



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ – UECE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**EFEITO DO METILEUGENOL NA EXCITABILIDADE
NERVOSA EM NERVO CIÁTICO DE RATO**

Paulo Marconi Linhares Mendonça

Fortaleza-Ceará
2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ – UECE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

Paulo Marconi Linhares Mendonça

**EFEITO DO METILEUGENOL NA EXCITABILIDADE
NERVOSA EM NERVO CIÁTICO DE RATO**

Defesa de Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Henrique Leal Cardoso

Fortaleza-Ceará
2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Título: EFEITO DO METILEUGENOL NA EXCITABILIDADE NERVOSA EM NERVO
CIÁTICO DE RATO

Autor: Paulo Marconi Linhares Mendonça

Defesa em: 31 de março de 2006 Conceito obtido: Satisfatório

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Henrique Leal Cardoso
UECE - Orientador

Profa. Dra. Sandra Maria Dias Moraes
UECE

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa
UFC

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda a força e inteligência que me foi concedida para esta etapa de formação. Obrigado Senhor!

Ao Prof. Dr. José Henrique Leal Cardoso, pela acolhida, orientação e norteio do tema estudado, também pela experiência que me fez amadurecer nesse percurso árduo mas com sabor de vitória.

Aos meus pais que sempre olharam a educação como alicerce para a formação de um cidadão íntegro e honesto. Obrigado seu “Didi” e “D. Lourdes”. Meus irmãos, cunhada e sobrinhos.

Ao Amigo e exemplo de pesquisador Prof. Dr. Paulo Roberto de Lavor Porto pelo amparo nos momentos de angústia me levando aos raciocínios lógicos e objetivos sobre a pesquisa realizada de forma clara e simples, mostrando-me que o conhecimento é algo que está bem próximo, mas que precisamos buscar sempre mais.

Aos professores do Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas, onde com as suas experiências e vivências na pesquisa pude amadurecer o meu olhar para um futuro próximo no mundo da pesquisa.

Aos colegas de turma pelos momentos agradáveis que pudemos passar nesse período.

Aos amigos que sempre estiveram torcendo por mim, alunos, colegas de trabalho.

Aos colegas “feras”, Pedro Militão (técnico de laboratório) e Francisco José (funcionário do Biotério) que me ajudaram bastante nos longos períodos de experimentos. Valeu!!

A Amiga Kátia Virgínia pela grande disponibilidade e paciência dispensada na realização da tabulação e análise dos dados, ajuda esta que jamais esquecerei. Obrigado Kátia!

Ao amigo bolsista Yuri Cruz Mendes pelo empenho e dedicação nas longas madrugadas de 2004 que passamos no laboratório realizando os experimentos.

Ao Amigo Albano pela força e ajuda nos momentos finais da escrita e finalização do trabalho.

Caso tenha esquecido de alguém, tem registrado meu pedido de perdão, pois todos com certeza tiveram participação efetiva nessa fase de minha vida. Obrigado a todos!

RESUMO

EFEITO DO METILEUGENOL NA EXCITABILIDADE NERVOSA EM NERVO CIÁTICO DE RATO – Paulo Marconi Linhares Mendonça. Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas, como pré-requisito parcial para obtenção para o grau de Mestre.

O Metileugenol (ME) é um dos análogos do eugenol cujo peso molecular é 178,2; cor amarelo ouro, odor marcante e forte, insolúvel na água e solúvel em clorofórmio e éter, também conhecido como: 1,2 dimetoxi-alilbenzeno; sendo constituinte de um grande número de plantas aromáticas do Nordeste do Brasil, tais como: *Myristica fragran* H. (Myristicaceae), *Ocimum basilicum* L. (Apiaceae), *Doryphora sassafrás* Endl. (Monimiaceae), and *Cróton nepetaefolius* Baill (Euphorbiaceae), também conhecido pela denominação comum de “Marmeleiro Sabiá”. Esse composto é usado na indústria de cosméticos na fabricação de sabões, nos xampus e como agentes flavorizantes nas geléias, em bebidas não alcoólicas, goma de mascar e sorvetes. O ME assim como o eugenol possui atividade antibacteriana moderada induz efeitos no SNC, tais como hipotermia diminuição da atividade motora espontânea, perda da capacidade de manutenção postural, efeitos miorreaxantes, anticonvulsivantes e, em doses maiores, anestésicos gerais, sem comprometimento dos níveis de aminas cerebrais. Neste estudo, nós verificamos os efeitos do ME no potencial de ação composto (PAC) de nervo ciático de rato, bem como as variações na amplitude pico-a-pico (APP), nas amplitudes positivas do primeiro e segundo componentes, velocidade de condução do primeiro e segundo componentes e a integral. Para registro extracelular do PAC, nervos ciáticos dissecados de ratos *Wistar* foram montados em uma câmara de Harvard e estimulados a uma frequência de 0,2 Hz e 20 Hz, com pulsos elétricos de 20 – 40 V, 50 - 100µs de duração. O ME induziu bloqueio do PAC dependente de concentração. A concentração 0,1 mM não demonstrou efeito. Mas nas concentrações de 0,3; 0,6; 1; 2 e 4 mM houve redução da APP respectivamente dos controles: [6,8 ± 2,9 mV (N=3), 8,3 ± 1,8 mV (N=4), 9,1 ± 1,7 mV (N=4), 8,6 ± 1,3 mV (N=5), 6,2 ± 1,3 mV (N=3)] para 89,7 ± 15%, 38,5 ± 5,3%, 43,2 ± 15,3%, 6,59 ± 1,92%, 2,8 ± 1,88%. O ME bloqueou as amplitudes positivas e velocidades de condução do primeiro e segundo componentes do PAC nas concentrações acima citadas, sendo a amplitude positiva do primeiro componente reduzida dos controles: [2,96 ± 1,2 mV (N=5), 2,6 ± 0,5 mV (N=7), 3,8 ± 0,7 (N=6), 3,2 ± 0,5 mV (N=5), 1,9 ± 0,6 mV (N=3)] para 65,5 ± 22,9%, 69,0 ± 12,6%, 62,5 ± 13,7%, 30,5 ± 21,9%, 25,3 ± 8,8% e velocidade de condução para: [93,2 ± 10,5 mV (N=5), 96,1 ± 23,9 mV (N=7), 72,2 ± 6,1 mV (N=6), 64,4 ± 1,9 mV (N=6), 56,8 ± 2,0 mV] para 76,6 ± 19,9%, 72,7 ± 6,3%, 72,0 ± 3,0%, 62,2 ± 13%, sendo que na concentração de 4,0mM não houve resolução para a medida da velocidade de condução. A redução da velocidade de condução do segundo componente dos controles: [24,1 ± 2,4 mV (N=5), 27,7 ± 5,5 mV (N=7), 25,2 ± 1,7 mV (N=6), 26,2 ± 2,1 mV (N=6), 21,7 ± 0,89 (N=3)] para 71,3 ± 18,6%, 59,0 ± 11,4%, 56,9 ± 1,8%, 9,5 ± 9,5%, sendo que na concentração de 4,0mM não houve resolução para a medida da velocidade de condução. Na concentração de 0,6 mM que promoveu uma inibição em torno de 50% da resposta máxima foi calculada a integral com diferença estatística significativa em relação ao controle (valor ao fim do período de estabilização). Os dados do trabalho demonstram que o ME bloqueia a excitabilidade nervosa.

Palavras-chave: Metileugenol, óleo essencial, nervo ciático, potencial de ação composto, excitabilidade nervosa, velocidade de condução.

ABSTRACT

THE EFFECT OF METHYLEUGENOL IN NERVOUS EXCITATION IN SCIATIC NERVES OF RATS – Paulo Marconi Linhares Mendonça. Dissertation presented to the Master's Degree Academy of Physiologic Sciences as prerequisite for the acquisition of Master of Science Academic Award.

The methyleugenol (ME) is one of the eugenol's analogous which molecular weight is 178.2; Gold-like yellow, strong and striking odor, insoluble in water and chloroform-soluble and ether, also known as: 1,2 dimetoxi-alilbenzeno; being constituent of a large number of aromatic plants from the Northeast of Brazil, such as: *Myristica fragran H.* (Myristicaceae), *Ocimum basilicum L.* (Apiaceae), *Doryphora sassafrás* Endl. (Monimiaceae), and *Cróton nepetaefolius* Baill (Euphorbiaceae), also widely known by the name of "Marmeleiro Sabiá". This compound is used in the cosmetics industry for the fabrication of soaps, shampoos and as flavourizant agents in jams, in non-alcoholic drinks, chewing gums and ice creams. The ME just as the eugenol, possesses moderate anti-bacteria activity, inducing effects on the SNC such as hypothermia, diminution of the spontaneous motor activity, loss of the capacity to maintain the posture, miorelaxing effects, anticonvulsivants and, in large doses, general anaesthetics, without compromising the levels of brain aminas. In this study, we verified the effects of ME in the compound action potential (CAP) of rat's sciatic nerve, and the variation in the large-ness peak-to-peak (APP), in positive large-ness of the first and second compounds, conduction speed of the first and the second compounds and the integral. For celular register of CAP, dissectated sciatic nerves of rats Wistar were assembled on a chamber of Harvard and stimulated at the frequency of 0,2 Hz and 20 Hz, with electrical pulses of 20 – 40 V, 50 - μ s of duration. The ME induced blockade of CAP dependant of the concentration. The concentration 0,1 mM did not demonstrate effect. 0,3; 0,6; 1; 2 and 4 mM reduced the APP respectively of the controls: [6,8 \pm 2,9 mV (N=3), 8,3 \pm 1,8 mV (N=4), 9,1 \pm 1,7 mV (N=4), 8,6 \pm 1,3 mV (N=5), 6,2 \pm 1,3 mV (N=3)] to: 89,7 \pm 15%, 38,5 \pm 5,3%, 43,2 \pm 15,3%, 6,59 \pm 1,92%, 2,8 \pm 1,88%. The ME blocked the positive amplitudes end speeds of conduction of the first and second compounds of CAP in the concentrations above mentioned, being the positive amplitude of the first compound reduced from the controls: [2,96 \pm 1,2 mV (N=5), 2,6 \pm 0,5 mV (N=7), 3,8 \pm 0,7 (N=6), 3,2 \pm 0,5 mV (N=5), 1,9 \pm 0,6 mV (N=3)] to: 65,5 \pm 22,9%, 69,0 \pm 12,6%, 62,5 \pm 13,7%, 30,5 \pm 21,9%, 25,3 \pm 8,8% e conduction speed to: [93,2 \pm 10,5 mV (N=5), 96,1 \pm 23,9 mV (N=7), 72,2 \pm 6,1 mV (N=6), 64,4 \pm 1,9 mV (N=6), 56,8 \pm 2,0mV] to: 76,6 \pm 19,9%, 72,7 \pm 6,3%, 72,0 \pm 3,0%, 62,2 \pm 13%, but in the concentration of 4 mM there was no resolution for the measurement of the conduction speed. The conduction speed of the second compound being reduced [(93,19 \pm 10,49 mV (N=5); 96,06 \pm 23,95 mV (N=7); 72,26 \pm 6,06 mV (N=6); 64,43 \pm 1,88 mV (N=6); 56,87 \pm 2,06 mV (N=3)] to: [76,67 \pm 19,9% (N=5), 72,7 \pm 6,32% (N=7); 72 \pm 7,44% (N=6); 62,2 \pm 31,8% (N=6), but in the concentration of 4 mM there was no resolution for the measurement of the conduction speed. On the 0,6 mM concentration, which promoted a \cong 50% inhibition of the maximum response, an integral was calculated with a significant statistical difference when related to the control (value at the end of the stabilization period). The data on the assignment shows that the ME block the nervous excitability.

Key-Words: Methyleugenol, essential oil, sciatic nerve, compound action potential, nerve excitability, conduction velocity.

LISTA DE ABREVIATURAS

APP – amplitude pico a pico

ATP – adenosina trifosfato

Ca⁺⁺ – íon cálcio

Cl⁻ – íon cloreto

[Ca⁺⁺] – concentração de cálcio

DMSO – dimetilsulfóxido

g_K⁺ – Condutância ao potássio

g_{Na}⁺ – Condutância ao sódio

GRD – gânglio da raiz dorsal

HVA – canais ativados por voltagem

Hz – hertz

K⁺ – íon potássio

K_{ATP} – canais para potássio dependentes de ATP

KCNQ – canais para potássio retificadores tardios lentos

K_{IR} – canais para potássio retificadores para dentro

K_V – canais de potássio dependentes de voltagem

[K⁺] – concentração de potássio

ME – metileugenol

mg/Kg – miligrama por quilo de peso

ms – milissegundo

OECN – óleo essencial cróton nepeatefolius

PAC – potencial de ação composto

PM – peso molecular

TTX – tetrodoxina

VC – velocidade de condução

V_m – potencial de membrana

µg/ml – micrograma por mililitro

µm – micrômetros

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Estrutura molecular do metileugenol	16
FIGURA 2 - Traçado ilustrativo do potencial de Ação Composto (PAC)	28
FIGURA 3 - Modelo esquemático do sistema utilizado no registro extracelular para medidas do potencial de ação extracelular.....	35
FIGURA 4 - Traçado ilustrativo do cálculo da amplitude pico-a-pico.....	36
FIGURA 5 - Traçado ilustrativo da amplitude positiva dos componentes	37
FIGURA 6 - Traçado Ilustrativo para o cálculo da Velocidade de Condução Nervosa	37
FIGURA 7 - Traçado representativo do cálculo da integral.	38
FIGURA 8 - Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a amplitude pico-a-pico.....	41
FIGURA 9 - Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a velocidade de condução nervosa da amplitude positiva do primeiro componente positiva.....	43
FIGURA 10 - Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a velocidade de condução nervosa da amplitude positiva do segundo componente positiva.....	46
FIGURA 11 - Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a medida da integral ou da área sob o gráfico do potencial de ação composto.....	48
FIGURA 12 - Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a amplitude positiva do primeiro componente	50

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Algumas plantas que contém metileugenol	17
TABELA 2 – Classificação das fibras nervosas de mamíferos. A classificação do grupo I a IV aplica-se somente a fibras sensoriais	28
TABELA 3 – Amplitude pico-a-pico do PAC em nervo ciático de rato no controle e durante a exposição ao metileugenol.....	42
TABELA 4 – Velocidade de Condução nervosa do primeiro componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato, no controle e durante a exposição ao metileugenol	44
TABELA 5 – Velocidade de Condução nervosa do segundo componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato, no controle e durante a exposição ao metileugenol	47
TABELA 6 - Amplitude da amplitude positiva do primeiro componente do PAC em nervo ciático de rato no controle e durante a exposição ao metileugenol.....	51

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	12
1. História dos produtos naturais	12
2. Óleos essenciais.....	13
3. Propriedades farmacológicas dos óleos essenciais.....	14
4. Toxicidade dos óleos essenciais	15
5. Metileugenol.....	15
6. Estudos realizados com metileugenol.....	17
7. Canais iônicos.....	19
8. Canal de sódio	21
9. Canais de potássio	23
10. Canais de cálcio	26
11. Nervo ciático.....	29
1 OBJETIVOS.....	32
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
2.1 Análise dos dados	38
2.2 Análise estatística	39
3 RESULTADOS	40
3.1 Efeito do ME sobre a amplitude pico-a-pico do potencial de ação composto em nervo ciático de rato	40
3.2 Efeito do ME sobre velocidade de condução nervosa do primeiro componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato.....	42
3.3 Efeito do ME sobre velocidade de condução nervosa do segundo componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato	44
3.4 Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a medida da integral ou da área sob o gráfico do potencial de ação composto	47
3.5 Efeito do ME sobre a amplitude positiva do primeiro componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato.....	48

4 DISCUSSÃO.....	52
CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

INTRODUÇÃO

1. História dos Produtos Naturais

A história da utilização de produtos naturais na medicina se perdem na origem dos tempos. Os relatos mostram que os povos pré-históricos tiveram os primeiros conhecimentos sobre as plantas medicinais e que em todas as partes o mundo foi-se desenvolvendo sistemas de terapêuticas que faziam uma relação e interação que combinavam elementos empíricos, racionais, religiosos e mágicos. Existem registros que há 80.000 anos os povos do período Paleolítico utilizavam a vasta flora que os cercavam e utilizavam as plantas bem como suas partes e, há 50.000 anos o homem do período neolítico foi enterrado numa cova em Shanidar¹, com ramos de flores e ervas. Outros escritos mostram que no mesmo período povos cultivavam aproximadamente duzentos tipos distintos de plantas, e delas retiravam suas qualidades medicinais, sendo feito os registros por volta de 14.000 através de pinturas de curandeiros feitas por artistas (COWEN, 1994).

O conhecimento sobre as plantas sempre tem acompanhado a evolução do homem com o passar dos anos. As populações mais primitivas cedo perceberam a existência, ao lado das plantas comestíveis, de outras plantas que utilizadas empiricamente mostravam seu poder curativo.

