e Grupo Controle sem tratamento

O Grupo SHAM (Grupo 7) representou o grupo que foi falsamente lesionado. Os animais foram igualmente injetados no mesmo membro direito, porém, somente com solução fisiológica – que é o veículo da solução de formalina.

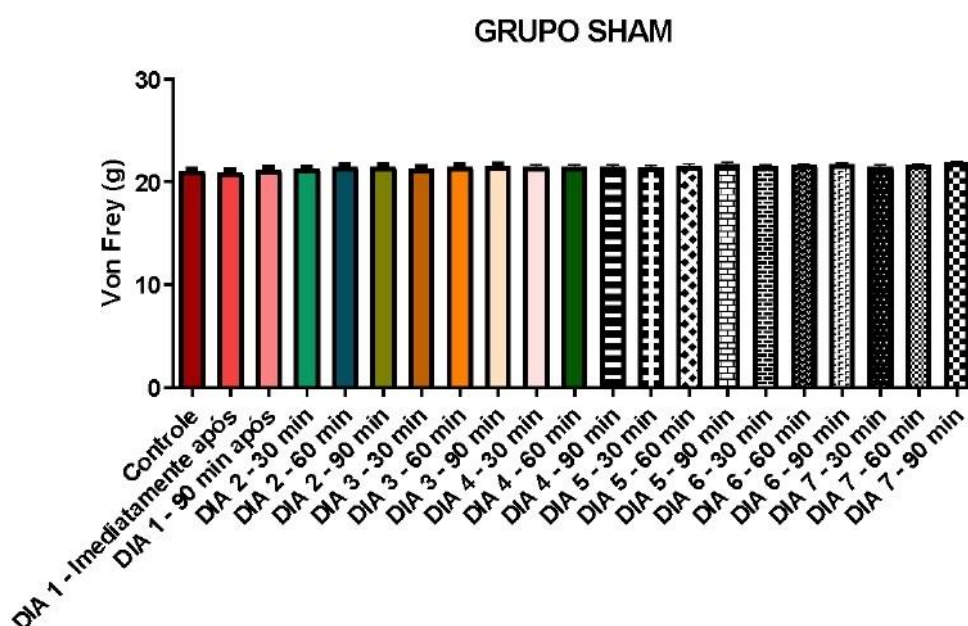


Figura 23. Aferições da pata direita dos animais falsamente lesionados. Fonte: Arquivo pessoal.

Ao longo de todo o acompanhamento (controle, imediatamente após e 30/60/90 min dos dias 1 a 7), os valores do Von Frey permanecem altos e estáveis (por volta de 20g), com mínúsculas variações, sem quedas bruscas ou tendências de hiperalgesia.

Apesar de um pequeno edema ter sido feito pela instilação do soro subcutâneo no dia da injeção, poucas horas depois este já havia sido reabsorvido e os animais já estavam em medida fisiológica esperada no membro.

Esses resultados confirmam que o procedimento SHAM, ou seja, a simples administração de solução fisiológica sem formalina, não provoca dor aguda nem inflamação significativa. Os animais mantêm um limiar nociceptivo constante, semelhante ao grupo controle em todas as faixas de tempo. Isso reforça a ideia de que qualquer queda de limiar observada nos grupos formalina foi causada pela lesão inflamatória, não pela manipulação ou aplicação da injeção em si.

