

CARLÚCIA ITHAMAR FERNANDES FRANCO

**ABORDAGEM PSICOIMUNOLÓGICA DE *Sida*
cordifolia LINN (MALVACEAE), DIAZEPAM,
DEXAMETASONA E SALBUTAMOL EM MODELO
EXPERIMENTAL DE ALERGIA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
“PROF. DELBY FERNANDES DE MEDEIROS”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS**

**JOÃO PESSOA
2007**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

CARLÚCIA ITHAMAR FERNANDES FRANCO

ABORDAGEM PSICOIMUNOLÓGICA DE *Sida cordifolia* LINN (MALVACEAE), DIAZEPAM, DEXAMETASONA E SALBUTAMOL EM MODELO EXPERIMENTAL DE ALERGIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de DOUTOR EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS, Área de concentração: FARMACOLOGIA

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Regina Piuvezam

Co-orientador: Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida

**JOÃO PESSOA
2007**

F825a

Franco, Carlúcia Ithamar Fernandes.

Abordagem psicoimunológica de *Sida cordifolia* Linn (Malvaceae) em modelo experimental de alergia. / Carlúcia Ithamar Fernandes Franco - João Pessoa, 2007.

122p. : il.

Orientadora: Marcia Regina Piueзам

Co-Orientador: Reinaldo Nóbrega de Almeida.

Tese (doutorado) UFPB / CCS

1. Imunologia. 2. *Sida cordifolia*.

3. Psicoimunologia. 4. Alergia.

UFPB/BC

CDU: 612.017 (043)

CARLÚCIA ITHAMAR FERNANDES FRANCO

**ABORDAGEM PSICOIMUNOLÓGICA DE *Sida cordifolia* LINN
(MALVACEAE), DIAZEPAM, DEXAMETASONA E SALBUTAMOL
EM MODELO EXPERIMENTAL DE ALERGIA**

Aprovado em _____

COMISSÃO EXAMINADORA de QUALIFICAÇÃO

Profa. Dra Marcia Regina Piuvezam – Orientadora

Prof. Dr Reinaldo Nóbrega de Almeida - Co-orientador

Prof. Dr Ângelo Roberto Antonioli - Examinador

Prof. Dr Jovany Luís Alves de Medeiros – Examinador

Profa. Dra Liana Clébia de Moraes - Examinadora

Profa. Dra Sandra Rodrigues Mascarenhas - Examinadora

“Não te assombres porque eu sou teu Deus, eu te esforço e te ajudo e te sustento com a dextra da tua justiça”

Isaias 41:10

*Porque eu sou teu Deus, te tomo pela tua mão direita e te digo:
Não temas que eu te ajudo*

Isaias 41:13

DEDICATÓRIA

Aos meus avôs

José Luís Fernandes e Severino Ithama (*in memoriam*)

Aos meus filhos,

Jefferson e Caroline

AGRADECIMENTOS

A DEUS, presente em toda a minha existência, durante várias batalhas, capacitando-me a conquistar mais uma vitória em minha vida;

Aos meus pais, Carlos Alberto Cordeiro Fernandes e Lucrécia Ithamar Fernandes, pela disciplina e orientação imprescindível na minha formação pessoal;

A meu marido, Edson Soares Franco, pelo amor e compreensão constante;

Aos meus irmãos, José Luís Fernandes Neto, Carlos Alberto Cordeiro Fernandes Filho, Carlson Ithamar Fernandes, Firmino Luís Fernandes e Anna Carla Ithamar Fernandes, pelo companheirismo e fraternidade;

À Profa. Dra., Márcia Regina Piuvezam, por ter me acolhido como sua orientanda, por tudo que aprendi durante este período de doutorado, tanto pessoal quanto profissional;

Ao Prof. Dr., Reinaldo Nóbrega de Almeida, pela orientação, participação efetiva e apoio constante durante a minha pós-graduação desde o mestrado, além de todo carinho e amizade;

Ao Prof. Dr., Ângelo Roberto Antonioli, por ter acreditado em mim e pelo seu inestimável ensinamento;

À profa. Dra., Liana Clébia de Moraes, pela amizade e apoio incondicional à realização deste trabalho;

À direção, aos professores e funcionários do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, pela contribuição para a realização deste trabalho;

Aos amigo(a)s pós-graduandos, Horacina, Fabiana, Rita, Luciano e Fladmir, pelo que me ensinaram;

Aos alunos de Iniciação Científica, Josenilson Freitas e Talissa Muccini, pela imensa ajuda na parte experimental deste trabalho;

À profa. Ms., Rejane Maria de A. Ferreira, pela participação na correção de português deste trabalho;

À bibliotecária Dhébora Chaves pela importante ajuda quanto ao aspecto metodológico deste trabalho;

Aos que fazem o Grupo da Psicofarmacologia e Imunologia;

Aos funcionários do Biotério do Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” pelo fornecimento dos animais.