As doenças são tão antigas como a humanidade e as populações antigas e os povos pré-históricos não escaparam em absoluto delas, a dor e a morte. A visão da cura tinha uma concepção espiritualista e acreditavam que todos possuíam espírito, e que as forças espirituais explicavam todos os fenômenos e que o sucesso era uma manifestação desses poderes. Portanto para curar as enfermidades eles invocavam espíritos e para isso acreditavam que pessoas especiais tinham a condição desta ação como sacerdotes, bruxos e curandeiros (COWEN, 1994). A maioria da sociedade acreditava que a enfermidade era o resultado da invasão do corpo por espíritos malignos.

¹ Shanidar – cidade do norte do Iraque.

Para as curas através dos curandeiros, sacerdotes e bruxos eram seguidos alguns rituais através de cânticos, sons, mantras com contorções diante do paciente, pronunciavam hinos, aspiravam para fora do corpo o espírito maligno e davam ao paciente substância a base de óleos para que fosse ingerido.

A relação e preparação dos remédios por parte dos curandeiros dão início à origem da farmácia. A idéia de que os medicamentos podiam ter outros poderes além do seu efeito sobre as funções corporais e que eles eram necessários para exorcizar os espíritos malignos, teve uma notável influência sobre a farmácia e a medicina durante os tempos que seguiram.

2. Óleos essenciais

Os “óleos essenciais” termo empregado para designar substâncias líquidas oleosas, voláteis, os quais apresentam características particulares de aroma forte e quase sempre agradável. Apresentam composição complexa, constituídos de princípios voláteis, que podem sofrer modificações durante o processo de preparação. Os óleos são compostos extraídos de plantas, sendo o arraste por vapor d’água o método de extração mais utilizado, devido ao baixo custo e fácil processo de extração (CRAVEIRO *et al.*, 1981).

Os óleos essenciais voláteis apresentam ampla distribuição em vegetais superiores. Algumas estimativas sugerem a sua ocorrência em 30% das espécies investigadas. Todavia, os gêneros capazes de elaborar os compostos que constituem os óleos essenciais estão distribuídos em aproximadamente cinquenta família (BRUNETON, 1993).

Os óleos essenciais são líquidos à temperatura ambiente, mas voláteis, o que diferencia dos óleos fixos. São raramente coloridos, apresentando geralmente densidade menor do que a água, possuindo um alto índice de refração e são solúveis em solventes orgânicos e moderadamente solúveis em água (BRUNETON, 1993).

A síntese e o acúmulo dos óleos essenciais estão geralmente associados, à presença de estruturas histológicas especializadas. Esses óleos distribuem-se em todos os tipos de órgãos vegetais e apresentam uma complexa e alta variedade de misturas de

constituintes pertencentes, quase que exclusivamente, a dois grupos caracterizados, mas de origens biogênicas diferentes, o grupo dos terpenóides e um grupo de compostos aromáticos derivados do fenilpropano (HATANAKA, 1993).

A função biológica dos terpenóides nos óleos essenciais permanece a mesma desde a descoberta dos primeiros compostos terpenóides em 1800 (HATANAKA, 1993).

Outras propriedades dos óleos essenciais também têm sido investigadas. Quando usados externamente, produtos tais como a turpentina, causam um aumento do fluxo sanguíneo capilar, sensação de calor e, em alguns casos, uma leve atividade anestésica local; esses efeitos foram explorado no passado pela utilização de embarcações ou linimentos. Existem muitas pomadas, cremes ou géis com óleos essenciais, designados a aliviar distensões, luxações, estiramentos e outras afecções musculares (BRUNETON, 1993).

4. Toxicidade dos óleos essenciais

O esclarecimento sobre o grau de toxicidade dos óleos essenciais também tem se tornado importante, devido ao seu uso terapêutico, tais como a Aromoterapia (definida como tratamento de doenças usando óleos de plantas). Alguns rótulos apresentam o óleo contido no produto onde é feita alusão com respeito ao uso abusivo. Sendo que alguns produtos induzem uma utilização de forma não criteriosa. A auto prescrição é perigosa e é muitas vezes encorajada pelo fácil acesso, mostrando falta de controle e de leis que controlam e regulamentam o uso de tais produtos (BRUNETON, 1993).

Muitos conhecimentos têm surgido sobre a toxicidade aguda dos óleos, ligado à ingestão determinadas doses, particularmente a neurotoxicidade, induzida por cetonas as quais provocam episódios epileptiformes e tetaniformes e ainda distúrbios psíquicos. Alguns compostos dos óleos são tóxicos em altas doses ($DL_{50} - 3g/Kg$ - *Croton nepetaefolius*), sendo sua utilização criteriosa nas práticas da aromterapia quando da utilização de óleos essenciais, puro ou em altas doses, por via oral, e ainda mais quando são utilizados em misturas (BRUNETON, 1993).

Os óleos essenciais e seus constituintes apresentam uma diversidade de utilização em várias áreas. Podem ser usados na indústria alimentícia, perfumaria e cosméticos, assim como podem ser também empregados para mascarar odores indesejáveis e usados como solventes e insumos em produtos da indústria de plástico, tinta, borracha, etc., além de serem ponto de partida para a síntese de outras substâncias (CRAVEIRO *et al.*, 1981).

5. Metileugenol

– Aspectos gerais

Metileugenol (C₁₁ H₁₄ O₂) (ME), um dos análogos do eugenol (Figura 1), tem peso molecular 178.2; cor amarelo ouro, odor marcante e forte, insolúvel na água e solúvel em clorofórmio e éter (SELL & CARLINI, 1976) também conhecido como: 1,2 dimetoxialilbenzeno; 1,3,4-eugenol-metil-éter; 1-alil-1,2-dimetoxibenzeno; 4-alilveratrol; 4-alil-1,2-dimetoxibenzeno; 3,4-dimetoxialilbenzeno ENT 21040; 1-3 3,4-dimethoxyphenyl -2-propene; eugenol methyl ether (DE VINCENZI, 2000).

O metileugenol², é um dos análogos do eugenol que podemos encontrar como constituinte de um grande número de plantas do Nordeste do Brasil tais como: *Myristica fragran* H. (Myristicaceae), *Ocimum basilicum* L. (Apiaceae), *Assarum europaeum*, *Cinnamomum oliveri* (TISSERAND; BALACS, 1995; FRANCHOMME PÉNÖEL, 1995) *Doryphora sassafrás* Endl. (Monimiaceae), croton zenhtneri, ou “Canela de Cunha” (COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 1997; MAGALHÃES, 1997) e *Cróton nepetaefolius* Baill (Euphorbiaceae) (LEAL-CARDOSO & FONTELES, 1999; DE VINCENZI *et al.*, 2000; OZCAN and CHALCHAT, 2000).

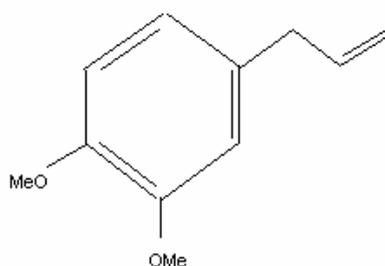


FIGURA 1 – Estrutura molecular do metileugenol.

Esses compostos são usados na indústria de cosméticos na fabricação de sabões, nos xampus e como agentes flavorizantes nas geléias, em bebidas não alcoólicas, goma de mascar e sorvetes (COUNCIL OF EUROPA, 2001).

O metileugenol é um dos componentes dos óleos essenciais e seus componentes são separados e usados como aditivos flavorizantes e como fragrâncias desde 1920, e sendo reconhecido e classificado em geral pelo aroma e pela associação dos extratos manufaturados desde 1965 (STOFBERG, 1987).

² Metileugenol: É um composto fenólico análogo do eugenol.

O metil-eugenol e o estragol são consumidos predominantemente em produtos alimentícios tradicionais (STOFBERG *and* GRUNDSCHOBBER, 1987).

TABELA 1 – Algumas plantas que contém metileugenol

NOME BOTÂNICO	NOME COMUM	% CONTIDO NA PLANTA
<i>Acorus calamus</i> L.	Sweet flag	1.0
<i>Artemisia dracuncululus</i> L. (Asteraceae)	Tarragon	-
<i>Cymbopogon citratus</i> DC. (Poaceae)	Lemongrass	-
<i>Cymbopogon flexuosus</i> Nees. (Poaceae)	Lemongrass	2.0
<i>Elettaria cardamomum</i> L. Matou. (Zingiberaceae)	Cardamom	0.1
<i>Eugenia caryophyllata</i> Thumb. (Myrtaceae)	Clove	-
<i>Hyssopus officinalis</i> L. (Lamiaceae)	Hyssop	0.54
<i>Myristica fragrans</i> H. (Myristicaceae)	Nutmeg	0.1-17.9
<i>Myrtus communis</i> L. (Myrtaceae)	Myrtl	2.3
<i>Ocimum basilicum</i> L. (Lamiaceae)	Sweet basil	2.0
<i>Pimenta officinalis</i> Lindl. (Myrtaceae)	Pimento	5.0-8.8

Fonte: Fenalori, 1995.

6. Estudos realizados com metileugenol

A exposição humana ao ME pode ocorrer pelo uso de cosméticos diretamente aplicados na pele, por inalação, ou por via oral através de substâncias flavorizantes contidas nos alimentos (DE VINCENZI *et al.*, 2000). Muitas ações biológicas do ME tem sido relatadas previamente. Por exemplo, esse composto tem atividade antibactericida (FRANCHOMME e PÉNOËL, 1995), em mamíferos. Também foi visto que o ME foi visto que induzia efeitos de hipotermia, além de ser miorelaxante, antiespasmódico, anticonvulsivante e ter efeito anestésico (SELL *and* CARLINI, 1976; DALLMEIER *and* CARLINI, 1981; SOUZA *et al.*, 1990; MAGALHÃES *et al.*, 1998; LIMA *et al.*, 2000; SAYYAH *et al.*, 2002).

Em estudos realizados previamente, foi observado que a ingestão oral de quantidades crônicas de metil-eugenol esteve associada com o aumento na incidência de hepatotoxicidade, neoplasma no fígado e estômago em ratos (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM, 2000).

Em um estudo realizado em um período de quatorze semanas, ratos fêmeas e machos receberam por gavagem metileugenol nas doses de (controle; 10; 30; 100; 300 e 1000mg/Kg) e 0,5% de metilcelulose 5 vezes por dia durante 2 semanas. Foi observado uma redução do peso dos animais do grupo tratado com as doses de 300 e 1000 mg/Kg. Também foram observados danos hepáticos e hipertrofia adrenal em doses de 100 ou mais, também de quadros de colestase ou de outras funções hepáticas alteradas, redução dos níveis séricos de albumina e proteínas totais e atrofia gástrica nas doses de 300 e 1000 mg/Kg. Em um segundo experimento similar feitos com ratos machos e fêmeas, houve uma redução significativa do peso corporal dos animais na dose de 300 mg/Kg. Ocorreu também variação no peso do fígado dos ratos machos nas doses de (30, 100, 300 e 1000 mg/Kg), e nas doses de (300 e 1000 mg/Kg) nas ratas fêmeas, o aumento foi significativo. Além disso, ocorreu uma incidência de alteração citológica, necrose, hiperplasia do ducto biliar e inflamação subcutânea também foram observados no fígado dos ratos machos com doses de 1000 mg/Kg e nas fêmeas nas doses de 300 e 1000 mg/Kg. (DE VINCENZI *et al.*, 1999).

Em comparação ao pentobarbital, o ME demonstrou, quando administrados via intraperitoneal em ratos, uma resposta eletroencefalográfica similar, com indução anestésica mais rápida, maior facilidade operatória, um menor efeito cianótico e melhor recuperação do coma anestésico (SELL & CARLINI, 1976; CARLINI *et al.*, 1981; BARBOSA & OLIVEIRA, 1990).

Parece atuar diretamente na miofibrila lisa, exercendo, além do efeito relaxante, um efeito antiespasmódico inespecífico para as contrações induzidas por acetilcolina ou histamina, que é amplamente independente de alterações no potencial transmembrana e provavelmente envolve um componente intracelular (LIMA, 1998).

Sugeriu-se ainda que o relaxamento induzido pelo ME pode refletir uma atuação localizada em algum estágio da transdução do sinal no íleo, após o processo de ativação dos receptores da membrana sarcoplasmática, e independente de alterações do influxo de Ca^{++} extracelular. Entre outras hipóteses mais específicas se inclui a possibilidade de que o ME seja capaz de produzir uma dessensibilidade do aparelho contrátil para o Ca^{++} (LIMA, 1998; LIMA *et al.*, 2000).

7. Canais iônicos

Em 1938, experimentos realizados por Kenneth Cole e Howard Curtis, observaram que a atividade no axônio gigante de lula durante o potencial de ação, a condutância da membrana aos íons aumenta de forma muito acentuada, tal descoberta sugeria que o potencial de ação resultaria do movimento muito elevado de íons, através dos canais da membrana. Uma década após Hodgkin e Katz observaram que a amplitude do potencial de ação era reduzida quando a concentração de Na^+ externa era reduzida. Os mesmos propuseram que a despolarização da célula dá início a um potencial de ação que levaria a uma modificação da permeabilidade ao íon Na^+ por um período muito curto. Esse influxo seria superior a permeabilidade primária ao K^+ quando esta se encontra em repouso. Um outro fato sugerido foi que a fase descendente do potencial de ação fosse devido a um aumento tardio a permeabilidade ao K^+ (KANDEL *et al.*, 1997).

A atividade elétrica que é característica dos neurônios – tendo sua habilidade para conduzir, transmitir e receber sinais elétricos é uma resultante da abertura e do fechamento de proteínas de canal iônico específicas na membrana citoplasmática de neurônios (LODISH, 2002).

Em fibras mielinizadas de mamíferos, os vários tipos de canais iônicos não são distribuídos ao acaso, mas, ao contrário, tem uma distribuição ordenada. Por exemplo, canais para Na^+ e canais rápidos de K^+ têm distribuição complementar, ou seja, canais para Na^+ encontram-se agrupados em alta densidade no nodo de Ranvier da membrana axonal e canais rápidos de K^+ localizados paranodal / internodal na membrana axonal, abaixo da bainha de mielina (HILLE, 2001).

A excitabilidade de células sensoriais, neurônios e miócitos dependem dos canais iônicos, transdutores de sinais que fornecem uma via regulada para a movimentação de íons inorgânicos, tais como o Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , através da membrana plasmática, em resposta a vários estímulos celulares (NELSON *et al.*, 2002).

Pelo fato de canais iônicos geralmente permitirem a passagem tanto de ânions e cátions, mas não de ambos, o fluxo de íon através de um canal produz uma redistribuição de carga nos dois lados da membrana, alterando o potencial de membrana (V_m) (NELSON *et al.*, 2002).

No potencial de repouso, o neurônio possui canais iônicos controlados por voltagem que se encontram fechados; sendo a passagem de íons bloqueados. Quando uma região da membrana citoplasmática fica levemente despolarizada, os canais de Na^+ regulados por voltagem abrem-se por um período curto permitindo o influxo de íons Na^+ , causando de tal forma uma repentina e transitória variação de cargas gerando uma despolarização associada com um potencial de ação. Na seqüência a abertura e fechamento transitório dos canais de Na^+ regulados por voltagem, a abertura transitória dos canais de K^+ da mesma natureza provocam assim o retorno do potencial de membrana ao estado de repouso e torna-se ainda mais negativa (hiperpolarizada) por um curto tempo (LODISH, 2002).

O processo de sinalização neuronal acontece através de variações rápidas da diferença de potencial elétrico através da membrana da célula (KANDEL *et al.*, 1997). O potencial de ação gerado por uma célula, assemelha-se em tamanho e não diminuem à medida que são conduzidos ao longo do axônio (BEAR, 2002). Este processo acontece através dos canais iônicos que são poros, macromoléculas

As alterações temporárias na condutância ao sódio (g_{Na}), propostas por Hodgkin e Huxley são devidas a existência de “*gates*” para o sódio na membrana axonal. Esses portões eram ativados – “abertos” por uma alteração na membrana neuronal, despolarização acima do limiar, e inativados – “fechados” quando a membrana adquiria um potencial de membrana positivo, sendo esses portões novamente prontos para serem acionados, apenas quando o potencial de membrana retornasse ao seu valor negativo (BEAR, 2003).

O potencial de ação é uma redistribuição de carga elétrica através da membrana. A despolarização da membrana faz com que os canais para Na^+ se abram rapidamente (com aumento na g_{Na}), levando ao influxo de Na^+ . Essa corrente, por descarregar a capacitância da membrana, produz despolarização adicional, abrindo, assim, mais canais de Na^+ , resultando em corrente mais intensa. Esse processo produz então o potencial de ação (KANDEL *et al.*, 2000).

Nenhuma espécie iônica está distribuída igualmente nas duas faces da membrana da célula neural. Na^+ e Cl^- estão mais concentrados do lado extracelular, enquanto K^+ e outros ânions do lado intracelular, sendo os ânions orgânicos principalmente aminoácidos e proteínas (KANDEL, 2000).

A membrana das células excitáveis – não somente neurônios contêm canais de cátions controlados por voltagem, que são responsáveis pela geração do potencial de ação (ALBERTS, 2004).

8. Canal de sódio

Agnew *et al* encontraram que os canais para Na^+ são proteínas e com resíduos de carboidratos ligados a peptídeos, com peso molecular de 260.000 (AIDLEY, 1998).