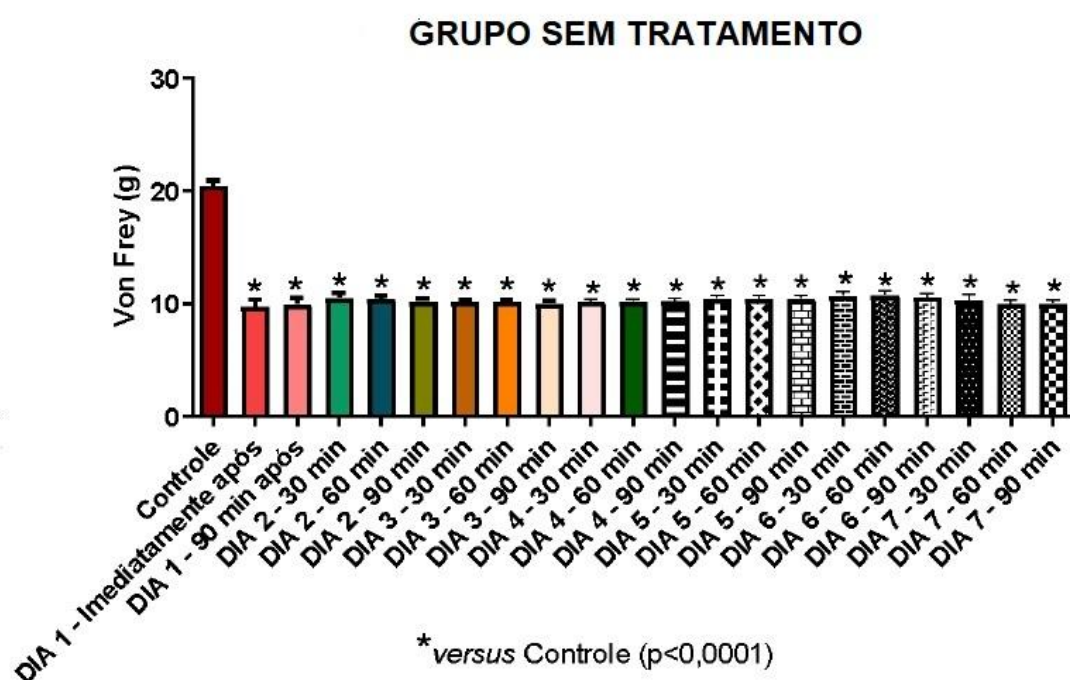


Figura 24. Aferições da pata direita dos animais lesionados sem tratamento. Fonte: Arquivo pessoal.

Por outro lado, o último grupo analisado (Grupo 8) teve a indução induzida pela formalina, porém, não recebeu qualquer tratamento. Desta forma, o resultado demonstrou claramente o padrão esperado para dor aguda inflamatória induzida experimentalmente.

No grupo controle inicial, o valor de Von Frey começa alto (cerca de 20g), indicando limiar normal à dor mecânica. Após a formalina ser injetada (em todos os tempos subsequentes), as barras imediatamente mostram queda acentuada do limiar (em torno de 10g ou menos) durante os sete dias de avaliação.

Tal análise revela que após a indução da lesão por formalina os animais desenvolvem uma hiperalgesia persistente permanecendo sensíveis à dor mecânica durante toda a semana de acompanhamento, sem qualquer reversão espontânea. Além da expressiva dor, não houve regressão dos edemas, de modo que a resolução clínica foi aumento progressivo do edema com evolução para necrose tecidual e automutilação, conforme a Figura 25.



Figura 25. Resolução clínica dos animais lesionados sem tratamento. Fonte: Arquivo pessoal.

A evolução clínica dos animais não tratados, que culminou em piora da dor com progressivo aumento dos edemas resultando em necrose parcial das patas, demonstrou efetiva ação dos tratamentos empregados nos outros grupos. Além

disso, a estatística conferiu que o valor do Von Frey permaneceu baixo, validando a efetividade do modelo de dor aguda inflamatória.

6.2.8. Análise histopatológica

A análise histopatológica das lâminas não indicou qualquer alteração importante, atestando a segurança das doses testadas e nenhum impacto negativo sobre os órgãos analisados. Pensando nisto, em análises posteriores sugere-se que doses mais altas podem ser empregadas, expandindo o potencial de ação dos extratos sobre a dor e a inflamação.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou os efeitos analgésicos e anti-inflamatórios dos extratos da *Cannabis sativa* (maconha) *Cecropia hololeuca* (embaúba-prateada) em comparação com a morfina através de um modelo de dor aguda induzida pela formalina, com o objetivo de comparar a eficácia de ambos os tratamentos, além de explorar possíveis especificidades e toxicidade. Através dos testes e avaliações foi possível concluir alguns pontos:

- No teste da formalina, onde se avalia a capacidade profilática de um fármaco mediante um estímulo doloroso, ambos os extratos alvos deste estudo não alcançaram a robustez da morfina em prevenir a dor infringida nas doses trabalhadas. No entanto, eles promoveram inibição moderada do comportamento doloroso (mordedura e lambertura do membro afetado), sugerindo possível ação mais efetiva e comparável à morfina em doses maiores.
- Nos testes no analgesímetro de Von Frey, ambos os óleos foram eficazes em reduzir a hipersensibilidade e a dor inflamatória induzida pela formalina, possibilitando rápida recuperação do limiar de dor após 90 minutos da lesão infringida e manutenção do bem-estar dos animais tratados ao longo de todos os dias de observação.