RESUMO

A psiconeuroimunologia é uma ciência que estuda a inter-relação entre as emoções, o Sistema Nervoso Central (SNC), o Sistema Imune (SI), e suas implicações na saúde e na doença. As alergias são caracterizadas por uma hiperresponsividade ao alérgeno com consequente perturbação da homeostasia no tecido afetado. A *Sida cordifolia* Linn conhecida como "malva branca" é uma planta usada na medicina popular para o tratamento da asma, doenças reumáticas, inflamação e dor. O estudo farmacológico com extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *Sida cordifolia* (EHSc), demonstrou atividade ansiolítica e antinociceptiva em camundongos Swiss. O objetivo dessa pesquisa foi padronizar a resposta comportamental em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com ovalbumina (OVA); investigar a influência do EHSc em várias doses via i.p. / v.o. e de substâncias bioativas tais como diazepam (DZP), dexametasona (DEX) e salbutamol (SBL) no perfil comportamental e na resposta imune humoral nos animais sensibilizados e desafiados. Na triagem farmacológica comportamental, o EHSc induziu várias alterações no comportamento de camundongos BALB/c, as quais foram indicativas de atividade depressora no SNC. Foi realizado o protocolo de sensibilização com OVA e 30 min após o desafio com OVA, os animais foram submetidos aos testes da placa perfurada (PF) e do labirinto em cruz elevado (LCE). No terceiro dia após o desafio foi analisada a resposta imune humoral pelos testes de hipersensibilidade cutânea imediata e anafilaxia cutânea passiva. Os dados demonstraram que a sensibilização com OVA reduziu a atividade exploratória e locomotora nos testes da PF e do LCE. Entretanto, o tratamento dos animais com EHSc reverteu o perfil comportamental induzido pela OVA. O EHSc atenuou o edema de pata e o título de imunoglobulina E (IgE) OVA-específica em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA nos testes de hipersensibilidade cutânea imediata e anafilaxia cutânea passiva. Da mesma forma, o tratamento com DZP, DEX ou SBL modulou a resposta comportamental induzida pela OVA, assim como, induziu redução do edema de pata no teste de hipersensibilidade cutânea imediata. Contudo, apenas os animais tratados com DZP ou DEX mostraram diminuição do título IgE OVA-específica no teste de anafilaxia cutânea passiva em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. A análise do presente estudo permite sugerir que a sensibilização com OVA induziu um perfil comportamental de doença em camundongos BALB/c, o tratamento com EHSc causou ação moduladora sobre o perfil comportamental induzido pela OVA e resposta imune humoral. Também foi possível sugerir que o tratamento com DZP ou DEX induziu atividade atenuadora sobre a resposta comportamental assim como, o tratamento with DZP ou SBL causou ação modulatória sobre a resposta imune humoral em modelo experimental de alergia.

Palavras-chaves: Psicimunologia, *Sida cordifolia*, alergia, asma, ovalbumina, camundongos BALB/c, diazepam, dexametasona, salbutamol.

ABSTRACT

The psychoneuroimmunology is a science that studies the interrelation among the emotions, the Central Nervous System (CNS), the Immune System (IS) and its implications on health and disease. The allergies are characterized by a hyperresponsivity to allergen with consequent perturbation of homeostasis in affected tissue. The *Sida cordifolia*, know as “malva-branca”, is a plant used in popular medicine, to treat of asthma, rheumatic diseases, inflammation and pain. The pharmacological study with hydroalcoholic extract of *Sida cordifolia* leaves (HESc) demonstrated antinociceptive and ansiolitic activity in Swiss mice. The objective of this research was to standardize the behavioral response in BALB/c mice sensitized and challenge with ovalbumin (OVA); investigate the influence of HESc in different doses and bioactive substances such us diazepam (DZP), dexamethasone (DEX) and salbutamol (SBL) on behavioral and humoral immune responses in animals sensitized and challenge with OVA. In pharmacological behavioral screening, the HESc produced several alterations in behavior of BALB/c mice, which was indicative of depressive activity in CNS. The protocol of sensitization and challenge was conducted with OVA and, after 30 min of the challenge, the animals were submitted to the hole board (HB) or plus maze (EPM) tests. At the third day of OVA-challenge was analyzed the humoral immune response in the immediate cutaneous hypersensibility and cutaneous anaphylaxis passive tests. The data demonstrated that the sensitization with OVA induced a decrease of exploratory and locomotor behaviors on HB and LCE tests. However, the treatment with HESc revert the behavioral profile induced by OVA in both parameters. Also was observed that the treatment with HESc attenuated the paw edema and IgE OVA-specific title in the OVA-challenged and sensitized BALB/c mice in hypersensibility cutaneous and passive cutaneous anaphylaxis tests. In the same way, the treatment with DZP or DEX produced a modulation of ansiogenic state or sickness behavior induced by OVA in the HB and EPM tests, as well as, DZP or SBL produced decrease of paw edema at immediate cutaneous hypersensibility test and reduction of the IgE OVA-specific title in the passive cutaneous anaphylaxis test in OVA-challenged and sensitized BALB/c mice. The analysis of this study possibility to suggest that the sensitization with OVA induced a sickness behavior in BALB/c mice; the treatment with HESc modulate the behavioral profile induced by OVA and the humoral immune response. It was also was possible to suggest that the treatment with DZP or DEX attenuated the behavioral profile induced by OVA, as well as, the treatment with DZP or SBL caused modulate action on humoral immune response in experimental model of allergy.