A cadeia protéica possui uma estrutura longa de 1820 resíduos de aminoácidos com quatro regiões homólogas e que possuem seqüências similares de aminoácidos organizados em quatro domínios (I ao IV) (AIDLEY, 1998). Existe em cada hélice de cada domínio uma alta densidade de resíduos carregados positivamente. Acredita-se que esse segmento se mova para dentro da membrana em resposta a alterações de voltagem e que os

quatro domínios também estejam agrupados, formando um poro entre eles. Quando a célula está no potencial de repouso o poro está fechado. A inativação do canal ocorra por um mecanismo de bola-e-cadeia. Sendo um domínio protéico na superfície citosólica do canal de Na^+ chamado de inativação de entrada (a bola), é presa ao canal por um segmento polipeptídico (a cadeia). Tal domínio é livre para se mover quando o canal encontra-se fechado, mas, quando ele se abre, um sítio na face interna do canal torna-se disponível para ligar a bola amarrada, bloqueando assim o canal (NELSON *et al*, 2002).

A repentina mais breve despolarização de uma região da membrana citoplasmática, durante um potencial de ação, é causada por um movimento maciço e transitório influxo de íons Na^+ através de canais de Na^+ regulados por voltagem nessa região, sendo que no potencial de repouso da membrana, esses canais encontram-se fechados. Quando a despolarização da membrana ocorre uma mudança na conformação desses canais, abrindo canais específicos de Na^+ e permitindo o influxo desse íon através dos mesmos (LODISH *et al*, 2002).

Vários tipos de canais para Na^+ sendo esses diferentes entre si, estão presentes em diferentes tipos de axônios. Podemos observar que os canais possuem ativação e inativação lentas presentes nos axônios sensoriais cutâneos, em oposição com os canais para Na^+ de ativação e inativação rápidas, em axônios aferentes musculares. Desta forma percebe-se a oportunidade de manipulação farmacológica de específicos tipos de axônios.

As correntes que passam pelo canal de sódio, assim como os potenciais de ação, podem ser completamente bloqueados pela tetrodotoxina (TTX). A TTX é uma potente toxina que obstrui o poro permeável ao Na^+ , ligando-se firmemente a um sítio específico no lado externo do canal. Extraída dos ovários do peixe chamado *baiacu*. A TTX é uma entre várias toxinas naturais que interferem com a função do canal de Na^+ dependente de voltagem (BEAR, 2003).

Múltiplos componentes da corrente de Na^+ têm sido registrados em neurônios do gânglio da raiz dorsal (GRD), que exibem diferenças significativas de “gating” e sensibilidade a tetrodotoxina (TTX) (KOSTYUK *et al.*, 1981; ROY e NARAHASHI, 1992; OGATA e TOTEYASHI, 1993; RUSH *et al.*, 1998). As cinéticas das correntes sensíveis a TTX são

geralmente rápidas e o estado constante de ativação e inativação são alterados em voltagens hiperpolarizantes, quando comparadas às correntes resistentes à TTX. Pelo menos cinco componentes distintos de canais para Na^+ voltagem dependente têm sido registrados em neurônios do GRD (RUSH *et al.*, 1998). O Na_v 1.7 (PN1), um canal sensível a TTX, com inativação rápida, muito expresso em GRD (SANGAMESWARAN *et al.*, 1997; TOLEDO – ARAL *et al.*, 1997); o Na_v 1.8 (PN3), resistente a TTX, com inativação lenta, expresso predominantemente em pequenas fibras nociceptivas tipo C (AKOPIAN *et al.*, 1996; SANGAMESWARAN *et al.*, 1997); o Na_v 1.9 (NaN) que deve contribuir para a corrente TTX resistente em pequenos neurônios do GRD (DIB-HAJJ *et al.*, 1998).

Em fibras mielinizadas de mamíferos, os vários tipos de canais iônicos não são distribuídos ao acaso mas, ao contrário, tem uma distribuição ordenada. Por exemplo, canais para Na^+ e canais rápidos para K^+ têm uma distribuição complementar, ou seja, canais para Na^+ encontram-se agrupados em alta densidade no nodo de Ranvier da membrana axonal e canais rápidos de K^+ localizados paranodal / internodal na membrana axonal, abaixo da bainha de mielina (HILLE, 2001).

9. Canais de potássio

O canal para K^+ é uma proteína com 616 resíduos de aminoácidos com Peso Molecular (PM) de 70.200 (AIDLEY, 1998).

Nas células excitáveis, o papel de quase todos os tipos de canais para K^+ , geralmente estão relacionados à estabilização. O conjunto de canais para K^+ , regulam o potencial desencadeado, acabam com períodos de atividade intensa, controlam os intervalos de picos durante as ações repetidas, e diminuem geralmente a eficiência dos impulsos excitatórios na célula quando estão abertos (HILLE, 2001).

Provavelmente todas as células possuem canais para K^+ , mas não se conhecem todos os tipos presentes, sendo extremamente difícil saber a contribuição individual na eletrofisiologia celular de cada tipo de canal (HILLE, 2001).

Membranas axonais expressam predominantemente a classe de canais para K^+ do tipo retificadores tardios (Kv). As três propriedades mais importantes do potencial de ação axonal são: alta velocidade de condução, brevidade e rápida recuperação. Alta velocidade requer “propriedades de cabo” adequadas e uma boa densidade de canais para Na^+ de ativação rápida. Brevidade requer rápida inativação de canais para Na^+ e uma alta permeabilidade ao K^+ . Em muitas células excitáveis com potenciais de ação de pequena duração (1-10ms a 20°C), a alta permeabilidade ao K^+ é devido a rápida ativação de canais retificadores tardios da classe Kv. Axônios desmielinizados, motoneurônios e músculos esqueléticos rápidos de vertebrados fazem potenciais de ação de pequena amplitude devido canais Kv. Contudo, em axônios mielinizados, uma grande condutância inespecífica, independente de voltagem - a condutância de repouso para íons K^+ - tem um papel importante. Certamente retificadores tardios rápidos parecem não estar presentes em nodos de Ranvier típicos de mamíferos (HILLE, 2001).

Canais para K^+ retificadores tardios lentos (KCNQ) são expressos em neurônios, onde eles são regulados por neurotransmissores. A condutância desses canais pode ser muito lentamente ativada por um único potencial de ação em um dado neurônio, mas eles são ativados por potenciais próximos ao nível de repouso, frequentemente em torno do potencial limiar de excitação (HILLE, 2001). Esses canais para K^+ são controlados por voltagem, mas devido a sua cinética ser mais lenta, eles abrem somente durante a fase de declínio do potencial de ação, quando os canais de Na^+ estão inativos. A sua abertura

Os estudos com mutante de canais para K^+ controlados por voltagem mostram que os vinte aminoácidos na região N-terminal da proteína do canal são necessários para a rápida inativação do canal. Quando da alteração da estrutura, as cinéticas de inativação são alteradas, e caso seja removida a região inteira, a inativação não ocorre. Esses dados sugerem então que a região amino terminal de cada subunidade do canal para K^+ atua como um peso que obstrui a extremidade citoplasmática do poro tão logo ele abre, inativando, assim, o canal (ALBERTS, 2004).

O canal para K^+ ativado por Ca^{++} é tanto estrutural quanto funcionalmente diferente de qualquer outro tipo de canal. Ele abre quando ocorre um aumento na concentração citosólica de Ca^{++} da membrana celular nervosa. Devido ao resultante aumento da permeabilidade da membrana ao K^+ tornar a membrana mais difícil de despolarizar, levando a um aumento no atraso entre um potencial de ação e o próximo (ALBERTS, 2004).

Em células excitáveis de vertebrados existem canais ativados pelo aumento da $[Ca^{++}]$ livre no citoplasma, são os grandes canais para K^+ Ca (BK), os pequenos (SK) e os intermediários (IK) com diferentes propriedades (BLATZ e MAGLEBY, 1987 *apud* HILLE, 2001), diferem em sua dependência de voltagem, sensibilidade ao Ca^{++} , farmacologia e condutância. Em alguns vertebrados, após cada pico em um motoneurônio a membrana hiperpolariza duas vezes, uma hiperpolarização rápida inicial e uma lenta e retardada, ambas devido a elevada condutância ao K^+ . Os canais responsáveis por esta alta condutância são Kvs, suplementados pelos BKs que abrem rapidamente durante a despolarização e colaboram na repolarização do pico e na hiperpolarização rápida e os canais SK geradores da hiperpolarização lenta (ADAMS *et al.*, 1982; STORM, 1990 e SHAO *et al.*, 1999 *apud*: HILLE, 2001).

Axônios parecem ser construídos para economia metabólica em repouso. Em potencial de repouso negativo, todos esses canais tendem a fechar, minimizando o fluxo das correntes antagônicas para dentro e para fora e minimizando o custo metabólico da ociosidade. Despolarização, por outro lado, tende a abrir canais e dissipar gradientes iônicos, mas a inativação de canais para Na^+ e ativação retardada de canais para K^+ em axônios mantêm este consumo em um mínimo. Para economia de energia, as células apresentam um fluxo de corrente antagônica, através de canais para K^+ retificadores para dentro (K_{ir}), que aumentam a condutância de acordo com a hiperpolarização e diminuem de acordo com a

despolarização. Canais Kir, tipo K_{ATP} , hiperpolarizam células quando níveis de ATP estão baixos, ou seja, com baixos níveis de energia, estes podem ser encontrados no coração, no músculo esquelético, em neurônios e células β pancreáticas (HILLE, 2001).

Existem ainda canais K_A , que podem ser ativados quando uma célula é despolarizada, após um período de hiperpolarização, evitam o desenvolvimento de despolarizações interpicos no espaço entre potenciais de ação sucessivos.

10. Canais de cálcio

Canais para Ca^{++} voltagem-dependente coexistem com canais para Na^+ , contribuindo parcialmente para excitabilidade elétrica em corpos celulares de neurônios de vertebrados. Canais para Ca^{++} e Na^+ são distribuídos diferentemente, em neurônios de vertebrados, a densidade de canais para Na^+ deve ser mais alta no segmento inicial do axônio e nos nodos de Ranvier, uma vez que canais para Ca^{++} HVA (ativados por alta voltagem) ocorrem em dendritos e soma, mas não em axônio (MAGEE *et al.*, 1998 e CATTERALL, 2000a *apud* HILLE, 2001).

– Potencial de ação composto

O potencial de ação é uma seqüência de eventos: de despolarização da membrana, hiperpolarização e retorno ao valor de repouso, sendo ciclos com duração de 1 a 2ms e podendo ocorrer centenas de vezes por segundo (LODISH, 2002).

O potencial de ação é uma alteração abrupta do potencial de repouso da membrana de um estado de eletronegatividade da face interna da membrana citoplasmática, para um estado de eletropositividade, uma vez excitada à fibra nervosa. No nervo, este fenômeno decorre geralmente da passagem de um estado onde a membrana é mais permeável à passagem de íons K^+ e tem valores de potencial transmembrana mais próximos do valor do potencial eletroquímico deste íon, para um estado onde se observa uma inversão da polaridade da membrana, onde a mesma apresenta uma maior permeabilidade aos íons Na^+ . Este último faz com que o valor do potencial transmembrana se aproxime muito do potencial eletroquímico do Na^+ . (HODGKIN e HUXLEY, 1939; HODGKIN e KATZ, 1949).

O potencial de ação no nervo se caracteriza ainda como um estado transitório muito rápido (poucos milissegundos), uma vez que esta condutância ao Na^+ logo cessa, enquanto a permeabilidade ao K^+ chega ao seu valor máximo, fazendo com que o potencial transmembrana retorne ao seu valor inicial. A amplitude deste potencial de ação demonstrou ser amplamente dependente da concentração externa de íons Na^+ e insensível à variação do K^+ extracelular (CRUZ, 2000).

Quando a membrana é despolarizada até o limiar, há aumento temporário na (g_{Na}), com isso ocorrerá à entrada de íons sódio o que despolariza o neurônio. A restauração do potencial negativo será iniciada pelo aumento na (g_{K}) durante a fase descendente da despolarização (BEAR, 2002).

O potencial é dito composto (figura 2), quando o seu registro ocorre de forma extracelular (ou seja, entre diferentes pontos do meio extracelular), este é constituído por várias fibras nervosas, as quais conduzem a resposta ao estímulo aplicado com diferentes amplitudes e velocidades. O pico registrado é composto de picos individuais de muitos axônios e este varia na amplitude com o estímulo, sendo uma resposta gradual e saturável, pois ao aumentar o estímulo mais e mais axônios contribuem para o total do registro (JUNGE, 1976; BEST e TAYLOR, 1990).

Erlanger e Gasser, (1937) demonstraram que o registro do potencial de ação composto revelava a presença de até três componentes α , β e γ , que refletiam a atividade de diferentes tipos de fibras nervosas. Essas fibras foram denominadas como grupos A, B e C (Tabela 1), levando-se em consideração aspectos relacionados a sua velocidade de condução, diâmetro da fibra e amplitude de resposta. Foi demonstrado que as fibras de diâmetros maiores possuem uma velocidade de condução maior, maior amplitude de resposta elétrica, menor limiar de excitação e menor duração da resposta e do período refratário (HURSH, 1939; GASSER, 1943).

TABELA 2 – Classificação das fibras nervosas de mamíferos. A classificação do grupo I a IV aplica-se somente a fibras sensoriais.

TIPO	GRUPO	DIÂMETRO (MM)	VELOCIDADE DE CONDUÇÃO (M/S)	FUNÇÃO
A α		15-20	50-120	Fibras motoras para músculo esquelético
A α	Ia	15-20	70-120	Terminações primárias no fuso muscular
A α	Ib	12-20	70-120	Aferentes no órgão tendinoso de Golgi
A β	II	5-10	30-70	Terminações secundárias nos fusos musculares, tato, pressão
A γ		3-6	15-30	Inervação motora dos fusos musculares
A δ	III	2-5	5-25	Receptores de pressão, dor rápida e aguda e temperatura
B		3	3-15	Pré-ganglionares autonômicas
C		0.5-1	0.5-2	Pós-ganglionares autonômicas (não-mielinizadas)
C	IV	0.5-1	0.5-2	Dor lenta e difusa e temperatura (não-mielinizadas)

Fonte: AIDLEY, 1998 - Capítulo 4, p. 53.

As fibras do tipo A são todas mielinizadas, apresentam diâmetros de 1 a 20 μm e velocidades de condução de 50 m/s ou menos, para as fibras menores, até 120 m/s, para as maiores. Possuem maior amplitude de resposta, menor limiar de excitação, menor duração de resposta e período refratário igualmente menor. Este grupo de fibras é o que quantitativamente mais contribui para o PAC. Podem ocorrer em nervos somáticos como o ciático e o safeno. As fibras do tipo B são mielinizadas, apresentam diâmetros da ordem de 1 a 3 μm e velocidade de condução de 3 a 15 m/s. Ocorrem apenas em nervos autonômicos pré-ganglionares. As fibras do tipo C não são mielinizadas, apresentam diâmetros inferiores a 1 μm e apresentam velocidades de condução em torno de 2 m/s, sendo encontradas principalmente em nervos cutâneos e viscerais, podendo ser encontrada no nervo sural, polpa dentária e articulações (BEST e TAYLOR, 1990).



Figura 2 – Traçado ilustrativo do potencial de Ação Composto (PAC)

11. Nervo ciático

O sistema nervoso de diferentes espécies evoluiu de ancestrais comuns e que estes podem ter mecanismos comuns era o que precisávamos para relacionar os resultados em experimentos com animais com os experimentos realizados em humanos. Os primeiros trabalhos que mostravam detalhes de como o impulso elétrico é conduzido pelo nervo foram mostrados primeiramente em lulas e, agora, sabemos que são igualmente aplicáveis em humanos. A maioria dos neurocientistas hoje em dia utiliza modelos animais nos processos que eles querem compreender em humanos. Conseqüentemente ratos são excelentes modelos para pesquisa focada em compreender como as drogas exercem seus efeitos sobre o sistema nervoso (BEAR *et al.*, 2002).

O nervo ciático ou isquiático está localizado entre o trocanter maior e a tuberosidade isquiática. Quando o quadril está estendido o nervo se acha recoberto pelo grande glúteo, mas ao fletir o quadril, o músculo desloca-se deixando o nervo descoberto (GARDNER *et al.*, 1988).

Esse nervo tem fibras (axônios) com diferentes diâmetros o que causa diferentes velocidades de condução do potencial de ação. Quando estimulada, a fibra nervosa produz e transmite um impulso ao longo de sua extensão, que envolve dois processos chamados de excitação e condução. A excitação se refere a eventos que levam a geração de um potencial de ação, enquanto a condução, está relacionada com a propagação desta resposta ao longo da fibra nervosa (BEST & TAYLOR, 1990).