- Houve eficácia sustentada: os resultados estatísticos mostram que o efeito dos extratos é robusto e persiste por vários dias após a lesão, sem diferença estatística significativa de ação entre eles. Todos os indivíduos chegaram a uma resolução clínica satisfatória, com redução progressiva dos edemas e recuperação.
- A morfina, opioide base de comparação, trouxe excelente estabilidade aos camundongos tratados, tanto no pré quanto no pós-lesão – estabelecendo-se como referência. No entanto, breves efeitos colaterais foram observados nos animais, como redução do trânsito intestinal durante os dias de tratamento.
- Não foram observados efeitos colaterais significativos nos indivíduos tratados com os extratos.
- Houve atestada segurança sistêmica dos extratos e da morfina, de modo que nenhum dos animais tratados sofreu impactos nos órgãos avaliados (rins e fígado) na avaliação histológica no período em que foram observados – o que promove segurança para testes posteriores em doses mais altas.
- Os dados do Grupo SHAM (placebo) e dos animais não tratados reforçaram a efetividade do modelo de dor aguda induzida pela formalina, uma vez que os animais do grupo placebo permaneceram estáveis e tolerantes aos testes de dor, enquanto o grupo controle sem tratamento apresentou expressiva intolerância aos testes, confirmando a indução adequada da dor aguda no modelo utilizado. Tal fato também confirma a ação analgésica e protetora dos extratos, uma vez que este grupo evolui para um desfecho clínico irrecuperável (necrose).
- Por fim, a comparação entre os tratamentos demonstrou o potencial profilático da morfina ante ao estabelecimento da hiperalgesia, ou seja, ela foi capaz de inibir o estímulo doloroso antes que este fosse provocado – diferentemente dos extratos, que inibiram a dor em porcentagem menor. No entanto, no tratamento terapêutico não houve diferença estatística relevante na ação dos extratos e da morfina, uma vez que todos os grupos tratados evoluíram para resolução clínica satisfatória e recuperação.

Portanto, este estudo contribui para a compreensão dos efeitos terapêuticos dos extratos de *Cannabis sativa* e *Cecropia hololeuca* no modelo de dor aguda, destacando o potencial terapêutico de ambos os óleos. Esses achados abrem caminho

para futuras investigações sobre o uso desses extratos no manejo da dor aguda, com a necessidade de mais estudos para otimizar doses, tratamentos e explorar mecanismos de ação mais detalhados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEIXO, G. A. S.; TUDURY, E. A. **Utilização de opioides na analgesia de cães e gatos**. Revista Veterinária Notícias, Uberlândia, v.11, n. 2, 2005.

BENNETT, G. J.; XIE, Y. K. **A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man**. Pain, Amsterdam, v. 33, n 1, p. 87-107, apr. 1988.

CAMILLERI, Michael. **Opioid-induced constipation: challenges and therapeutic opportunities**. Am J Gastroenterol. 2011 May;106(5):835-42; quiz 843. doi: 10.1038/ajg.2011.30. Epub 2011 Feb 22. PMID: 21343919.

CARLINI, Elisaldo Araújo. **A história da maconha no Brasil**. Jornal Brasileiro de Psiquiatria 55 (4), 2006. <https://doi.org/10.1590/S0047-20852006000400008>.

CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. **Embaúba Prateada (*Cecropia Hololeuca*)**. In: Espécies Arbóreas Brasileiras. Volume I. Embrapa: 2003.

CEBRID, Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas. **Ópio e Morfina**. Departamento de Psicobiologia - Unifesp/EPM, 2004. Disponível em: <http://www2.unifesp.br/dpsicobio/cebrid/folhetos/opio .htm>. Acesso em: 29/08/2024.

COHEN, Steven P.; MAO, Jianren. **Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications**. Bmj, v. 348, 2014.

COSTA, Mylena Sabóia. **Apigenina reduz hipernocicepção inflamatória em camundongos**. Arquivos da Faculdade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem. Fortaleza, 2019.

DAGA, Maiara Aline; AYALA, Thaís Soprani; MENOLLI, Rafael Andrade. **A review of the anti-inflammatory and antibicrobial activities of the components of cecropia genus**. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. Vol 13, Issue 8, 2020.

DESANTANA, JM; PERIOSSINOTI, DM; OLIVEIRA Junior, JO; CORREIA, LM; OLIVEIRA, CM; FONSECA, PR. **Definição de dor revisada após quatro décadas**. BrJP. São Paulo, 2020 jul-set; 3(3):197-8.