Key-words: Psychoimmunology, *Sida cordifolia*, allergy, asthma, ovalbumin, BALB/c mice, diazepam, dexamethasone, salbutamol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Foto de <i>Sida cordifolia</i> Linn.	39
Figura 2. Aparelho de placa perfurada	44
Figura 3. Aparelho do labirinto em cruz elevado	45
Figura 4. Processo para obtenção do extrato hidroalcolico bruto a partir das partes aéreas de <i>Sida cordifolia</i>	47
Figura 5. Sequência dos procedimentos experimentais utilizados na investigação da interação entre o SNC e o SI.....	50
Figura 6 Efeito da OVA sobre a atividade exploratória e locomotora no teste da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	59
Figura 7. Efeito da OVA sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.	61
Figura 8. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg via i.p. sobre a atividade exploratória e locomotora no teste da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.	63
Figura 9. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg via oral sobre a atividade exploratória e locomotora no teste da placa perfurada no teste da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	65
Figura 10. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg via i.p. sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	67

Figura 11. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg via oral sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	69
Figura 12. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg vias i.p. e v.o. sobre o edema de pata no teste de hipersensibilidade cutânea imediata. em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA	71
Figura 13. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg vias i.p. e v.o. sobre a produção de Ig OVA-específica no teste de anafilaxia cutânea passiva em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	73
Figura 14. Efeitos do DZP, DEX ou SBL sobre a atividade exploratória e locomotora no teste de da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	75
Figura 15. Efeitos do DZP, DEX ou SBL sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	77
Figura 16. Efeito do DZP ou SBL sobre o edema de pata no teste de hipersensibilidade cutânea imediata em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.....	79
Figura 17. Efeitos do DZP ou SBL sobre a produção de Ig OVA-específica no teste de anafilaxia cutânea passiva em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.	80

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Relação das substâncias utilizadas nos estudos farmacológicos.....	43
Quadro 2. Efeito do EHSc administrado via i.p. na triagem farmacológica comportamental em camundongos BALB/c.....	56
Quadro 3. Efeito do EHSc administrado v.o. na triagem farmacológica comportamental em camundongos BALB/c.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	hormônio adrenocorticotrópico
Al (OH) ₃	hidróxido de alumínio
AMPc	monofosfato de adenosina cíclico
ANOVA	análise de variância
BDZs	benzodiazepínicos
β ₂	beta-2
° C	graus Celsius
CD4	grupamento de diferenciação de linfócitos T auxiliar
CRH	hormônio liberador de corticotropina
cm	centrímetro
DL ₅₀	dose letal 50 %
DEX	dexametasona
DZP	diazepam
EHS _c	extrato hidroalcoólico bruto de <i>Sida cordifolia</i>
e.p.m.	erro padrão da média
E.U.A.	Estados Unidos da América
g	grama
GM-CSF	fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos
h	hora
hs	horas
HC	hipersensibilidade cutânea imediata
H ₁	receptor de histamina tipo 1
H ₂	receptor de histamina tipo 2
HPA	hipotálamo hipófise adrenal
HSNA	hipotálamo sistema nervoso autônomo
i.c.v.	intracerebroventricular
IFN	interferon
IFN-γ	interferon gama
Ig	imunoglobulina
IgE	imunoglobulina E
IgEsF	fator supressor de IgE