O nervo ciático origina-se dos segmentos espinhais L-4 a L-5 e apresenta principalmente fibras nervosas do tipo A, subtipos: A α - constituem uma via eferente para fibras musculares esqueléticas, via aferente do órgão tendinoso de Golgi (Ib) e terminações primárias no fuso muscular (Ia), possuem um diâmetro médio de 15 μ m e velocidade de condução de 70 a 120 m/s; A β - função principal de aferência na propriocepção, tato e pressão nos músculos e articulações, diâmetro médio de 8 μ m e velocidade de condução média de 50 m/s; A γ - responsável pela manutenção do tônus muscular, possui fibras motoras eferentes para o fuso muscular, diâmetro de 3 a 6 μ m velocidade de condução de 15 a 35 m/s e A δ - fibras sensitivas para temperatura e dor,

diâmetro de 1 a 4 μm e velocidade de condução de 5 a 25 m/s. (BEST e TAYLOR, 1990; NOKES *et al.*, 1991; GOODMAAN e GILMAN, 1996; AIDLEY, 1998).

O subtipo de fibras $A\alpha$, tendo fibras motoras e sensitivas, contribuem quantitativamente para o potencial de ação composto do nervo ciático, sendo uma menor participação das fibras do tipo C (ERLANGER & GASSER, 1937).

As fibras do tipo B são mielinizadas e têm diâmetro de 1 a 3 μm e velocidade de condução de cerca de 3m/s até 14m/s. São encontradas apenas em nervos autonômicos pré-ganglionares (BEST & TAYLOR, 1989).

As fibras do tipo C são menores fibras (menos de 1 μm de diâmetro), não são mielinizadas e com velocidade de condução em torno de 1 a 2m/s ou menos. São encontradas principalmente em nervos cutâneos e viscerais (BEST & TAYLOR, 1990).

A preparação usando nervo ciático de anfíbio ou mamífero é uma preparação clássica para estudo da propagação do potencial de ação (KOZAM, 1977) que continua sendo muito usada em estudos fisiológicos, farmacológicos e metabólicos por ser uma preparação estável e de montagem relativamente rápida. Estudos afirmam a estabilidade para trabalhos com essa preparação (THEOPHILIDIS & PAVLIDOU, 1993).

O pré-requisito para a propagação apropriada do impulso regenerado são os axônios mielinizados através dos nódulos de Ranvier, com a organização apropriada de canais de sódio para maior eficiência na velocidade de condução. Onde encontramos uma maior densidade de canais de sódio nos nódulos de Ranvier (DUARTE, 2004). Em pesquisas recentes foi verificado que os nódulos expressam canais de sódio do tipo $\text{Na}_{v1.6}$, que correspondem a subtipos de canais rápidos sensíveis a TTX (DUARTE, 2004).

Nervo ciático com parte imersa em soluções fisiológicas e com um par de eletrodos de estimulação em uma extremidade e um par de eletrodos de registro em outra, tem sido estabelecido como um padrão de preparação *in vitro* para estudos neurofarmacológicos e neurofisiológicos (THEOPHILIDIS e PAVLIDOU, 1993). E nervo ciático de rato é um dos mais freqüentemente empregados em modelos para estudo do sistema nervoso periférico (MONTROYA *et al.*, 2002).

Há uma grande viabilização do estudo do nervo ciático *in vitro*, por este apresentar uma grande vitalidade após a sua dissecação. Ao ser conservado na temperatura de 37°C, o nervo ciático de mamíferos preserva suas características de condução durante um tempo de até 3 horas, a 32°C durante um tempo de até 6 horas, conforme relatos sobre nervo ciático de ratos (THEOPHILIDIS e PAVLIDOU, 1993). Cruz (2000), comprovou que o nervo ciático de rato permanece viável por até 8 horas, sem que ocorra alterações nos parâmetros do PAC, a temperatura de 25°C.

1 OBJETIVOS

Geral

Pesquisar, usando a técnica de registro extracelular do potencial de ação composto (PAC) a ocorrência de alterações na excitabilidade neuronal induzidas pelo metileugenol (ME) em nervo ciático de rato.

Específicos:

- Caracterizar os efeitos e alterações induzidas pelo ME em nervo ciático de rato:
 - As alterações na excitabilidade nervosa, quantificando a amplitude pico-a-pico, velocidade de condução nervosa dos componentes, amplitude dos componentes e a integral, no potencial de ação composto (PAC).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os nervos ciáticos foram dissecados de ratos da raça *Wistar (Ratus norvegicus)* de ambos os sexos, pesando entre 180 e 260 gramas fornecidos junto ao Biotério Central da Universidade Federal do Ceará e mantidos no Biotério da Universidade Estadual do Ceará, com livre acesso a água e ração *ad libitum* e ração própria para este tipo de animal, e controle do ciclo claro / escuro (12/12h). Todos os protocolos desenvolvidos estão de acordo com as normas para o cuidado e uso de animais de laboratório, publicado pela *US National Institute of Health* (NIH Publication 85-23, revisado em 1985).

Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, em seguida foi realizada uma incisão a partir do calcanho até a região entre L4 e L6.

O nervo ciático foi removido de sua inserção e imediatamente acondicionado em solução de Locke modificada, que continha a seguinte composição em (mM): NaCl: 140; KCl: 5,6; MgCl₂: 1,2; CaCl₂: 2,2; Tris-Hidroximetil-Aminometano: 10,0; Glicose: 10,0; à 25°C, havendo ajuste do pH (7,39 a 7,41), onde permaneceu por 1 (uma) hora, antes de ser levado para a execução do protocolo experimental.

O metileugenol (ME) devido a sua pouca hidrossolubilidade, foi solubilizado em dimetilssulfóxico (DMSO) em concentração de 0,02% para formar solução estoque, e posteriormente, foi diluído na solução de Locke a fim de se obter as concentrações desejadas, as quais o nervo foi exposto dentro da câmara.

O registro extracelular, armazenagem e análise dos dados foram realizados de acordo com técnicas anteriormente descritas na literatura (KOZAM, 1977; WEINREICH *et al.*, 1995; ALBUQUERQUE *et al.*, 1996; CRUZ, 2000; MOREIRA *et al.*, 2001; PIRES, 2002; MATOS, 2004).

O nervo ciático foi posicionado transversalmente sobre os eletrodos de platina da câmara de Harvard. A câmara estava hermeticamente fechada com o propósito de se evitar a

desidratação da preparação. Um segmento de parte nervo ciático de aproximadamente 20 milímetros foi submersa na solução, onde estiveram diluídas a droga nas concentrações estabelecidas pelo protocolo experimental ou somente na solução do banho, concentração. Esta submersão se deu também entre os eletrodos que conduziam o estímulo ao nervo e bem como os responsáveis pelo registro.

O estímulo elétrico, o qual evocou o potencial de ação composto foi gerado por um estimulador Grass (Figura 3), modelo S-48 (Grass Instrument Co., Quincy, MA, USA). Utilizamos um pulso do tipo onda quadrada, com amplitude 20 - 40 Volts, duração de 50 a 100 μ s e aplicados a uma frequência de 0,2 Hz, para a maioria dos protocolos e 20 Hz para o protocolo com alta frequência de estimulação. De acordo com demonstrações anteriores, algumas drogas anestésicas locais têm potencialização de seu efeito quando a preparação é submetida a altas frequências de estimulação (BRODIN; ROED, 1984).

Ao passar pela parte submersa o PAC sofre alterações, que dependerá da concentração de (ME) solubilizada na solução de Locke. O PAC evocado será registrado com eletrodo de platina, colocado 4 a 5 cm do eletrodo de estímulo e conectado através de um amplificador (AM 01/UECE) com ganho de 100 vezes e filtro de segunda ordem de frequência de corte ajustada para 10kHz, especialmente configurado e produzido no laboratório de eletrofisiologia. Em seguida o traçado era capturado por um osciloscópio (*Model 547, Tektronik, Inc., Portland, OR, USA*) e para uma placa de interface Analógico-Digital (Digidata 1200 A/B) que permitirá a transformação, leitura e armazenamento do sinal pelo computador através de um software (*Model AxoScope, Axon Instruments, Inc.*) (MOREIRA, 2001).

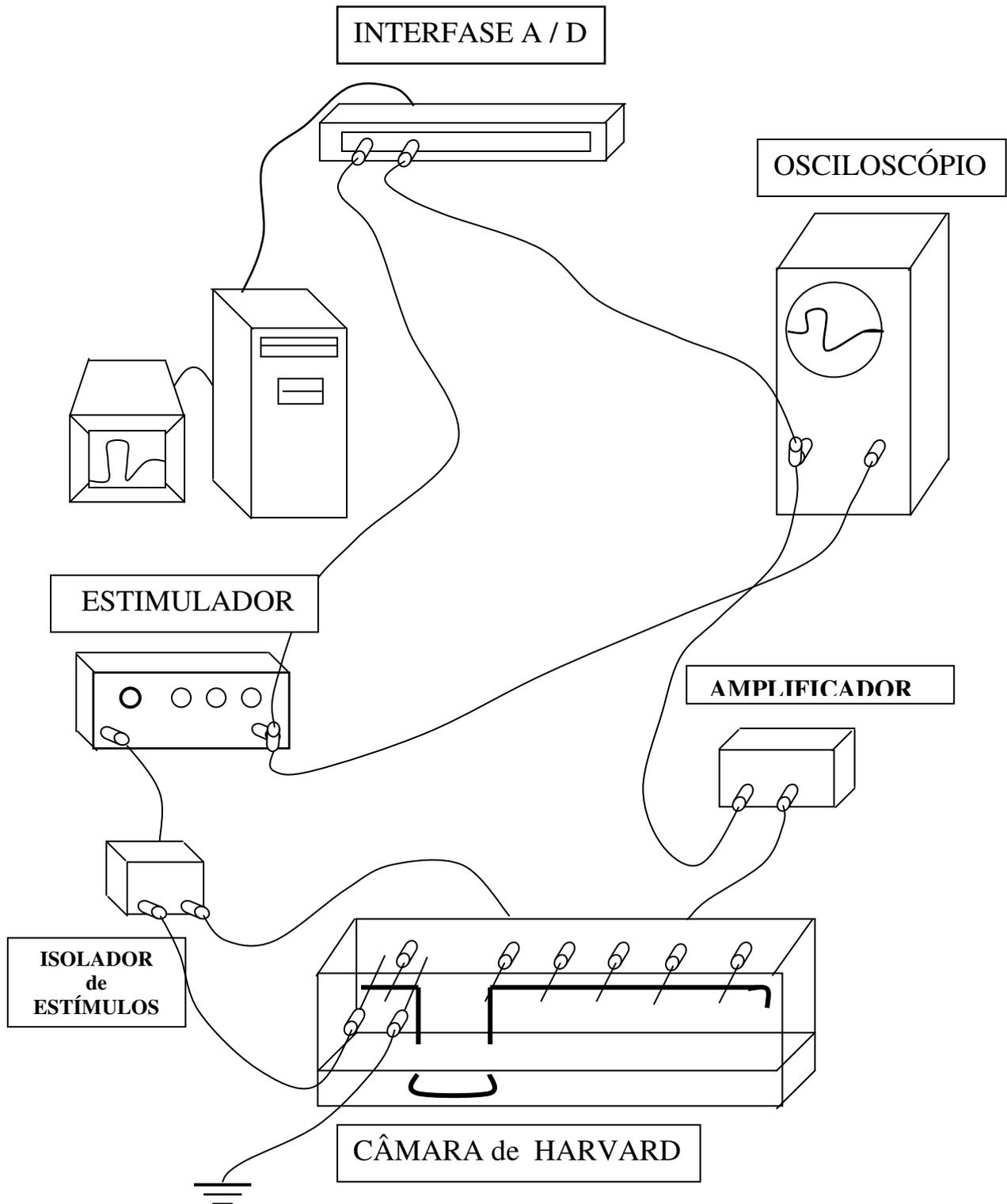


Figura 3 – Modelo esquemático do sistema utilizado no registro extracelular para medidas do potencial de ação extracelular.

Foram realizados dois tipos de experimentos controle. O primeiro experimento controle objetivou a verificação da longevidade da preparação após sua remoção por um período total de 8 horas. O nervo passou por um período de estabilização de 2 (duas) horas, uma vez que, experimentos piloto demonstraram que há um crescimento de amplitude pico-a-pico (APP) da preparação durante a primeira hora de estimulação. Seguindo-se, foram colhidos registros do potencial composto de ação a cada 15 (quinze) minutos, durante a primeira hora, e a cada 30 (trinta) minutos, da segunda hora em diante, até que se chegasse a um tempo mínimo de 6 (seis) horas.

Foram utilizadas as concentrações de 0,1; 0,2; 0,6; 1; 2 e 4 mM de metileugenol visando uma melhor caracterização do respectivo efeito sobre o nervo. Para cada concentração eleita foi realizado um número de experimentos (N) igual a 4 (quatro).

O efeito da substância sobre a condutibilidade nervosa foi avaliado através das mudanças observadas na amplitude pico-a-pico, na amplitude positiva dos componentes, na integral e na velocidade de condução do potencial de ação composto evocado. Os dados utilizados para observação de possíveis alterações nos parâmetros acima citados foram analisados pelo “software” *Clampfit*, da *Axon Instruments Inc., Foster City, CA, USA*.

A amplitude pico-a-pico (figura 4), foi estabelecida através da soma da maior amplitude positiva com o módulo da maior amplitude negativa atingidas no registro do potencial de ação composto. Esta é proporcional ao número de axônios que conduzem o impulso em uma dada velocidade (MEIRI *et al.*, 1985).

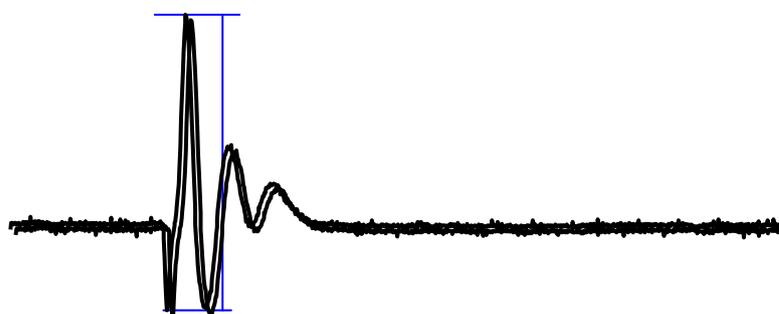


Figura 4 – Traçado ilustrativo do cálculo da amplitude pico-a-pico

A amplitude dos componentes (figura 5) foi estabelecida através da amplitude máxima positiva de cada um dos três componentes.

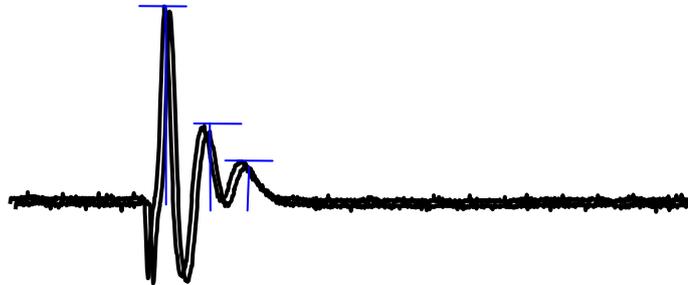


Figura 5 – Traçado ilustrativo da amplitude positiva dos componentes

Em relação ao cálculo da velocidade de condução nervosa do PAC (figura 6), utilizamos a proporção entre a distância percorrida pelo potencial de ação composto, desde o eletrodo de estimulação, que estiver mais próximo do ponto de imersão do nervo na solução, até o eletrodo de registro e o tempo decorrido até a finalização deste trajeto. Utilizamos o intervalo entre o ponto inicial do artefato de estímulo observado no gráfico de registro, assim como, o ponto onde a inflexão ascendente do gráfico de potencial de ação composto atinge o ponto máximo da APP para definição de tempo. Para análise da velocidade dos componentes utilizaremos a proporção entre a distância percorrida pelo PAC, como descrito anteriormente e o intervalo entre o ponto inicial do artefato de estímulo e o pico positivo de cada componente.

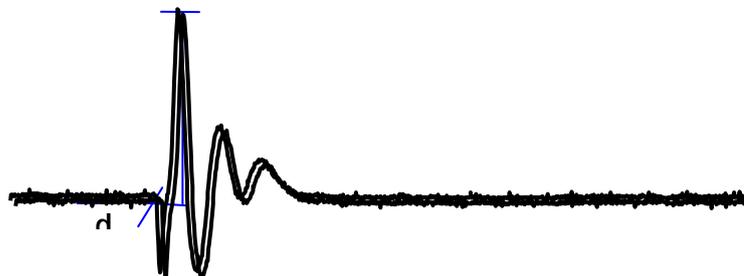


Figura 6 – Traçado Ilustrativo para o cálculo da Velocidade de Condução Nervosa

A integral, área abaixo da curva, foi analisada de todo o PAC e dos componentes separadamente (Figura 7), pelo “software” *Clampfit*, da *Axon Instruments Inc., Foster City, CA, USA*.



Figura 7 – Traçado representativo do cálculo da integral.

O efeito da substância sobre a excitabilidade nervosa foi através das mudanças verificadas na amplitude pico-a-pico e na velocidade de condução e integral do PAC evocado.