DUARTE, Danilo Freire. **Uma breve história do ópio e dos opioides**. Revista Brasileira de Anestesiologia Vol. 55, Nº 1, Janeiro - Fevereiro, 2005.

DUARTE, Glória Isolina Boente Pinto. **Principais espécies animais utilizadas em pesquisa experimental**. In: Bioética e Manejo de Animais de Laboratório. Capítulo 3. Organizador Eduardo Carvalho Lira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

FANTONI, D. T. **Fatos históricos**: a dor como sinal vital; a ética no tratamento da dor; princípios básicos de farmacocinética e farmacodinâmica dos analgésicos para alívio da dor. In: FANTONI, D.T. Tratamento da dor na clínica de pequenos animais. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.cap.1-3, p.3-27.

FERNANDES, Bárbara da Silva. **Farmacologia e toxicologia da morfina**. In: Iniciação Científica na Educação Profissional em Saúde: articulando trabalho, ciência e cultura. Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio. Fundação Oswaldo Cruz, Volume 9, 2018.

FIGUEIREDO, Washington Luís Melo; ALVES, Túlio César Azevedo. Figueiredo, W. L. M. and Alves, T. C. A. (2019). Uso dos anti-inflamatórios não esteroides no controle da dor aguda. Revista Neurociências, 23(3), 463-467, 2019. <https://doi.org/10.4181/rnc.2015.23.03.1070.05p>

GOMES, Dayane Aparecida; MELO, Ismaela Maria Ferreira. **Aspectos reprodutivos gerais de ratos e camundongos**. In: Bioética e Manejo de Animais de Laboratório. Capítulo 5. Organizador Eduardo Carvalho Lira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

GOZANNI, Judymara Lauz. **Opioides e antagonistas**. Rev. Brasileira de Anestesiologia, v. 44, n. 1, p.65-73, jan./fev. 1994.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of Medical Physiology**. 11 ed. Philadelphia: Elsevier, 2006.

HELLEBREKERS, Ludo, J. **Dor em Animais**. Editora Manole, SP, 2002.

HERTEL, Adriane; ANDROUKOVITCH, João Luiz. **Uso de citrato de Maropitant como coadjuvante no tratamento da dor aguda**. Repositório Institucional, 2023 - revistas.icesp.br.

HUESTIS, Marilyn. **Human Cannabinoid Pharmacokinetics**. National Institute on Drug Abuse, [S. l.], p. 1-35, 2 jun. 2009.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. **The formalin test in mice**: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, v. 30, n. 1, p. 103-114, 1987. *Index Kewensis Plantarum Phanerogamarum: Supplementarum quartum 1906- 1910*. London: Oxford University Press, 1958.

KAWASHITA, Priscila Tiemi. **O núcleo accumbens e a substância cinzenta periaquedutal modulam de modo distinto a hiperalgesia inflamatória crônica e aguda em ratos**. Repositório de Produção Científica e Intelectual da UNICAMP. Piracicaba, 2008. <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2008.430640>.

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.

Klein TW; Lane B; Newton CA; Friedman H. *The cannabinoid system and cytokine network*. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000;225(1):1-8.

KRINK, GJ. **History, Strains and Models**. In: Bullok GR Editor. *The Laboratory Rat*. San Diego: Academic Press, 2000 (*Handbook of experimental animals*).

LANG-ILLIEVICH, Kordula; BORNEMANN-CIMENTI, Helmar. **Opioid-induced constipation**: a narrative review of therapeutic options in clinical management. *Korean J Pain*. 2019 Apr 1;32(2):69-78. doi: 10.3344/kjp.2019.32.2.69. PMID: 31091505; PMCID: PMC6549585.

LIANG, Xiang; LIU, Renyu; CHEN Chunhua; JI, Fang; LI, Tianzuo. **Opioid System Modulates the Immune Function**: A Review. *Transl Perioper Pain Med*. 2016;1(1):5-13. PMID: 26985446; PMCID: PMC4790459.