IgG	imunoglobulina G
IL-1	interleucina 1
IL-1 α	interleucina 1 alfa
IL-1 β	interleucina 1 beta
IL-2	interleucina 2
IL-4	interleucina 4
IL-6	interleucina 6
IL-5	interleucina 5
IL-10	interleucina 10
IL-13	interleucina 13
i.p.	intraperitoneal
i.d.	intradérmica
i.n.	intra nasal
kg	kilograma
LCE	labirinto em cruz elevado
LTh	linfócito T “helper”
LPS	lipopolissacarídeo de bactéria
LTF	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
LTs	leucotrienos
LTC ₄	leucotrieno C ₄
LTD ₄	leucotrieno D ₄
LTE ₄	leucotrieno E ₄
mg/kg	miligrama por kilograma
min	minutos
mL	mililitro
n ^o	número de animais por grupo experimental
NANC	não adrenérgico e não colinérgico
NF- κ B	fator nuclear kappa B
NPPN	Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais
OMS	Organização Mundial da Saúde
OVA	ovalbumina
RNA	ácido ribonucléico
RNA _m	ácido ribonucléico mensageiro

s	segundo
SBL	salbutamol
s/d	sem data
SI	sistema imune
SN	sistema nervoso
SNA	sistema nervoso autonômo
SNAS	sistema nervoso autonômo simpático
SNAP	sistema nervoso autonômo parassimpático
SNC	sistema nervoso central
s.c.	subcutânea
Th	célula T auxiliar
Th1	célula T auxiliar do tipo 1
Th2	célula T auxiliar do tipo 2
TGF- β	fator de crescimento tumoral beta
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
TSH	hormônio tireoestimulante
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
v.o.	via oral
vs	versus
μ g	micrograma
μ L	microlitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA	20
2.1 Psicoimunologia	20
2.2 Citocinas e comportamento	23
2.3 Processos alérgicos – Asma.....	27
2.4 Aspectos botânicos e etnofarmacológicos de <i>Sida cordifolia</i> L.....	37
3. OBJETIVOS	40
3.1 Geral	40
3.2 Específicos.....	40
4. ANIMAIS.....	41
5. MATERIAL E MÉTODOS	42
5.1 Material botânico	42
5.2 Substâncias	42
5.3 Equipamentos	44
5.3.1 Placa perfurada	44
5.3.2 Labirinto em cruz elevado	45
5.4 Metodologias	46
5.4.1 Processo para obtenção do extrato hidroalcoólico de <i>Sida cordifolia</i> L.	46
5.4.2 Triagem farmacológica comportamental	47
5.4.3. Protocolo de sensibilização e desafio com OVA.....	48
5.4.4 Metodologias para avaliar os efeitos comportamentais e imunológicos do EHSc, DZP, DEX ou SBL em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.	49
5.4.4.1 Teste da placa perfurada	51

5.4.4.2 Teste do labirinto em cruz elevado.....	51
5.4.4.3 Teste de hipersensibilidade cutânea imediata	52
5.4.4.4 Teste de anafilaxia cutânea passiva	53
5.4.5 Análise estatística	54
6. RESULTADOS	55
6.1 Efeito do EHSc na triagem farmacológica comportamental	55
6.2 Efeito da OVA no perfil comportamental	58
6.2.1 Efeito da OVA no teste da placa perfurada	58
6.2.2 Efeito da OVA no teste do labirinto em cruz elevado	60
6.3 Efeitos do EHSc nas metodologias comportamental e imunológica em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA	62
6.3.1 Efeito do EHSc no teste da placa perfurada	62
6.3.2 Efeito do EHSc no teste do labirinto em cruz elevado	66
6.3.3 Efeito do EHSc no teste de hipersensibilidade cutânea imediata.....	70
6.3.4 Efeito do EHSc no teste de anafilaxia cutânea passiva	72
6.4 Efeitos do DZP, DEX e SBL nas metodologias comportamental e imunológica de camundongos BALB/c sensibilizados com OVA	74
6.4.1 Efeito do DZP, DEX e SBL no teste da placa perfurada.....	74
6.4.2 Efeito do DZP, DEX e SBL no teste do labirinto em cruz elevado.....	76
6.4.3 Efeito do DZP e SBL no teste de hipersensibilidade cutânea imediata.....	78
6.4.4 Efeito do DZP e SBL no teste de anafilaxia cutânea passiva	80
7. DISCUSSÃO	81
8. CONCLUSÕES	93
PERSPECTIVAS.....	94

REFERÊNCIAS95

APÊNDICE

1 INTRODUÇÃO

Pesquisas interdisciplinares são as chaves para se entender a complexa questão de integração de diferentes sistemas nos estados fisiológicos e / ou patológicos. A biologia celular e molecular muito contribuíram para o entendimento das interações entre os múltiplos órgãos dos sistemas (TEHRANI; STENBERG, 1999).