Durante a realização do protocolo experimental, foram também realizados experimentos controle com os seguintes objetivos: verificar a longevidade da preparação bem como sua estabilidade. Após a montagem da preparação, o nervo passou por um período de estabilização de no mínimo 2 (duas) horas, uma vez que, experimentos piloto demonstraram que há um crescimento da amplitude pico-a-pico durante a primeira hora de estimulação. Seguindo-se, foram colhidos registros do potencial de ação a cada 15 (quinze) minutos, durante a cada hora, até que chegasse a um tempo mínimo de 6 (seis) horas.

2.1 Análise dos dados

Os dados utilizados para observação de possíveis alterações na amplitude e na velocidade de condução do nervo foram analisados através dos software AxonScope, utilizado tanto para aquisição quanto para a analisar dados e Clampfit, ambos da “Axon Instruments”. A amplitude pico-a-pico foi estabelecida através da soma da maior amplitude positiva com o módulo da maior amplitude negativa atingida no registro do potencial de ação composto. Em relação ao cálculo da velocidade de condução nervosa, utilizou-se a proporção entre a distância percorrida pelo potencial de ação composto, desde o eletrodo de estimulação que

estiver mais próximo do ponto de imersão do nervo na solução até o eletrodo de registro e o tempo decorrido até a finalização deste trajeto.

2.2 Análise estatística

Os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média. Duas amostras foram comparadas através do teste t-Student, enquanto comparações múltiplas foram feitas com o teste paramétrico ANOVA, ou com teste de Bonferroni ANOVA (não paramétrico, no caso em que os dados não apresentem homocedasticidade, ou mesmo quando estes não apresentarem normalidade da distribuição). As médias foram consideradas diferindo significativamente entre si quando o valor de “p” para a ocorrência da hipótese nula em menor ou igual a 0,05.

3 RESULTADOS

Em Experimentos controle de nosso laboratório (laboratório de eletrofisiologia da UECE) já haviam sido documentado que o nervo ciático de rato, dentro de uma câmara hermeticamente fechada sob estimulação, mantinha estáveis seus valores de amplitude pico-a-pico e de velocidade de condução, por um período de 8 horas (CRUZ, 2000).

3.1 Efeito do ME sobre a amplitude pico-a-pico do potencial de ação composto em nervo ciático de rato

O ME apresentou efeito inibidor dose dependente sobre os parâmetros da amplitude pico-a-pico, como mostrado na (figura 8), que representa o traçado dos registros extracelulares. O efeito sobre o APP mostrou-se estatisticamente significativo em relação ao controle (resposta obtida após o período de estabilização), a partir da concentração de 0,6 mM ($p < 0,05$, ANOVA; Teste de Bonferroni). O efeito relativamente lento, no entanto pode está relacionado a uma ação indireta da droga devido ao tempo de passagem pelos envoltórios do nervo. Podendo esse também diminuir a taxa metabólica, perda de ATP e despolarização por inativação de canais de Na^+ . As concentrações de 0,1 mM e 0,3 mM não apresentaram efeito inibidor demonstrável sobre a APP, sendo os valores representativos das médias dos experimentos, não apresentarem diferença estatística em relação ao controle ($p = 0,975$, ANOVA).

A concentração de 1,0 mM apresentou início do efeito sobre a amplitude pico-a-pico nos primeiros 40 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significante com relação ao controle após 120 minutos, da aplicação do ME. ($p < 0,05$, ANOVA; Teste de Student-Newman-Keuls).

Os efeitos desenvolveram-se lentamente e ao final de 180 minutos de exposição do nervo as concentrações de 2,0 mM e 4,0 mM de ME, a APP foi reduzida significativamente. A concentração de 2,0 mM apresentou efeito inibidor nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significante com relação ao controle após 30 minutos, da aplicação do ME. ($p < 0,05$,

ANOVA; Método Duncan's). A APP foi reduzida ($6,59 \pm 1,92\%$ (N=5)), do valor do controle ($8,6 \pm 1,3$ mV (N=5)). Na concentração de 4,0 mM foi percebido efeito inibidor nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significativo com relação ao controle após 30 minutos, da aplicação do ME. ($p < 0,05$, ANOVA; Método Student-Newman-Keuls). A APP foi reduzida ($2,8 \pm 1,88\%$ (N=3)), do valor do controle ($6,2 \pm 1,3$ mV (N=3)). (Figura 8, Tabela 3).

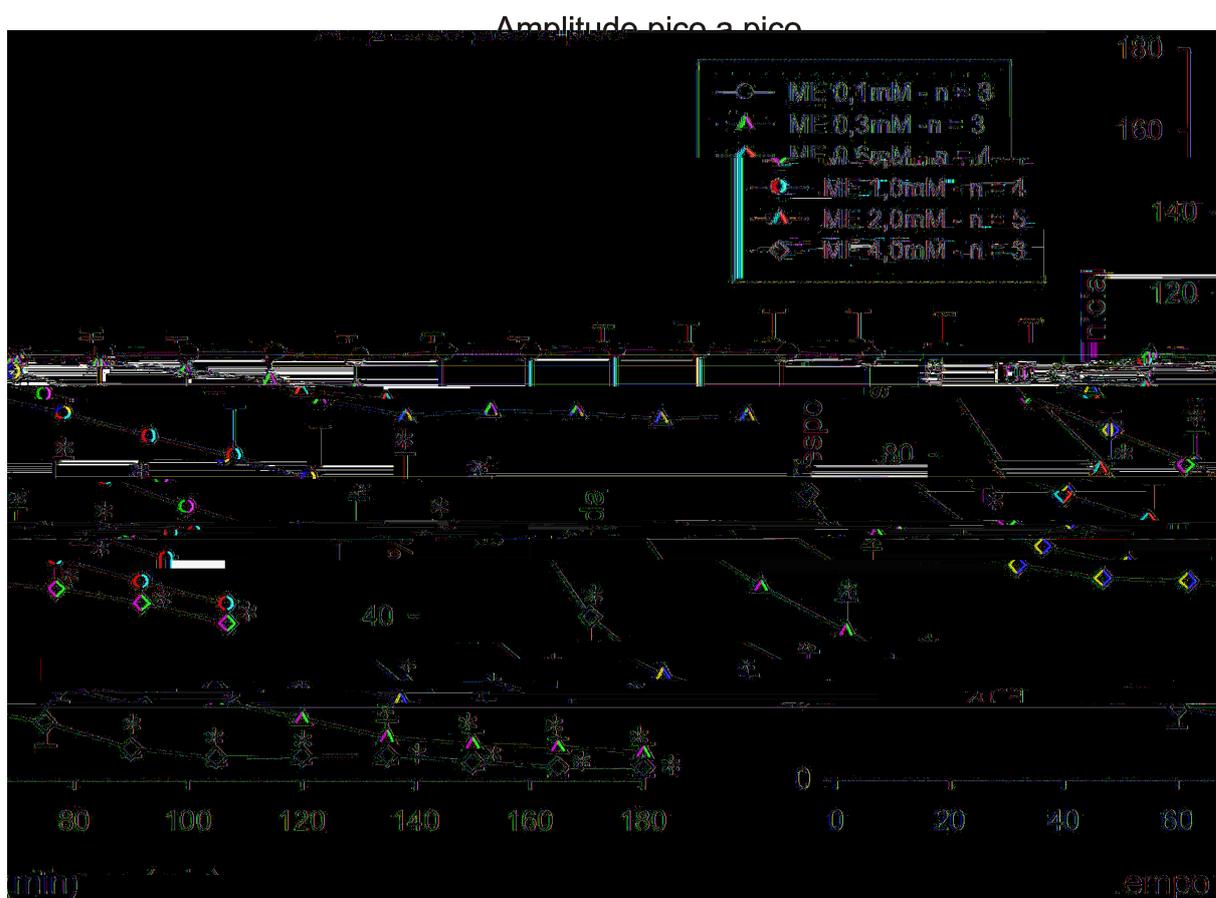


Figura 8 – Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a amplitude pico-a-pico.

A resposta está apresentada como média \pm erro padrão da média, expressa em percentual em relação ao controle (resposta no fim do período de estabilização) durante 180 minutos da ação da substância nas concentrações de 0,1; 0,3; 0,6; 1; 2 e 4 mM. O símbolo (*) indica em que instantes as curvas das concentrações de 0,6; 1, 2 e 4 mM diferem significativamente das respostas percentuais do controle.

TABELA 3 – Amplitude pico-a-pico do PAC em nervo ciático de rato no controle e durante a exposição ao metileugenol.

Os valores estão expressos em % do controle (amplitude ao fim do período de estabilização da preparação) como média \pm erro padrão da média.

Conc	Controle (mV)	T=15 min (mV)	T = 30 min (mV)	T = 60 min (mV)	T = 120 min (mV)	T = 180 min (mV)
*EST	100,0 \pm 0,0	102,2 \pm 0,1	102,9 \pm 1,1	104,9 \pm 4,2	105,4 \pm 7,0	103,7 \pm 9,2
0,1 mM	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)
EST	100,0 \pm 0,0	104,6 \pm 4,2	103,7 \pm 2,6	100,6 \pm 6,3	89,5 \pm 15,8	89,7 \pm 15,6
0,3 mM	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)
EST	100,0 \pm 0,0	94,8 \pm 2,1	86,1 \pm 4,7	70,2 \pm 9,1	49,5 \pm 10,3	38,6 \pm 5,4
0,6 mM	(N=4)	(N=4)	(N=4)	(N=4)	(N=4)	(N=4)
EST	100,0 \pm 0,0	103,4 \pm 6,9	100,4 \pm 8,2	90,3 \pm 10,3	67,2 \pm 13,1	43,2 \pm 15,3
1 mM	(N=4)	(N=4)	(N=4)	(N=4)	(N=4)	(N=4)
EST	100,0 \pm 0,0	96,4 \pm 12,3	76,6 \pm 11,4	47,4 \pm 9,4	14,9 \pm 4,9	6,6 \pm 1,9
2 mM	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)
EST	100,0 \pm 0,0	70,2 \pm 6,6	40,1 \pm 6,1	17,6 \pm 4,9	5,7 \pm 1,8	2,8 \pm 1,8
4mM	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)

*EST=estabilização.

3.2 Efeito do ME sobre velocidade de condução nervosa do primeiro componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato

O metileugenol apresentou efeito inibitório dose dependente sobre a velocidade de condução nervosa do primeiro componente positivo do PAC, sendo estatisticamente significante em relação ao controle (resposta ao fim da estabilização) a partir da concentração de 0,6 mM ($p < 0,05$; ANOVA). Para as concentrações de 0,1 e 0,3 mM nenhum efeito foi demonstrado, pois os valores representativos das médias dos experimentos não apresentaram diferença estatística significativa em relação ao controle ($p < 0,05$; ANOVA).

A concentração de 0,6 mM apresentou início do efeito sobre a velocidade de condução nervosa nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significante com relação ao controle após 30 minutos, da aplicação do ME ($p < 0,05$, ANOVA; Método Student-Newman-Keuls).

A concentração de 1,0 mM apresentou início do efeito sobre a velocidade de condução nervosa nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito

só se mostrou estatisticamente significativa com relação ao controle após 60 minutos, da aplicação do ME ($p < 0,05$; ANOVA; Teste Bonferroni).

Os efeitos desenvolveram-se lentamente e ao final de 180 minutos de exposição do nervo as concentrações de 2,0 mM e 4,0 mM de ME, a velocidade de condução nervosa foi reduzida significativamente. A concentração de 2,0 mM apresentou efeito inibidor nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significativo com relação ao controle após 90 minutos, da aplicação do ME ($p < 0,05$, ANOVA; Método Dunn's). A velocidade de condução nervosa foi reduzida ($9,5 \pm 9,5\%$ (N=6)) do valor do controle ($26,2 \pm 2,1$ mV (N=6)). Na concentração de 4,0 mM foi percebido efeito inibidor nos primeiros 15 minutos da administração da droga, significativo com relação ao controle, da aplicação do ME ($p < 0,05$, ANOVA; Método Dunn's), sendo que na concentração de 4,0 mM não houve resolução para a medida da velocidade de condução nervosa a partir dos 120 minutos. A Velocidade de condução nervosa foi reduzida do valor do controle ($21,7 \pm 0,89$ mV (N=3)), (Figura 9, Tabela 4).

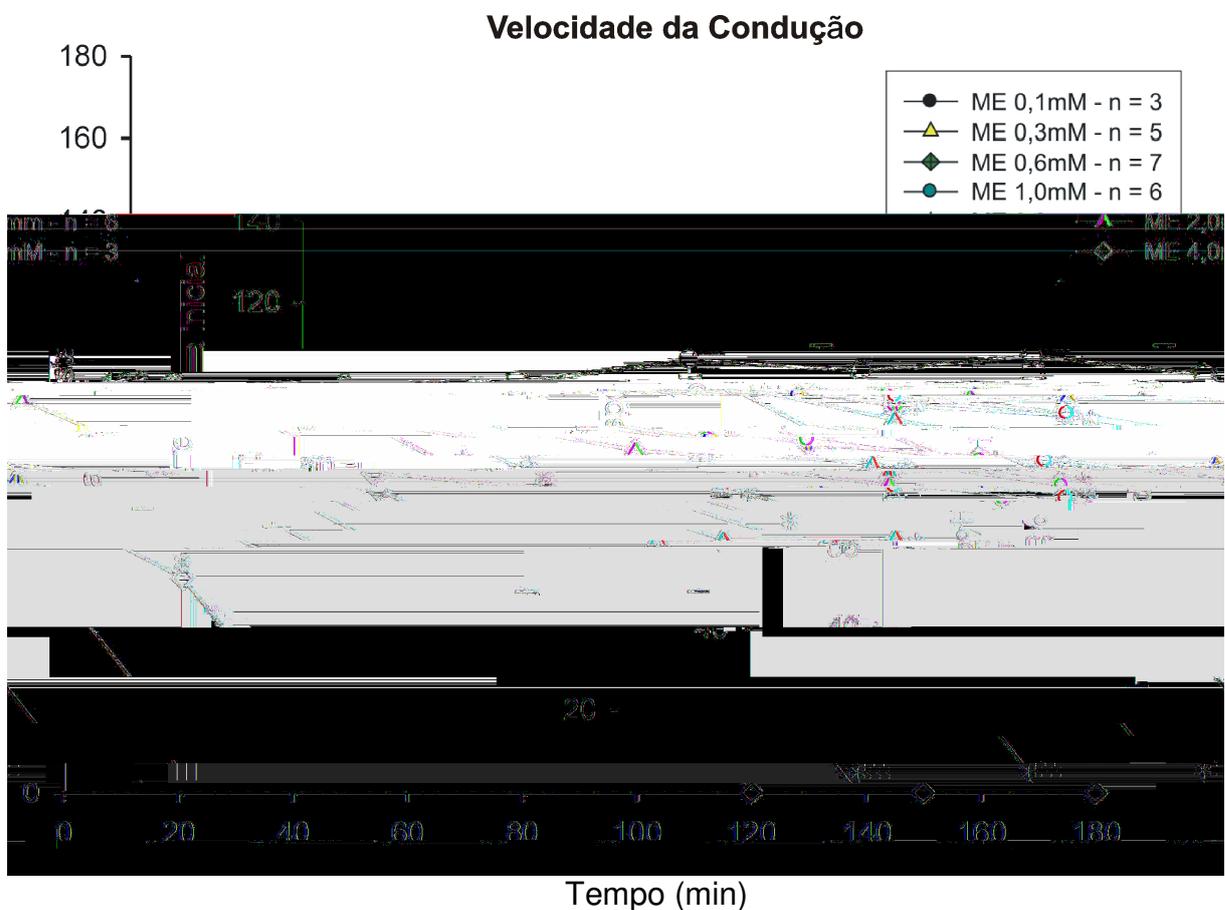


Figura 9 – Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a velocidade de condução nervosa da amplitude positiva do primeiro componente positiva.

A resposta está apresentada como média \pm erro padrão da média, expressa em percentual em relação ao controle (resposta no fim do período de estabilização) durante 180 minutos da ação da substância nas concentrações de 0,1; 0,3; 0,6; 1; 2 e 4 mM. O símbolo (*) indica em que instantes as curvas das concentrações de 0,6; 1, 2 e 4 mM diferem significativamente das respostas percentuais do controle.

TABELA 4 – Velocidade de Condução nervosa do primeiro componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato, no controle e durante a exposição ao metileugenol.