LIRA, Eduardo Carvalho. **Aspectos gerais do rato e camundongo de biotério**. In: *Bioética e Manejo de Animais de Laboratório*. Capítulo 4. Organizador Eduardo Carvalho Lira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

MACHADO, E. G., CARDOSO, O., LIMA, N. M., CARVALHO, P. E., BARBOSA, A. D., SOBRINHO, G. F. S., DUARTE, J. F., COELHO, L. R., SOARES, P. P. C., ORNELLES, A. G., SANTOS, A. C. B., SANTOS, K. B., CASTRO, S. B. R., DE OLIVEIRA, M. A. L., CARLI, A. P., & ALVES, C. C. S. (2019). **Cecropia hololeuca**: A new source of compounds with potential anti-inflammatory action. *Natural Product Research*, 35(16), 2772-2777. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1663512>

MARINHO, Alexandre Magno da Nóbrega; SILVA-NETO, Ricardo Wagner Gomes da. **Efeitos anti-inflamatórios dos canabinoides**. Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor. BrJP. São Paulo. 2023;6(Supl 1):S31-7.

MARTINS, Rodrigo Tomazini Martins; ALMEIDA, Daniel Benzecry de; MONTEIRO, Felipe Marques do Rego; KOWACS, Pedro André; RAMINA, Ricardo. **Receptores opioides até o contexto atual**. *Revista Dor* 13 (1) • Mar 2012 • <https://doi.org/10.1590/S1806-00132012000100014>.

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

MORAES, Giovanna Vizzaccaro; JORGE, Gabriel Marcomini; GONZAGA, Rodrigo Vieira; SANTOS, Deny Anderson. **Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas**. *Research, Society and Development*, v. 11, n.14, e238111436225, 2022.

NASCIMENTO, Daiana Ciléa Honorato; SAKATA, Rioko Kimiko. **Dependência de opioides em pacientes com dor crônica**. *Artigos de Revisão • Revista Dor*, 12 (2) • Jun 2011 • <https://doi.org/10.1590/S1806-00132011000200013>.

NASCIMENTO, Gustavo de Oliveira. **O emprego medicinal da *Cannabis* em cães e gatos** – revisão de literatura. Repositório da UFAL, Universidade Federal de Alagoas, Campus Ceca, Polo Viçosa, 2021.

NATALINI, C. C. **Teoria e técnicas em anestesiologia veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 2007.

OLIVEIRA, Gabriela Luiza da Silva; LABRE, Maria Beatriz Queiroz; LABRE, Luciana Vieira Queiroz. **Avaliação da atividade medicinal da libidibia ferrea** – uma revisão sistemática / Evaluation of the medicinal activity of libidibia ferrea - a systematic review. *Brazilian Journal of Health Review*, 5(2), 5242-5251, 2022. <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n2-106>.

OLIVEIRA, Marina de Souza. **O papel dos endocanabinoides no controle da dor.** Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2017.

OLIVEIRA, Samara Rodrigues Bonfim Damasceno. **Métodos alternativos ao uso de mamíferos em pesquisa experimental.** In: Bioética e Manejo de Animais de Laboratório. Capítulo 9. Organizador Eduardo Carvalho Lira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

ONODERA, K.; YAMATODANI, A.; WATANABE, T.; WADA, H.; **Neuropharmacology of the histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioral disorders.** Prog. Neurobiol. v. 42, p. 685–702, 1994.

PANTOJA-RUIZA, C., RESTREPO-JIMENEZA, P., CASTAÑEDA-CARDONAB, C., FERREIRÓSC, A., & ROSSELLID, D. **Cannabis e dor:** uma revisão de escopo. Brazilian Journal of Anesthesiology, v. 72, n. 1, 142-151, 2022.

PEREIRA, Eduardo Manoel. **Avaliação do papel de receptores NMDA para glutamato na nocicepção orofacial aguda e crônica em ratos.** Repositório da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

PERNONCINI, Karine Vandressa; OLIVEIRA, Rúbia Maria Monteiro Weffort. **Usos terapêuticos potenciais do canabidiol obtido da Cannabis sativa.** Revista UNINGÁ Review. Vol.20,n.3,pp.101-106 (Out - Dez 2014).

POLANO, Gabriel do Nascimento, W.; DE MOURA FERREIRA, E.; CARVALHO FAGUNDES, L.; ROCHA FELIX, R.; DA SILVA DE VARGAS, L. **Teoria das comportas da dor: percepção de aprendizagem pelos alunos.** Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 13, n. 1, 16 nov. 2021.

RANG, H.P.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. **Rang & Dale: Farmacologia.** 8. ed. São Paulo: Elsevier, 2016.

SANTOS, Ana Paula Merlo. **Dor aguda em gatos.** Monografia apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.

SASAKI, Patrícia Tamami; SOUZA, Renato Lopes de. **Biotrauma – abordagem da fisiopatologia.** ConScientiae Saúde, 7(2), 235-240, 2008. <https://doi.org/10.5585/conssaude.v7i2.683>.