As interações entre o SNC e o SI ocorrem de forma que o SNC atua reciprocamente com o SI; o SNC dirige a imunidade e o SI modula o SNC (STEINMAN et al., 2003). Neurobiologistas e imunologistas estão explorando idéias comuns como a sinapse para entender a propriedade de memória que compartilham esses dois sistemas (STEINMAN, 2004).

A neuroimunologia é um campo próspero de uma variedade de modelos animais para identificar, provar e manipular as interações entre os órgãos dos sistemas: o neural, o endócrino e o imune (BRAMBILLA, 2000). O sistema nervoso e o SI mantêm uma extensa comunicação, através de uma complicada transmissão de nervos simpáticos e parassimpáticos para os órgãos linfóides e de mensageiros químicos que são capazes de quebrar a independência e a isolada localização anatômica (STEINMAN, 2004).

O estresse psicológico influencia a susceptibilidade para doenças do trato respiratório superior (rinite) induzidas experimentalmente (COHEN; SMITH; TYRRELL, 1991) como também induzindo à exacerbação da asma (NICHOLSON e SMITH, 2001). Também foi mostrado que infecções viróticas respiratórias comumente causam a exacerbação de asma em adultos ou o quadro de asma estão associados a infecções viróticas (NICHOLSON; KENT; IRELAND, 1993). Baseados nesses resultados, Nicholson e Smith (2001) sugeriram que o estresse aumenta a frequência de doenças do trato respiratório superior, induzindo à exacerbação da asma.

A asma é uma doença inflamatória crônica, definida por obstrução reversível e hiperresponsividade não específica das vias aéreas (HAMELMANN; GELFAND, 2001; HEGELE, 2000). A alteração estrutural, conhecida por remodelação, ocorre como resultado do desequilíbrio na regeneração do tecido epitelial da mucosa do trato respiratório e no mecanismo de reparação (HUMBLES et al., 2004).

Recentemente, a prevalência da asma tem dobrado de forma que afeta aproximadamente 8 % a 10 % da população nos Estados Unidos. Essa prevalência tem sido

marcada pelo aumento do custo para essa doença, pela morbidade e da mortalidade (COHN; ELIAS; CHUPP, 2004).

Aproximadamente 50 % das drogas introduzidas no mercado, são derivadas, direta ou indiretamente, de pequenas moléculas biogênicas. No futuro, os produtos naturais irão desempenhar um grande papel como substâncias ativas, moléculas modelo para a descoberta e a validação de drogas alvo (VUORELA et al., 2004).

As plantas são fontes importantes para a obtenção de moléculas biologicamente ativas, muitas das quais constituem modelos para a síntese de um grande número de fármacos (WALL; WANI, 1996). O emprego de plantas medicinais, com fins de prevenção, tratamento e cura de doenças tem sempre acompanhado o homem ao longo de sua existência. Essa prática milenar, uma atividade humana por excelência, ultrapassou todos os obstáculos durante o processo evolutivo e chegou até os dias atuais, sendo amplamente utilizada por grande parte da população mundial como fonte de recurso terapêutico eficaz (DI STASI, 1996).

Atualmente, estima-se que aproximadamente 420.000 espécies existem na natureza. Para a descoberta ou para a validação científica de uma planta medicinal tradicional ou fitofarmacêutica, os princípios ativos na matriz necessitam ser identificados. Assim, a elucidação química e biológica torna-se uma importante contribuição (VUORELA et al., 2004).

Nos países em desenvolvimento, o uso de plantas medicinais, na forma de pó, infusão, tinturas, cápsulas ou simplesmente do material seco, impõe uma série de dificuldades no sentido de garantir a segurança e a eficácia dessas preparações, embora os efeitos colaterais ou as reações tóxicas associadas ao uso de plantas medicinais, em qualquer das formas utilizadas, não sejam relatados. Em países industrializados, o uso de plantas medicinais está geralmente relacionado ao emprego de princípios ativos isolados em forma pura (FARNISWORTH, 1993).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) vem apoiando programas destinados à utilização racional e científica de plantas utilizadas tradicionalmente, o que reforça esse tipo de terapêutica. Nos países industrializados, o aumento significativo do emprego de plantas medicinais é explicado pela tendência dos doentes a uma maior automedicação e pela preferência pelos produtos naturais, dada a idéia de terem menor toxicidade (PROENÇA, 1996).

A busca pela medicina natural tem aumentado nas últimas décadas. Países como a Índia e a China arrecadam cerca de cem bilhões de dólares anuais, e a validação da

eficácia de alguns produtos naturais, como Ginseng, *Gingko biloba* e alho tem estimulado a medicina convencional a incorporar essas preparações como parte da terapia utilizada (WETZEL et al., 2003).