Conc	Controle (mV)	T=30 min (mV)	T = 60 min (mV)	T = 120 min (mV)	T = 150 min	T = 180 min
*EST 0,1mM	100,0 \pm 0,0 (N=3)	99,3 \pm 0,4 (N=3)	100,3 \pm 0,5 (N=3)	103,3 \pm 0,2 (N=3)	106,8 \pm 2,5 (N=3)	102,3 \pm 1,2 (N=3)
EST 0,3mM	100,0 \pm 0,0 (N=5)	95,1 \pm 2,1 (N=5)	96,7 \pm 5,6 (N=5)	78,3 \pm 20,4 (N=5)	80,2 \pm 20,8 (N=5)	76,6 \pm 19,9 (N=5)
EST 0,6mM	100,0 \pm 0,0 (N=7)	94,7 \pm 1,7 (N=7)	92,3 \pm 2,5 (N=7)	81,9 \pm 4,7 (N=7)	75,9 \pm 4,2 (N=7)	72,7 \pm 6,3 (N=7)
EST 1,0mM	100,0 \pm 0,0 (N=6)	97,1 \pm 0,7 (N=6)	92,7 \pm 1,4 (N=6)	81,1 \pm 1,9 (N=6)	75,1 \pm 2,5 (N=6)	72,0 \pm 3,0 (N=6)
EST 2,0mM	100,0 \pm 0,0 (N=6)	91,3 \pm 2,4 (N=6)	83,7 \pm 2,3 (N=6)	75,2 \pm 2,9 (N=6)	61,9 \pm 12,8 (N=6)	62,3 \pm 13,0 (N=6)
EST 4,0mM	100,0 \pm 5,8 (N=3)	78,2 \pm 8,8 (N=3)	74,3 \pm 9,1 (N=3)	0,0 (N=3)	0,0 (N=3)	0,0 (N=3)

*EST=Estabilização

3.3 Efeito do ME sobre velocidade de condução nervosa do segundo componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato

O metileugenol apresentou efeito inibitório dose dependente sobre a velocidade de condução nervosa do segundo componente positivo do PAC, sendo estatisticamente significante em relação ao controle (resposta ao fim da estabilização) a partir da concentração da concentração de 0,6 mM ($p < 0,05$; ANOVA). Para as concentrações de 0,1 e 0,3 mM nenhum efeito foi demonstrado, pois os valores representativos das médias dos experimentos não apresentaram diferença estatística significativa em relação ao controle ($p < 0,05$; ANOVA).

A concentração de 0,6 mM apresentou início do efeito sobre velocidade de condução nervosa nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significante com relação ao controle após 30 minutos, da aplicação do ME ($p < 0,05$, ANOVA; Teste de *Student-Newman-Keuls*).

A concentração de 1,0 mM apresentou início do efeito sobre a velocidade de condução nervosa nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significativo com relação ao controle após 30 minutos, da aplicação do ME. ($p < 0,05$; ANOVA; Teste Bonferroni).

Os efeitos desenvolveram-se lentamente e ao final de 180 minutos de exposição do nervo as concentrações de 2,0 mM e 4,0 mM de ME, a velocidade de condução nervosa foi reduzida significativamente. A concentração de 2,0 mM apresentou efeito inibidor nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significativo com relação ao controle após 90 minutos, da aplicação do ME. ($p < 0,05$, ANOVA; Método Dunn's). A velocidade de condução nervosa foi reduzida ($62,2 \pm 31,8\%$) do valor do controle ($64,4 \pm 1,88$ mV (N=6)). Na concentração de 4,0 mM foi percebido efeito inibidor nos primeiros 15 minutos da administração da droga, significativo com relação ao controle, da aplicação do ME ($p < 0,05$, ANOVA; Método Dunn's), sendo que na concentração de 4,0 mM não houve resolução para a medida da velocidade de condução a partir dos 120 minutos. A Velocidade de condução nervosa foi reduzida do valor do controle ($56,8 \pm 2,06$ mV (N=3)), (Figura 10, Tabela 5).

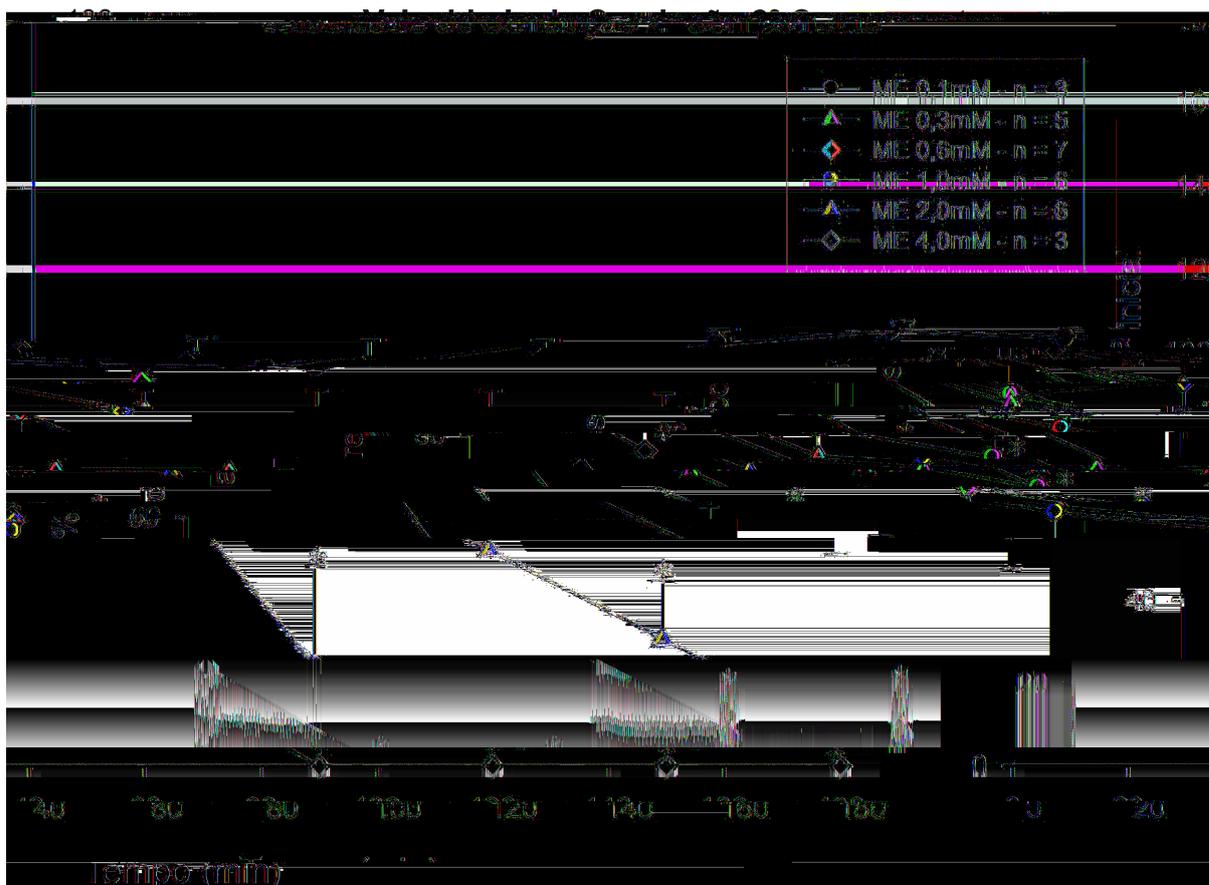


Figura 10 – Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a velocidade de condução nervosa da amplitude positiva do segundo componente positiva.

A resposta está apresentada como média \pm erro padrão da média, expressa em percentual em relação ao controle (resposta no fim do período de estabilização) durante 180 minutos da ação da substância nas concentrações de 0,1; 0,3; 0,6; 1; 2 e 4 mM. O símbolo (*) indica em que instantes as curvas das concentrações de 0,6; 1, 2 e 4 mM diferem significativamente das respostas percentuais do controle.

TABELA 5 – Velocidade de Condução nervosa do segundo componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato, no controle e durante a exposição ao metileugenol.

Conc	Controle (mV)	T=30 min (mV)	T = 60 min (mV)	T = 120 min (mV)	T = 150 min (mV)	T = 180 min (mV)
*EST 0,1mM	100,0 ± 0,0 (N=3)	98,5 ± 4,8 (N=3)	96,8 ± 5,8 (N=3)	101,8 ± 3,6 (N=3)	105,3 ± 1,9 (N=3)	103,6 ± 0,2 (N=3)
EST 0,3mM	100,0 ± 3,1e (N=5)	91,5 ± 5,3 (N=5)	74,7 ± 19,1 (N=5)	72,0 ± 18,7 (N=5)	71,7 ± 18,7 (N=5)	71,3 ± 18,6 (N=5)
EST 0,6mM	100,0 ± 2,1e (N=7)	89,5 ± 3,8 (N=7)	92,9 ± 8,2 (N=7)	67,3 ± 11,9 (N=7)	62,7 ± 11,5 (N=7)	59,0 ± 11,4 (N=7)
EST 1,0mM	100,0 ± 2,5e (N=6)	89,7 ± 1,5 (N=6)	81,6 ± 1,4 (N=6)	67,3 ± 1,5 (N=6)	61,4 ± 1,2 (N=6)	56,9 ± 1,8 (N=6)
EST 2,0mM	100,0 ± 0,0 (N=6)	87,6 ± 0,8 (N=6)	71,3 ± 2,8 (N=6)	30,7 ± 13,7 (N=6)	9,3 ± 9,3 (N=6)	9,6 ± 9,3 (N=6)
EST 4,0mM	100,0 ± 0,0 (N=3)	75,9 ± 10,5 (N=3)	24,1 ± 24,1 (N=3)	0,0 (N=3)	0,0 (N=3)	0,0 (N=3)

*EST=estabilização.

3.4 Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a medida da integral ou da área sob o gráfico do potencial de ação composto

Medida da integral ou da área sob o gráfico foi realizado com a concentração de 0,6mM, pois nesta concentração encontramos uma resposta que apresentou um efeito depressor na excitabilidade nervosa uma resposta de 50% da resposta total. A administração da droga no período após a estabilização apresentou redução da área, representando assim os axônios que não foram bloqueados ou que ainda persistem conduzindo o potencial. A análise da integral é um parâmetro que pode ser utilizado para as concentrações que apresentem efeito máximo sobre os parâmetros do PAC o efeito sobre a integral também sejam mais pronunciados.

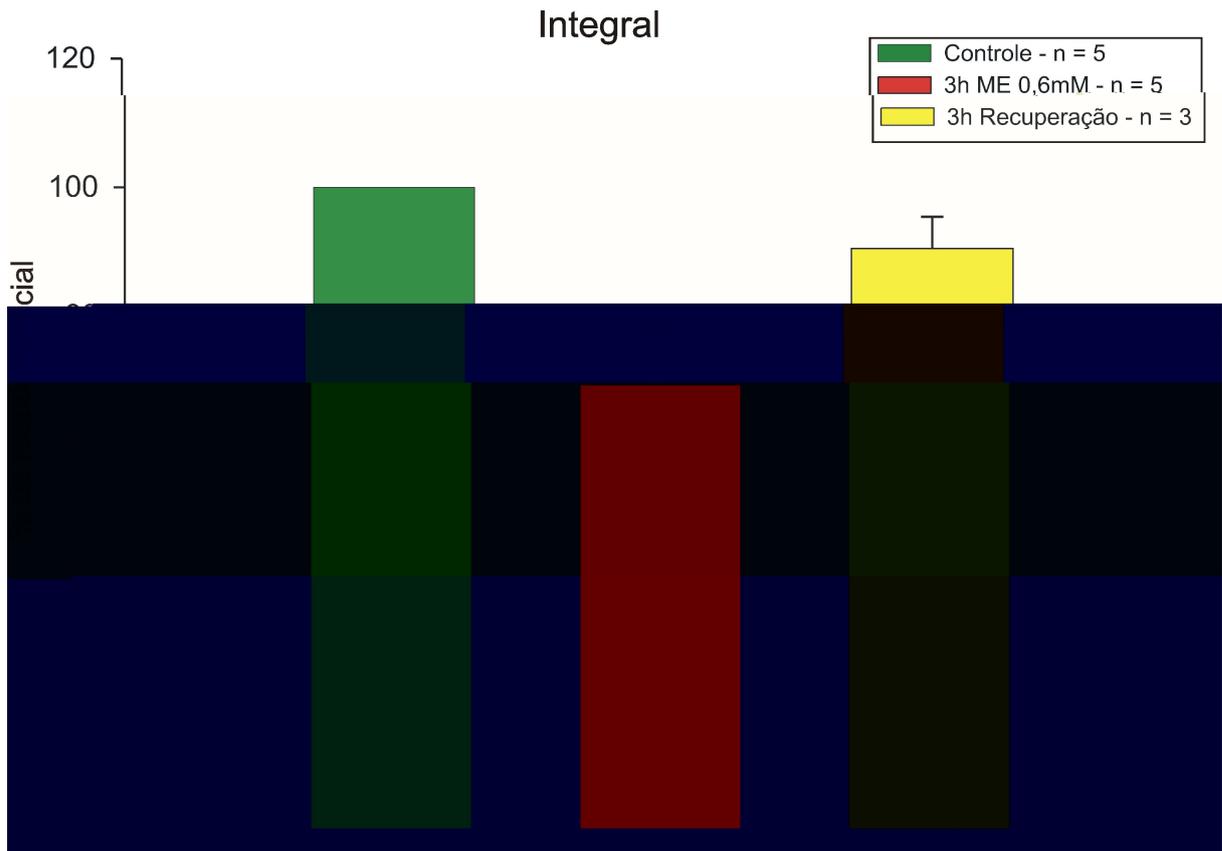


Figura 11 – Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a medida da integral ou da área sob o gráfico do potencial de ação composto.

A resposta está apresentada como média \pm erro padrão da média, expressa em percentual em relação ao controle (resposta no fim do período de estabilização) durante 180 minutos da ação da substância na concentração de 0,6 mM. O símbolo (*) indica em que instantes as diferenças significativas das respostas percentuais do controle.

3.5 Efeito do ME sobre a amplitude positiva do primeiro componente do potencial de ação composto em nervo ciático de rato

O ME apresentou efeito inibidor dose dependente sobre os parâmetros da amplitude dos componentes, como mostrado na (figura 12, tabela 7), que representa o traçado dos registros extracelulares. O efeito sobre a amplitude positiva do primeiro componente mostrou-se estatisticamente significativo em relação ao controle (resposta obtida após o período de estabilização), a partir da concentração de 0,6 mM ($p < 0,05$, ANOVA; Método Fisher LSD). As concentrações de 0,1mM e 0,3mM não apresentaram efeito inibidor demonstrável sobre a

amplitude positiva do primeiro componente, sendo os valores representativos das médias dos experimentos não apresentarem diferença estatística em relação ao controle ($p = 0,975$, ANOVA).

A concentração de 1,0 mM apresentou início do efeito sobre a amplitude pico-a-pico nos primeiros 40 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito só se mostrou estatisticamente significativo com relação ao controle após 120 minutos, da aplicação do ME. ($p < 0,05$, ANOVA; Teste de Student-Newman-Keuls).

Os efeitos desenvolveram-se lentamente e ao final de 180 minutos de exposição do nervo as concentrações de 2,0 mM e 4,0 mM de ME, a amplitude positiva do primeiro componente foi reduzida significativamente. A concentração de 2,0 mM apresentou efeito inibidor estatisticamente significativo nos primeiros 15 minutos da administração da droga, com relação ao controle da aplicação do ME. ($p < 0,05$, ANOVA; Método Duncan's). A Amplitude positiva do primeiro componente do foi reduzida $3,16 \pm 0,59\%$ ($N=5$), do valor do controle ($30,5 \pm 9,8$ mV ($N=5$)). Na concentração de 4,0 mM foi percebido efeito inibidor nos primeiros 15 minutos da administração da droga, entretanto, este efeito se mostrou estatisticamente significativo com relação aos 15 minutos, da aplicação do ME. ($p < 0,05$, ANOVA; Método Student-Newman-Keuls). A amplitude positiva do primeiro componente foi reduzida $25,3 \pm 8,83\%$, do valor do controle ($1,9 \pm 0,59$ mV ($N=3$)). (Figura 12, Tabela 7).