SERDAR, Ceyhan Ceran; CIHAN, Murat; YÜCEL, Dogan; SERDAR, Muhittin. **Sample size, power and effect size revisited:** simplified and practical approaches in

pre-clinical, clinical and laboratory studies. *Biochemia Medica*, 31(1), 27-53. <https://doi.org/10.11613/bm.2021.010502>.

SHAVIT Y; FRIDEL K; BEILIN B. **Postoperative pain management and proinflammatory cytokines:** animal and human studies. *J Neuroimmune Pharmacol* 2006;1:443-451.

SILVA, José Jairo Teixeira da. **Bioética:** regulação da utilização de animais em pesquisa. In: *Bioética e Manejo de Animais de Laboratório*. Capítulo 2. Organizador Eduardo Carvalho Lira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

SILVA, Laura Moreira; LACERDA, Isadora de Jesus Mariano; SWIECH, Juliane Nadal Dias. **O mecanismo de ação da Cannabis sativa L. enquanto indutora do sono e suas consequências neuropsicológicas** - uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 2, e41211225866, 2022 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i2.25866>.

SILVA, Taciane Stein. **Papel dos receptores histaminérgicos da medula espinhal na inflamação articular de ratos e sua possível contribuição como adjuvante para os efeitos da morfina.** Repositório da Universidade Federal de Santa Catarina, departamento de Farmacologia. Florianópolis, 2012.

SOARES, Cristiane Andreia; PERES, Helena Maria; BERTOLINI, Gisele Lopes. **O uso terapêutico da morfina em pacientes neoplásicos.** *Revista UNINGÁ*, Maringá – PR, n.14, p.129-151, out./dez. 2007.

SOBCZAK, Marta; SAŁAGA, Maciej; STORR, Martin A.; FICHNA, Jakub. **Physiology, signaling, and pharmacology of opioid receptors and their ligands in the gastrointestinal tract:** current concepts and future perspectives. *J Gastroenterol*. 2014 Jan;49(1):24-45. doi: 10.1007/s00535-013-0753-x. Epub 2013 Feb 9. PMID: 23397116; PMCID: PMC3895212.

SOLIMAN, Nadia; RITTNER, Heike L; SENA, Emily S., TAPPE-THEODOR, Anke. **Modelos animais para a investigação em dor translacional.** Global Year 2022 da IASP. Disponível em: https://www.iasp-pain.org/wp-content/uploads/2022/01/Portuguese-SDH_2021117-IASP_GlobalYear_Animalmodels.pdf.

SOUZA, Amanda Aparecida Fernandes; SILVA, Andreza Francisca Mendes; SILVA, Thais Ferreira; OLIVEIRA, Carlos Rocha Oliveira. **Cannabis sativa:** o uso de fitocannabinoides para tratamento da dor crônica. *Brazilian Journal of Natural Sciences*. Ver-

são Online ISSN 2595 – 0584 Edição nº 2 - vol. 1 - Fevereiro 2019. DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i1.30>.

TEIXEIRA, Manoel Jacobsen; FORNI, José Eduardo Nogueira. **Fisiopatologia da Dor**. In: Tratado de dor musculoesquelética. São Paulo: Alef, 2019. p.25-36.

TEIXEIRA. Manoel Jacobsen. **Fisiopatologia da Dor**. In: Alves N.O;Costa C.M.C; Siqueira J.T.T; Teixeira, M.J.. Dor Princípios e Práticas; Artmed. 12:145-175, 2009.

_____. **Mecanismos de ocorrência de dor**. Rev. Med. (São Paulo), 80 (ed. esp. pt.1):22-62, 2001.

VALADÃO, C.A.A. *et al.* **Injeção epidural de morfina ou cetamina em cães**: avaliação do efeito analgésico pelo emprego dos filamentos de Von Frey. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.54, n.4, p.338-339, 2002.

VAN DER KLEIJ, Hanneke PM; BIENENSTOCK, John. **Significance of Sensory Neuropeptides and the Immune Response**. In: Psychoneuroimmunology (Fourth Edition), Academic Press, 2007, Pages 97-129, ISBN 9780120885763. <https://doi.org/10.1016/B978-012088576-3/50008-3>.

Zhang Y et al. **Anti-inflammatory effect of morphine in a nucleus pulposus-induced radiculopathy model**. Journal of Orthopaedic Research, 2016.