A *Sida cordifolia*, pertencente à família MALVACEAE, foi selecionada com base nas informações populares do seu efeito para “cansaço” e “chiado no peito”. Consideraram-se ainda, estudos prévios obtidos do extrato aquoso dessa espécie e seu efeito antiinflamatório em modelo de inflamação não dependente de IgE (FRANZOTTI et al., 2000).

Nesse sentido, o estudo da espécie *Sida cordifolia* do gênero *Sida* L. justifica-se por várias razões: a busca de novas drogas da planta e investigar suas atividades biológicas; a grande utilização de *Sida cordifolia* na medicina popular para o tratamento da asma; importante fator de contribuição para a área de farmacologia, especialmente, aplicada à Psicoimunologia, onde pesquisas estão sendo intensificadas uma vez que a maioria das doenças neurológicas e imunológicas são de caráter crônico, e as opções terapêuticas não têm apresentado relativa seletividade de ação e redução dos efeitos tóxicos.

A relevância desse estudo se fundamenta por: a *Sida cordifolia* atuar como depressora no SNC, podendo atenuar a inflamação neurogênica através dos neuropeptídeos autônomos e somáticos; importante possibilidade para o desenvolvimento de drogas para o tratamento da asma alérgica mais eficaz e seletiva que causem menos efeitos colaterais; pela ausência, na literatura, de estudos científicos sobre sua atividade na área de Imunologia ou nas reações inflamatórias dependentes de IgE (asma alérgica).

Os estudos foram realizados com busca na identificação do efeito do tratamento com extrato hidroalcoólico bruto das partes aéreas de *Sida cordifolia* (EHSc) em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA. O extrato teve seus efeitos avaliados sob dois aspectos: comportamentais, avaliados nos testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado, e imunológicos analisados nos testes de hipersensibilidade cutânea imediata e anafilxia cutânea passiva.

O estudo da inter-relação entre os sistemas imune e psíquico possibilitará melhor entendimento dos mecanismos de ação da planta na asma, apresentando subsídios para sua validação (cientificamente) no uso popular para o tratamento das afecções das vias aéreas, além do possível desenvolvimento de um fitoterápico.

2 REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA

2.1 Psicoimunologia

A história da Psiconeuroendocrinologia tem raízes ancestrais, vindo do século passado, quando clínicos e pesquisadores observaram a possível ligação entre distúrbios da função bioquímica do cérebro, caracterizando o normal e o patológico (BRAMBILLA, 2000).

As principais preocupações com as interações entre o SNC e o SI foram inicialmente consideradas durante a passagem do século XIX para o século XX, quando se pensava que o cérebro fosse o sítio onde se iniciava a reação anafilática (MOREIRA, 2003). Da mesma forma, uma associação entre esses sistemas era mencionada desde os primórdios da medicina, quando se acreditava que a mente podia ter efeitos sobre as doenças. O SI considerado originalmente como sistema de defesa contra microorganismos, é visto hoje como um sistema que visa à homeostase fisiológica do organismo, funcionando intrinsecamente com os sistemas nervoso e endócrino (RUMJANEK; PIUVEZAM; RODRIGUES MASCARENHAS, 2006).

A Psiconeuroimunologia é uma ciência relativamente recente e definida como o estudo da inter-relação entre aspectos emocionais, o SNC e o SI, e suas implicações na saúde e na doença (KRÄMER; CAETANO; CAETANO, 1999) ou a inter-relação entre estresse, função endócrina / imune e doença (ALTMAN, 1997). Existem várias evidências de que o sistema imunológico não funciona isoladamente, e que elementos do sistema nervoso e do sistema endócrino interagem para sua regulação final. Uma das evidências dessa regulação envolve a correlação entre os estados de estresse e o decréscimo da imunidade (RUMJANEK; PIUVEZAM; RODRIGUES MASCARENHAS, 2006).

Os sistemas imune, nervoso e endócrino têm propriedades comuns que consistem das respostas a estímulos específicos do ambiente externo ou interno, o relacionamento do organismo com o ambiente, as funções de defesa adaptativas bem como a memória. A comunicação entre os sistemas neuroendócrino e imune é um caminho de duas vias, com vários intermediários químicos (ADER; COHEN; FELTEN, 1995; STRAUB et al., 1998). A primeira via corresponde a hormonal, representa o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), regulando a concentração sistêmica de cortisol e adrenalina. A segunda via se refere à via neuronal representada pelo eixo hipotálamo-sistema-nervoso-autônomo (HSNA),

localmente influenciando a função imune via neurotransmissores nos órgãos linfóides e tecido inflamado (STRAUB et al., 1998). Os órgãos linfóides, os linfonodos, os vasos linfáticos, o baço, o timo e o tecido linfóide recebem extensa inervação simpática intraparenquimal (BELLINGER; LORTON; FELTEN, 1992; MADDEN; FELTEN, 1995; BELLINGER et al., 1997).