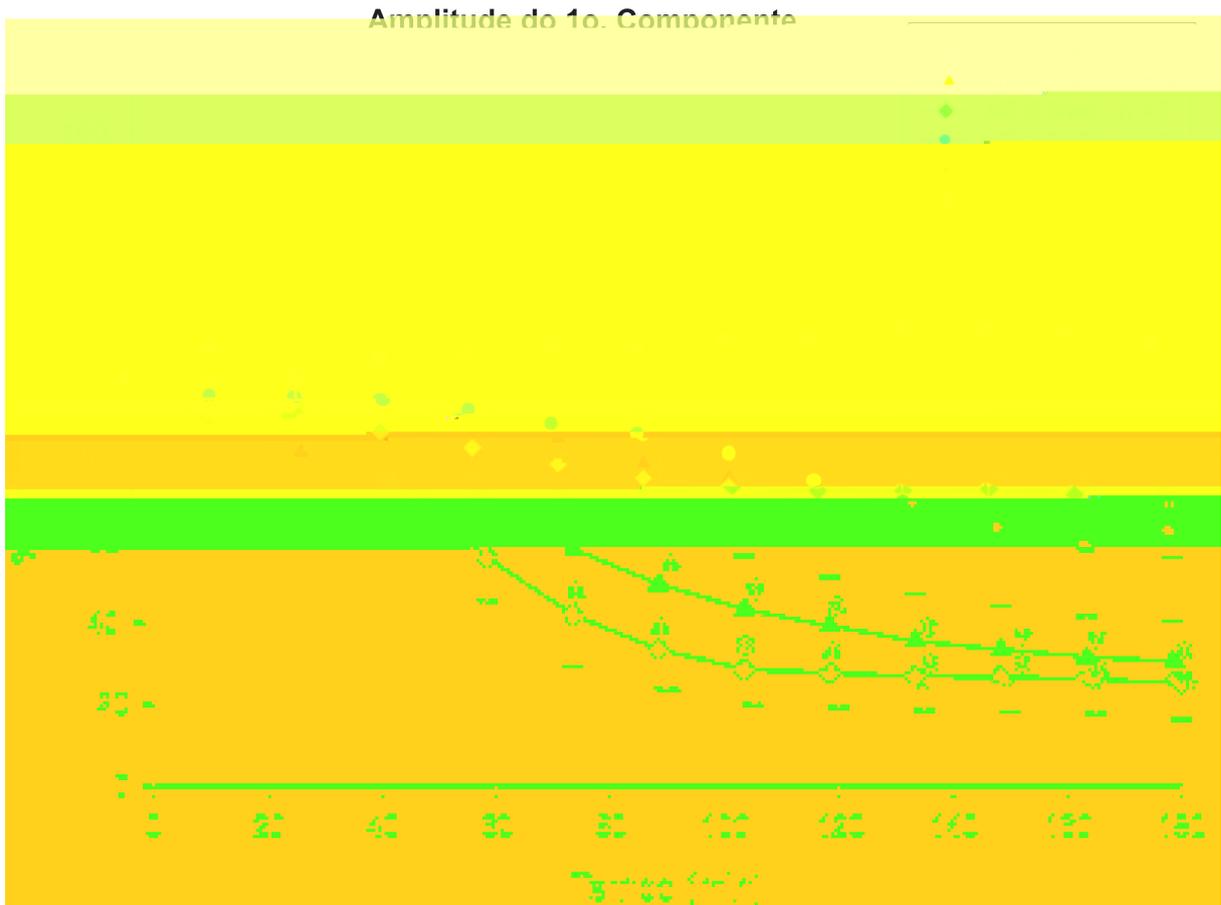


Figura 12 – Curso temporal do efeito do metileugenol (ME) sobre a amplitude positiva do primeiro componente.

A resposta está apresentada como média \pm erro padrão da média, expressa em percentual em relação ao controle (resposta no fim do período de estabilização) durante 180 minutos da ação da substância nas concentrações de 0,1; 0,3; 0,6; 1; 2 e 4mM. O símbolo (*) indica em que instantes as curvas das concentrações de 0,6; 1, 2 e 4 mM diferem significativamente das respostas percentuais do controle.

TABELA 6 – Amplitude da amplitude positiva do primeiro componente do PAC em nervo ciático de rato no controle e durante a exposição ao metileugenol.

Os valores estão expressos em % do controle (amplitude ao fim do período de estabilização da preparação) como média \pm erro padrão da média.

Conc	Controle (mV)	T=15 min (mV)	T = 30 min (mV)	T = 60 min (mV)	T = 120 min (mV)	T = 180 min (mV)
*EST	100,0 \pm 5,8e	98,6 \pm 2,2	101,5 \pm 3,8	106,1 \pm 7,8	109,7 \pm 14,0	108,6 \pm 14,8
0,1mM	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)
EST	100,0 \pm 0,0	105,6 \pm 9,3	101,5 \pm 7,5	89,8 \pm 9,0	68,0 \pm 21,9	65,5 \pm 22,9
0,3mM	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)
EST	100,0 \pm 2,1e	95,4 \pm 3,8	90,9 \pm 4,7	83,1 \pm 7,0	72,4 \pm 12,9	69,0 \pm 12,6
0,6mM	(N=7)	(N=7)	(N=7)	(N=7)	(N=7)	(N=7)
EST	100,0 \pm 0,0	95,8 \pm 4,1	95,5 \pm 5,0	92,3 \pm 8,6	74,8 \pm 11,0	62,5 \pm 13,7
1mM	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)
EST	100,0 \pm 0,0	89,6 \pm 5,6	82,1 \pm 7,7	65,8 \pm 10,5	34,5 \pm 11,7	30,5 \pm 9,8
2mM	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)	(N=5)
EST	100,0 \pm 0,0	107,5 \pm 7,2	100,1 \pm 5,3	56,0 \pm 10,3	27,7 \pm 8,6	25,3 \pm 8,8
4mM	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)	(N=3)

*EST=estabilização.

4 DISCUSSÃO

A descoberta do presente estudo foi o bloqueio da excitabilidade nervosa pelo metileugenol que é um dos análogos do eugenol que podemos encontrar como constituintes de diversas plantas do Nordeste do Brasil, tais como: *Myristica fragans* (SELL & CARLINI, 1976), *Cróton nepetifolius* (CRAVEIRO *et al.*, 1981) dentre outros. Esse efeito depressor foi demonstrado através da análise de dados experimentais que quantificaram vários parâmetros relacionados ao potencial de ação composto em nervos periféricos, tais como amplitude pico-a-pico, velocidade de condução nervosa do primeiro e segundo componente, amplitude do primeiro componente e integral. Esse comportamento é semelhante aos descritos na literatura como sendo dependente de uso apresentado por drogas anestésicos locais (BUTTERWORTH, 1990).

Estudos anteriores realizados com óleos essenciais de plantas aromáticas têm mostrado que estes apresentam uma série de propriedades farmacológicas importantes sobre os diversos tecidos estudados. Leal-Cardoso e Fonteles (1999) relataram em seus estudos de revisão uma série de efeitos farmacológicos promovidos pelos óleos essenciais de diversas plantas, citando ainda seus principais constituintes e efeitos.

O efeito das concentrações mais baixas de ME (0,1 e 0,3 mM) sobre a redução da amplitude pico-a-pico não se apresentou significativa e permaneceu praticamente estável durante o curso temporal de observação. As demais doses nas concentrações de 0,6; 1, 2 e 4 mM apresentaram o efeito de redução da amplitude pico-a-pico, cujo início tornou-se perceptível a partir de 15 minutos de observação experimental acentuando-se após 30 minutos e 60 minutos de exposição do nervo a droga. Para as concentrações de 2 e 4 mM respectivamente a resposta na redução da amplitude pico-a-pico e velocidade de condução foram mais acentuadas.

A concentração de 2 mM promoveu um efeito inibitório na amplitude pico-a-pico sendo estatisticamente significativo com relação ao controle após 30 minutos, da aplicação do ME. A amplitude pico-a-pico na concentração de 4 mM apresentou redução estatisticamente

significativo em relação ao controle a partir de 30 minutos sendo que a partir de 120 minutos não houve resolução para a medida da amplitude pico-a-pico.

Ocorreu efeito inibitório total da amplitude quando foi usado a concentração de 4 mM. O que se observa aqui, é a possibilidade de um bloqueio bifásico para a concentração de 4 mM, que ocorre em dois estágios: um primeiro, rápido onde o ME estaria agindo com maior especificidade e estabelecimento de efeito máximo dependente da concentração, sugerindo assim a participação de canais iônicos e outro de atividade lenta, cujo o mecanismo possivelmente seja inespecífico. Para o componente lento do curso temporal, sugere-se que ele atue por perturbação termodinâmica na membrana citoplasmática ou talvez por perturbação da bioquímica do meio intracelular (KREYDIYYEH *et al.*, 2000).

Uma outra forma de atuação do efeito do óleo seria na bioquímica do meio intracelular que é válida, pois sabe-se, que o eugenol, constituinte de óleos essenciais extraídos de muitas plantas, e substância da qual o metileugenol pode ser considerado um derivado, a partir de certas concentrações e de um certo tempo de latência, bloqueia a síntese intracelular em algumas células excitáveis (KREYDIYYEH *et al.*, 2000).

Estudos preliminares demonstraram que o OECN apresentava efeito inibitório sobre a atividade elétrica do nervo ciático de rato, bloqueando o seu potencial de ação composto (ROCHA *et al.*, 1998). Os resultados obtidos por Rocha *et al.* (1998) foram realizados utilizando-se as concentrações de 100, 300 e 400 µg/mL, porém limitando-se a um período de exposição do nervo à droga de 60 minutos. O presente trabalho confirma os dados anteriores e apresenta novos dados que incluem a inibição da atividade de fibras sensoriais que têm várias funções no sistema nervoso e os dados concernentes à excitabilidade neuronal. O presente trabalho também estuda os efeitos do metileugenol em nervo para elucidar a participação desse constituinte nos efeitos do OECN. O ME tem atividade antibactericida (FRANCHOMME e PÉNOËL, 1995), em mamíferos e, além disto, foi visto que causava hipotermia e induzia efeitos miorelaxante, antiespasmódico, anticonvulsivante e anestésico (SELL e CARLINI, 1976; DALLMEIER e CARLINI, 1981; SOUZA *et al.*, 1990; MAGALHÃES *et al.*, 1998; LIMA *et al.*, 2000; SAYYAH *et al.*, 2002).

A demonstração do bloqueio da excitabilidade nervosa do OECN e pelo metileugenol é de grande relevância tanto do ponto de vista científico quanto do ponto de

vista terapêutico, pois além de serem muito utilizados na medicina popular, são bastante empregados na indústria, na confecção de produtos terapêuticos (CRAVEIRO *et al.*, 1981).

Comportamento semelhante ocorreu com a inibição da velocidade de condução nervosa do potencial de ação composto. Para as menores concentrações 0,1 e 0,3 mM de ME, praticamente nenhum efeito foi observado. A concentração de 0,6 mM apresentou efeito estatisticamente significativo com relação ao controle após 30 minutos, da aplicação do ME. A concentração de 4 mM apresentou efeito pronunciado sendo a partir de 15 minutos da administração e foi estatisticamente significativo com relação ao controle e a partir dos 120 minutos não havendo resolução para a medida da velocidade de condução nervosa.

No presente estudo foi observado que o efeito do ME sobre a amplitude pico-a-pico e velocidade de condução nervosa, são variáveis relacionadas, mas independentes. A amplitude pico-a-pico primeiramente está ligada ao número de axônios conduzindo potenciais de ação em um determinado instante sendo este uma sincronização dos potenciais de ação. A velocidade de condução nervosa para um axônio, é representada pelo modelo da Teoria do cabo de Lord Kelvin. No axônio, a velocidade de condução depende em uma larga escala de suas propriedades passivas, enquanto a amplitude pico-a-pico depende dos parâmetros da população axonal de nervos.

Demonstrou-se também que, o ME na concentração de 4 mM deprime, de maneira proporcionalmente similar, os parâmetros relacionados aos componentes α , β e (1° , 2°) do PAC.

Um dos possíveis mecanismos que acreditamos possam estar envolvidos se deva a sua alta solubilidade em lipídios, os óleos essenciais e seus constituintes, que podem interagir com a bicamada lipídica da membrana plasmática. Esta alta solubilidade age inibindo influxo de cálcio ou bloqueando a permeabilidade ao sódio, e então bloqueando a neurotransmissão (VAN DEN BROUKE; LEMLI, 1980).

A redução pronunciada da amplitude pico-a-pico pode envolver alterações de condutância através de canais iônicos, é possível sugerir a possibilidade de participação de canais iônicos de Na^+ nesse efeito. A literatura tem mostrado que em fibras mielinizadas, há uma grande densidade de canais de Na^+ nos nodos de Ranvier. Em contrapartida, o acesso

seria mais difícil dada a localização destes nas regiões paranodais encobertos por mielina (HILLE, 2001).

A relevância dos estudos da atividade farmacológica do metileugenol é também ampliada pela similaridade de sua molécula com outras estruturas importantes. O metileugenol pode ser considerado um análogo do eugenol. Este tem sido largamente utilizado, via síntese química, como modelo inicial para a pesquisa e descoberta de novas drogas (DALLMEIER; CARLINI, 1981; ANSHER, *et al.*, 1986; STOOF, *et al.*, 1999; HUANG, *et al.*, 1999; LIN, *et al.*, 1999) e tem comprovado efeito bloqueador sobre o PAC (CRUZ, 2000), sobre correntes de K^+ (MAGYAR *et al.*, 2002) e sobre o pico da corrente de Ca^{++} tipo-L, em cardiomiócitos ventriculares de cães e humanos (MAGYAR *et al.*, 2004).

Como, de um modo geral, os óleos essenciais têm composição de elevada complexidade e os seus constituintes apresentam íntima relação estrutural entre si e entre alguns anestésicos locais, é possível relevar a hipótese de que os efeitos anestésico local e antinociceptivo desses óleos e constituintes possam ser mediados via bloqueio de canais de Na^+ voltagem-dependente (HAESELER *et al.*, 2002).

Os efeitos no PAC de outros análogos do estragol, como terpineol, safrol, 1,8 cineol e timol, também foram investigados (VIANA-CARDOSO, 2005, BRODIN e ROED, 1984; CRUZ, 2000; MOREIRA, *et al.*, 2001; MATOS, 2004; BEZERRA DE MENEZES, 2004, ACCIOLY, 2005). Todos esses agentes bloquearam o PAC do nervo ciático com potências ainda maiores do que estas aqui demonstrando claramente uma relação entre estrutura e atividade farmacológica.

Os compostos eugenol, terpineol, anetol, timol, estragol, 1,8 cineol têm estruturas moleculares semelhantes e suas concentrações efetivas foram igualmente semelhantes. Isso sugere que essas substâncias e outras presentes nos óleos essenciais atuem através de mecanismos de ação similares (CRUZ, 2000; PIRES, 2002; BEZERRA DE MENEZES, 2004; VIANA-CARDOSO, 2005; ACCIOLY, 2005).

O ME bloqueou a amplitude pico-a-pico e a velocidade de condução do PAC, além da integral na concentração de 0,6 mM, apresentando uma atividade semelhante as

drogas anestésicas locais, já que este reduziu o número de axônios que conduzem o impulso em uma dada velocidade, ao bloquear a amplitude do potencial e reduziu o número de fibras condutoras do impulso, ao reduzir a área do PAC.

A velocidade de condução pode ser diminuída por redução da corrente de Na^+ e redução da corrente de circuito local, levando a uma menor excitação das regiões adjacentes, sugerimos, portanto, que este deve ser o mecanismo pelo qual o metileugenol alterou a velocidade de condução do PAC. Outro parâmetro responsável pela diminuição da velocidade se deve ao aumento da capacitância da membrana por unidade de área, sendo este um mecanismo pouco provável para o ME.

Outra hipótese por nós levantada para estudos posteriores se deve ao comportamento das correntes de Na^+ onde se verifica o bloqueio do PAC pelo ME provavelmente bloqueando canais para Na^+ presentes no axônio, que possuem cerca de 15.000 a 20.000 canais por nodo de Ranvier. O estudo foi realizado em correntes macroscópicas de Na^+ em neurossomas do gânglio da raiz dorsal, que apresenta densidade de canais menor que nos nodos de Ranvier (CAFFREY *et al.*, 1992). O ME em concentrações milimolares bloqueou tais correntes, não sendo especificado neste estudo que tipo de alterações o ME promoveu na cinética dos canais para Na^+ .

Foi demonstrado no presente trabalho que o ME, nas concentrações milimolares, possui atividade sobre o nervo, apresentando um efeito depressor na excitabilidade, essa inibição foi de maneira similar para os dois componentes (α e β) do PAC. Esse achado é relevante por se só devido à importância do ME como um constituinte de muitos óleos essenciais utilizados em aromaterapia (TISSERAND; BALACS, 1995).

Um ponto a ser considerado e que merece análise é que embora o ME seja na composição química do OEEN, o segundo maior constituinte em termos percentuais (14,9%), talvez não seja o principal ou único responsável pelo efeito depressor do óleo sobre o PAC.

De modo geral, parece que os constituintes de óleos essenciais atuam no espaço de tempo aparentemente longo (vários minutos), em uma dada concentração para o estabelecimento de seu efeito máximo (concentrações maiores estabelecem efeito mais

rápido). Vale ressaltar a potência do ME no nervo com sua atividade depressora na transmissão do impulso nervoso.

O presente estudo não objetivou a elucidação do mecanismo de ação do ME para efeito depressor do potencial de ação composto do nervo ciático. No entanto, é possível sugerir a possível interferência sobre canais de Na^+ , ou através do bloqueio de sua ativação ou mesmo de sua inativação, conforme visto na literatura (HAESELER *et al.*, 2002, MAGYAR *et al.*, 2002, SZENTANDRÁSSY *et al.*, 2003).

A medida da integral ou da área sob o gráfico do potencial de ação composto representa os axônios que não foram bloqueados ou que ainda persistem conduzindo o potencial. Nesse estudo foi demonstrado a medida da integral somente na concentração de 0,6 mM onde ocorreu modificação significativa da área total mensurada, o que não inviabiliza a utilização de tal parâmetro, pois é possível que para as concentrações que apresentarem efeito máximo sobre os parâmetros do PAC o efeito sobre a integral também sejam pronunciados.

Em conclusão, nosso estudo tem aqui demonstrado que o ME é efetivo e potente depressor da excitabilidade neuronal. Devido a sua utilização em muitos produtos a mensuração da sua atividade depressora da excitabilidade neuronal é de grande relevância e necessita de estudos adicionais para melhor caracterização de seus efeitos e elucidação de seu mecanismo de ação através de técnicas mais bem elaboradas.

CONCLUSÃO

O registro extracelular do potencial de ação composto de nervo ciático de rato manteve-se em todo protocolo experimental, inclusive quando o nervo foi estimulado a uma frequência de 20 Hz, demonstrando ser a montagem do ciático em câmara úmida uma boa preparação para estudos sobre a excitabilidade neuronal em nervos periféricos.

O metileugenol exerce efeito depressor dose-dependente sobre a amplitude pico-a-pico, a integral e velocidade de condução nervosa do PAC tendo, seu efeito mais pronunciado no primeiro componente, possivelmente devido sua ação sobre os canais de Na^+ .

O metileugenol deprime, de maneira proporcionalmente similar, a amplitude positiva, a integral e a velocidade de condução nervosa do primeiro e segundo componentes do PAC.

Metileugenol em concentrações baixas de 0,1 e 0,3 mM não exerceu efeito significativo sobre os parâmetros do potencial de ação composto. Nas concentrações de 0,6; 1; 2 e 4 mM o metileugenol exerceu efeitos significativos sobre o bloqueio da excitabilidade nervosa.

Metileugenol bloqueia totalmente a excitabilidade neuronal com concentração de 4mM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCIOLY, P. M. L. Efeito do óleo essencial do “marmeleiro sabiá” (*Cróton nepetaefolius*) e seu constituinte, 1,8-cineol, sobre o potencial de ação composto em nervo ciático de rato.

ADAMS, D. J.; GAGE, P. W.; HAMILL, O. P. Inhibitory postsynaptic currents at *Aplysia* cholinergic synapses: Effects of permeant anions and depressant drugs. 1982. In: HILLE, B. **Ionic channels of excitable membranes**. 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., p. 95 – 166, 2001.

AIDLEY, D. J. The physiology of excitable cells. 4. ed. **Cambridge University Press**, p. 35 – 71, 1998.

AKOPIAN, A. N.; SIVILOTTI, L.; WOOD, J. N. A tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel expressed by sensory neurons. **Nature**, n. 379, p. 257 – 262, 1996.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERT, K.; WALTER, P. **Biologia molecular da célula**. 4. ed. Porto Alegre-RS: Artmed, 2004.

ALBUQUERQUE A. A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H.; WEINREICH, D. Antigen-induced synaptic plasticity in sympathetic ganglia from actively and passively sensitized guinea pig. **Journal of Autonomic Nervous System**, 61 (2): 139-144, 1996.

ANSHER, S. S.; DOLAN, P. e BUEDING, E. Biochemical effects of dithiolthiones. **Food and Chemical Toxicology**, n. 24, p. 405 – 415, 1986.

BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências**. Desvendando o Sistema Nervoso. 2. ed. Porto Alegre-RS: Artmed, 2002.

BEST, C. e TAYLOR, N. **Physiological basis of medical practice**. 12. ed. Baltimore: Willians & Wilkins, p. 24-46, 1990.

BEZZERA-DE-MENEZES A. P. Efeito do Timol sobre o potencial de ação composto em nervo ciático de rato. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual do Ceará, 2004.

BLATZ, A. L.; MAGLEBY, K. L. Calcium-activated potassium channels, 1987. In: HILLE, B. **Ionic channels of excitable membranes**. 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., p 95 -126, 2001.

BRODIN, P.; ROED, A. Effects of eugenol on rat phrenic nerve and phrenic nerve-diaphragm preparations. **Archives of Oral Biology**, v. 29, n.1, p. 611 – 615, 1984.

BRUNETON J. **Pharmacognosy, pytochemistry and medicinal planta**. Intersept, Hampshire, UK, 1993.

BUTTERWORTH, J. F.; STRICHARTZ, G. R. Molecular mechanism of local anesthesia: a review. **Anesthesiology**, n. 72, p. 711 - 734, 1990.

CATTERALL, W. A. Structure and regulation of voltage-gated Ca^{++} channels, 2000a In: HILLE, B. **Ionic channels of excitable membranes**. 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., p. 95-166, 2001.

COELHO-DE-SOUZA, A. N.; BARATA, E. L.; MAGALHÃES, P. J. C.; LIMA, C. C.; LEAL-CARDOSO, J H. Effects of essential oil of *Cróton zentheneri*, and its constituent estragole on intestinal smooth muscle. **Phytotherapy Research**, n. 11, p. 299- 304, 1997.

COUNCIL OF EUROPE. **Opinion of the scientific committee on food on estragol (1-allyl-4-methoxybenzene)**. Strasbourg: Committee of Experts on Flavouring Substances. Adopted on 26 September, 2001.

COWEN, L. D.; HELFAND, W. H. **Historia de la Farmacia**. Edición Española Doyma Libros, S. A., 1994.

CRAVEIRO A. A.; FERNANDES A. G.; ANDRADE C. H. S.; MATOS F. J. A.; ALENCAR J. W.; MACHADO M. I. L. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil, 1981.

CRUZ, G. M. **Efeito do eugenol e do metil-eugenol sobre o potencial de ação composto em nervo ciático de rato**. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências da Saúde. Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, 2000.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E. A. Anaesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues. **Pharmacology**, n. 22, p. 113 – 127, 1981.

DALLMEIER, K.; CARLINI, E. A. **Anesthetic, hypothermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogues**. *Pharmacology* 22 (2), 113–127, 1981.

DE VINCENZI, M; SILANO, U. M.; STACCHINI, P, SCAZZOCCHIO, B. Constituents of aromatic plants: I. **Methyleugenol**. *Fitoterapia* 71. 2000 216-221. 1999.

_____. Constituents of aromatic plants: **I. Methyleugenol**. Department of Metabolism and Pathological Biochemistry, ISS, Rome, Italy, 2000.

DIB – HAJJ, S. D.; TYRREL, L.; BLACK, J. A.; WAXMAN, S. G. NaN, a novel voltage-gated Na channel, is expressed preferentially in peripheral sensory neurons and down-regulated after axotomy. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, n. 95, p. 8963 – 8968, 1998.

DUARTE, G. P.; LEAL-CARDOSO, J. H.; MAGALHÃES, P. J. C.; LEAL-INTERAMINENSE, L. F.; LAHLOU, S. Cardiovascular effects of eugenol, a phenolic compound present in many plant essential oils, in normotensive rats. **J. Cardiovasc Pharmacol** n.43, p. 250-257, 2004.

ERLANGER, J.; GASSER, H. S. (1937) *Electrical Signs of Nervous Activity*. Philadelphia. Univ. Pennsylvania Press *apud* BEST, C.; TAYLOR, N. (1990) **Physiological basis of medical practice**. 12. ed. Baltimore. Williams & Wilkins.

FRANCHOME, P.; PENOEL, D. Phénols méthyl-éthers et ther-oxydes. In: JOLLOIS, R. (Ed.), *L'aromathérapie exactement*. **Encyclopédie de l'utilisation Thérapeutique des Huiles Essentielles**, 170–176. Limoges, 1995.

FRANCHOME, P.; PÉNOËL, D. Phénols méthyl-éther-oxydes. In: JOLLOIS, R., editor. L'aromathérapie exactment. **Encyclopédie de L'utilisation Thérapeutique des Huiles Essenciales**. Limoges, France, p.: 170-176, 1995.

GARDNER, E; GRAY, D. J. O'RAHILLY, R. **Anatomia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

GASSER, H. S. Pain-producing impulses in peripheral nerves. **Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis., Proc.**, n. 23, p. 44 – 62, 1943.

GOODMAAN, L. S.; GILMAN, A. **The pharmacological basis of therapeutics**. 9. ed. USA: Mcgraw-Hill Companies Inc., p. 331- 347, 1996.

HAESLER G.; MAUE D.; GROSSKREUTZ J.; BUFLER J.; NENTWING B.; PIEPENBRONCK S.; DENGLER R.; LEUWER M. Voltage-dependent block of neuronal and skeletal muscle sodium channels by thymol and menthol. **European Journal of Anaesthesiology** **19** (8): 571-579, 2002.

HATANAKA A. The biogeneration of Green odour by Green leaves. **Phytochemistry**, **34**, 1201-1218, 1993.

HILLE, B. **Ionic channels of excitable membranes**. 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., 2001.

HODGKIN, A. L.; KATZ, B. The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. **Journal of Physiology**, n. 108, p. 37 – 77, 1949.

HODGKIN, A. L.; HUXLEY A. F. Action potentials recorded from inside a nerve fiber. **Nature London**, n. 144, p. 710- 711, 1939.

HOLSHEIMER, J. D.; DIJKSTRA, E. A.; DEMEULEMEESTER, H.; NUTIM, B. Chronaxie calculated from current-duration and voltage-duration data. **Journal of Neuroscience Methods**, n. 97, p. 47- 50, 2000.

HURSH, J. B. Conduction velocity and diameter of nerve fibers. **American Journal of physiology**, v. 127, n. 1, p. 131-139, 1939.

JUNGE, D. **Nerve and muscle excitation**. Massachusetts: Sinauer Associates Inc., p. 7-21, 1976.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. **Fundamentos da Neurociência e do Comportamento**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

KOSTYUK, P. G.; VESELOVSKY, N. S.; TSYNDRENKO A. Y. Ionic currents in the somatic membrane of dorsal root ganglion neurons. I. Sodium currents. **Neuroscience**, n. 6, p. 2423 – 2430, 1981.

KOZAM, G. The effect of eugenol on nerve transmission. **Oral Surgery**, v. 44, n. 5, p. 799-805, 1997.

KREYDIYYEH S. I.; USTA J.; COPTI R. Effect of cinnamon clove and some of their constituents on the Na(+)-K(+)-ATPase activity and alanine absorption in the rat jejunum. **Food chem toxicol**. Sep; 38

LAHLOUA S.; FIGUEIREDO, A. F.; MAGALHÃES, P. J. C.; LEAL-CARDOSO J. H.; PINTO, D. G. **Cardiovascular effects of methyleugenol, a natural constituent of many plant essential oils, in normotensive rats**. *Life Sciences* 74 (2004) 2401–2412. 2003.

LEAL-CARDOSO J. H.; FONTELES, M. C. Pharmacological effects of essential oils plants of the Northeast of Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. V. 71, n. 2, p. 207-213, 1999.

LIMA, C. C. **Efeito miorelaxante do metileugenol em mu sculo liso de roedores**. Master Thesis, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, CE, Brazil, 1998.

LIMA, C. C.; CRIDDLE, D. N.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; MONTE, F. J. Q.; JAFFAR, M.; LEAL-CARDOSO, J. H. Relaxant and antispasmodic actions of methyleugenol on guinea-pig isolated ileum. **Planta Medica**, 66 (5), 408-411, 2000.

LIN, Y. T.; WU, B. N.; HORNG, C. F.; HUANG, Y. C.; HONG, S. J.; LO, Y. C.; CHENG, C. J.; CHEN, I. J. Isoeugenolol: A selective β_1 -adrenergic antagonist with tracheal and vascular smooth muscle relaxant properties. **Japanese Journal of Pharmacology**, n. 80, p. 127- 136, 1999.

LODISH, H.; BERK, BERK, A.; ZIPURSKY, S. L.; MATSUDAIRA, P.; BALTIMORE, D.; DARNELL, J. **Biologia celular e molecular**. 4. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002.

MAGALHÃES P. J. C. **Ações do óleo essencial do marmeleiro sabiá (*Cróton nepetaefolius*) na musculatura intestinal de cobaio**. Fortaleza. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará, 1997.

MAGALHÃES P. J. C.; CRIDDLE D. N.; RAQUEL A. T.; MELO E. M.; MOTA T. L.; LEAL-CARDOSO J. H. Intestinal myorrelaxant and anti-spasmodic effects of the essential oil of *Cróton nepetifolius*, and constituents cineole, methyl-eugenol and therpineol. *Phytoterapy Research*, 12: 172 – 177, 1998.

MAGALHÃES, P. J. C.; CRIDDLE, D. N.; TAVARES, R. A.; MELO, E. M.; MOTA, T. L.; LEAL-CARDOSO, J. H. **Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyleugenol and terpineol**. *Phytotherapy Research* 12 (8), 172–177, 1998.

MAGEE, J.; HOFFMAN, D.; COLBERT, C.; JOHNSTON, D. Eletrical and calcium signaling in dendrites of hippocampal pyramidal neurons. 1998. In: HILLE, B. **Ionic channels of excitable membranes**. 3. ed. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., p. 95-166, 2001.

MAGYAR, J.; SZENTANDRÁSSY, N.; BÁNYÁSZ, T.; FÜLÖP, L.; VARRÓ, A.; NÁNÁSI, P. P. Effects of tymol on calcium and potassium currents in canine and human ventricular cardiomyocytes. **British Journal of Pharmacology**, n. 136, p. 330 – 338, 2002.

MAGYAR, J.; SZENTANDRÁSSY, N.; BÁNYÁSZ, T.; FÜLÖP, L.; VARRÓ, A.; NÁNÁSI, P. P. Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and human ventricular cardiomyocytes. **European Journal of Pharmacology**, n. 487, p. 29- 36, 2004.

MATOS, E. C. **Efeito do safrol sobre o potencial de ação composto em nervo ciático de rato**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências da Saúde. Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, 2004.

MEIRI, H.; PRI-CHEN, S.; KORCZYN, A. D. Sodium channel localization in rat sciatic nerve following lead-induced demyelination. **Brain Research**, n. 359, p. 326 – 331, 1985.

MONTOYA, J. V. G.; ARIZA, J.; SUTACHÁN, J. J.; HURTADO, H. Relationship between functional deficiencies and the contribution of myelin nerve fibers derived from L-4, L-5 and L-6 spinolumbar branches in adult rat sciatic nerve. **Experimental Neurology**, n. 173, p. 266 - 274, 2002.

MOREIRA, M. R.; CRUZ, G. M. P.; ALBUQUERQUE, A. A. C.; LOPES, M. S.; LEAL-CARDOSO, J. H. Effects of terpineol on the compound action potential of the rat sciatic nerve. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 34, n. 11, p. 1137- 1140, 2001.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP). Toxicology and carcinogenesis studies of methyleugenol (CAS No. 93–15–12) in F344/n rats and B6C3F1 mice (gavage studies). DRAFT NTP-TR-491; NIH Publication No. 98–3950, 2000.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger. **Princípios de Bioquímica**. 3. ed. São Paulo-SP: Savier, 2002.

NOKES, L. D. M.; DANIEL, D.; FLINT, T.; BARASI, S. Investigations into the analysis of the rate of decay of the compound actions potentials recorded from the rat sciatic nerve after death: Significance for the prediction of the post-mortem period. **Forensic Science International**, v. 50, n. 1, p. 75-85, 1991.

OGATA, N.; TATEBAYASHI, H. Kinetic analysis of two types of Na⁺⁺ channels in rat dorsal root ganglia. **J Physiol (Lond)**, n. 466, p. 9-37, 1993.

PIRES, V. L. de S. **Efeito do anetol sobre o potencial de ação composto do nervo ciático de rato**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências da Saúde. Fortaleza: Universidade Estadual do Ceará, 2002.

ROCHA M. M.; ALBUQUERQUE A. A.; LOPES M. S.; LEAL-CARDOSO J. H. **Efeito inibitório do óleo essencial do *Cróton nepetaefolius* sobre a atividade elétrica do nervo ciático de rato. XIV reunião anual da Federação das Sociedades Brasileiras de Biologia Experimental (FESBE),** Águas de Lindóia, São Paulo, Fesbe, 1998.

ROY, M. L.; NARAHASHI, T. Differential properties of tetrodotoxin-sensitive and tetrodotoxin-resistant sodium channels in rat dorsal root ganglion neurons. **J Neurosci.**, n. 12, p. 2104 – 2111, 1992.

RUSH, A. M.; BRÄU, M. E.; ELLIOTT, A. A.; ELLIOT, J. R. Electrophysiological properties of sodium current subtypes in small cells from adult rat dorsal root ganglia. **J. Physiol. (Lond)**, n. 511, p. 771-789, 1998.

SANGAMESWARAN, L.; FISH, L. M.; KOCH, B. D.; RABERT, D. K.; DELGADO, S. G.; ILNICKA, M.; JAKEMAN, L. B.; NOVAKOVIC S.; WONG K.; SZE, P.; TZOUMAKA E.,

CALDWELLK, J.; SIPES, I. G. **Safety assessment of allylalkoxybenzene derivatives used as .avouring substances** — methyl eugenol and estragole. *Food and Chemical Toxicology* 40 (2002) 851–870, 2002.

SOUSA, M. B.; XIMENES, M. F.; MOTA, M. T.; MOREIRA, L. F.; MENEZES, A. A. Circadian variation of methyleugenol anesthesia in albino rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 23 (5), 423-425, 1990.

VAN DEN BROUKE, C. O.; LEMLI, J. A. Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. *Planta Medica*, n. 38, p. 317-31, 1980.

VIANA-CARDOSO, K. V. **Efeito do Estragol sobre o potencial de ação composto em nervo ciático de rato**. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Centro de Ciências da Saúde. Universidade Estadual do Ceará, 2005.

WEINREICH, D.; KOSCHORKE, G. M.; UNDEM, B. J.; TAYLOR, G. E. Prevention of the excitatory actions of bradykinin by inhibition of PGI₂ formation in nodose neurones of the guinea-pig. **Journal of Physiology**, n. 483, p. 735-746, 1995.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)