A interação entre o comportamento e imunidade é um processo bidirecional. Podem ocorrer através da inervação direta nos compartimentos linfóides, por liberação de neurotransmissores de nervos situados nas proximidades das células ou por sinais neuroendócrinos hipotalâmicos, hipofisários e endócrino periférico (HUSBAND, 1993).

O Sistema Nervoso Autônomo (SNA), através de suas fibras pós-ganglionares noradrenérgicas do sistema nervoso autônomo simpático (SNAS) e colinérgicas do sistema nervoso autônomo parassimpático (SNAP), inerva diretamente os órgãos linfóides primários e os secundários. Os neurotransmissores liberados por essas fibras vão atuar nos linfócitos, nos monócitos / macrófagos e nos granulócitos, os quais possuem receptores para esses neurotransmissores. A atividade das células “natural killer” (NK) também pode ser modulada por β -adrenoreceptores. Os agonistas simpáticos diminuem a produção de anticorpos e da citotoxicidade, enquanto os agonistas parassimpáticos aumentam essas respostas imunes (KRÄMER; CAETANO; CAETANO, 1999).

A possibilidade de as vias simpáticas e as parassimpáticas desempenharem um papel fisiológico durante o curso da imunogênese é fundamentada pela observação de que os receptores beta-adrenérgicos estão presentes em células T, em células B e nos macrófagos (BOURNE et al., 1974), e que essas células, bem como as da medula óssea são capazes de responder à manipulação colinérgica e adrenérgica (BYRON, 1975).

As terminações nervosas do SNAS contactam com as células T, com os monócitos e com as células B. A função dos nervos do SNAS, dentro dos órgãos linfóides, é regulada por produtos de células do SI, enquanto os neurotransmissores (noradrenalina) e os neuropeptídeos (substância P, neurocinina A, dentre outros), liberados pelo SNAS, alteram a resposta das células do SI (ARMASON; SCHORR, 1999).

Por outro lado, o SI produz agentes químicos que atuam sobre o SNC. Besedovsky e Sorkin (1977); Kohm e Sanders (2000), observaram que a ativação do SI era acompanhada por mudanças no hipotálamo e nos sistemas endócrino e autônomo. As citocinas - interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6) e os interferons (IFNs) produzidas pelo SI ativado atravessam a barreira hematoencefálica e constituem vias através das quais o SI se comunica com o SNC, salientando-se que a IL- 1, IL- 2 e IFN influenciam a ativação do eixo HPA.

O sistema límbico é o principal promotor de adaptação do organismo ao ambiente externo. Ele modula as respostas aos estímulos de acordo com experiências passadas, transferindo-as para a situação atual e avaliando seu significado emocional (KIECOLT; GLASER, 1992; PREGER; GAUER; VON MÜHLEN, 1995), através da inter-relação com o eixo HPA. A definição de estresse tenta traduzir a capacidade de resistência do homem aos choques emocionais e as agressões do meio exterior, ou seja, fatores psicológicos, ambientais e fisiológicos que alteram a homeostasia (PETERSON; CHAO; MOLITOR, 1991). Está bem estabelecido que o estresse físico e psicológico altera o funcionamento do sistema imune (RILEY, 1981; ESKOLA et al., 1978;).

Vários estímulos psicológicos, como: luto, privação, aflição, auto-estima diminuída, situações de dor e sofrimento (DEITOS; GASPARY, 1997); ambientais, como: trauma, irradiação, desnutrição, uso de álcool e outras drogas (ADER, 1992), e fisiológicos, como: hormônio feminino, temperatura e idade (DEITOS; GASPARY, 1997; DEITOS; GASPARY; LOPES, 1996), podem precipitar imunodeficiências.

A redução da resposta proliferativa de linfócitos, o prejuízo na síntese de anticorpos e as alterações nas células sanguíneas têm sido associados com luto em homens e macacos (BARTROP et al., 1977); após barulho alto ou superlotação de camundongos em gaiolas (MONJAN; COLLECTOR, 1977); após aplicação de choque elétrico em ratos (LAUDENSLAGER et al., 1983) ou durante exercício físico no homem (HEDFORS et al., 1983).

Alguns indivíduos, após uma situação de estresse, apresentam maior susceptibilidade a doenças infecciosas, carcinomas, maior morbidade e mortalidade em geral, assim como as doenças auto-imunes, a asma brônquica, a retocolite ulcerativa, a artrite reumatóide, o hipertireoidismo, etc. Essa associação mostra uma possível relação entre estados emocionais (estresse, luto e depressão) e alterações imunológicas no sentido de inibição ou ativação (ALBRECHT et al., 1985; ARNETZ et al., 1987).

Um estudo sobre estresse psicológico revelou alterações no número de células mononucleares circulantes bem como nas suas funções (BACHEN et al., 1992; BROSSCHOT et al., 1992; MANUCK et al., 1991). Segundo Sorkin; Del Rey; Besedovsky (1981) e Keller et al. (1983), os hormônios adrenocorticais e os neurotransmissores do SNAS foram postulados como mediadores do efeito imunossupressor do estresse. Os estresses, ambos físico e psicológico (CHROUSOS; GOLD, 1992), agudo e crônico (AKIL; MORANO, apud BLOOM; KUPFER, 1995) resultam na ativação do eixo HPA. A medida basal de cortisol prevê um índice da atividade em repouso do eixo HPA (THAKORE et al., 1999).

Herman e Cullinan (1997), sugeriram que os estressores “processivos” operacionalmente definidos como aqueles que envolvem processos sensoriais, tais como exposição a ambientes novos, condicionamento ao medo e exposição ao predador) e os estressores “sistêmicos” (aqueles que não envolvem processos avaliativos, tais como desafio imune, cardiovascular, e respiratório) efetivamente estimulam a atividade do eixo HPA.

De acordo com Anisman et al. (1998), os estressores processivos são postulados via amígdala, e os estressores sistêmicos envolvem estruturas não límbicas, tais como adeno-hipófise, córtex adrenal. Embora os neurotransmissores e os estressores físicos e emocionais sejam inicialmente considerados como os principais estimuladores do eixo HPA, hoje sabe-se que as moléculas solúveis da resposta inflamatória (histamina, citocina, metabólitos do ácido araquidônico, etc) bem como os lipídios são reconhecidos como potentes ativadores da resposta central ao estresse (MOREIRA, 2003). Nessa interação, observa-se que mediadores imunológicos, ao atuar em neurônios no hipotálamo, levam à liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) no sistema porta-hipofisário, ativando o eixo HPA e, conseqüentemente, levando à produção dos glicocorticóides.

Recentemente foi demonstrado que o CRH é um potente elemento nos processos de adaptações fisiológicas, comportamentais e emocionais decorrentes de agressões do estresse. O CRH promove modificações no organismo, de natureza fisiológica e comportamental, que são indispensáveis aos processos de adaptação. Isso significa que, sem glicocorticóides e catecolaminas, o organismo não se adapta (MOREIRA, 2003).

As evidências sugerem que alguns neurotransmissores, tais como: noradrenalina, vasopressina, substância P, peptídeo intestinal vasoativo, colecistocinina, ocitocina, melatonina (WALDHAUSER; EHRHART; FÖSTER, 1993); neuro-hormônios, como: CRH e hormônios, tais como: corticotropina, corticosteróides, hormônio de crescimento (GH), prolactina, somatostatina, adrenalina, esteróides sexuais (ADER; FELTEN; COHEN, 1990), podem ser afetados pelo estresse e causar modulação do sistema imunológico (ADER; COHEN; FELTEN, 1995; BLACK, 1994; COHEN, 1995).

2.2 Citocinas e comportamento

Evidências mostram que a atividade imune influencia a função do sistema nervoso central e dá suporte à posição de que citocinas, tais como, IL-1, IL-2, IL-4, fator de

necrose tumoral alfa (TNF- α) e neurotransmissores têm papel na regulação da cognição, do afeto e do comportamento. Da mesma forma, o componente central através de neurotransmissores e neurohormônios tem impacto sobre a função imune (BRODERICK; SIMMONS, 2005).

Estudos prévios revelaram que organismos em experimentação com ativação do SI, causada por infecção ou outras patologias, apresentavam alterações no comportamento, tais como: diminuição da atividade e da ingestão de alimento, aumento do sono e redução do ato de limpar. As características comportamentais de animais doentes não são respostas mal adaptativas ou efeitos colaterais de debilitação induzida por patógeno. O comportamento de uma doença se refere a uma estratégia comportamental para suportar as alterações metabólicas e fisiológicas que ocorrem em organismos infectados e no qual ajuda na luta com o patógeno (HART, 1988).

Tem-se observado um esforço substancial para caracterizar os efeitos da doença e a inflamação sobre o comportamento, bem como entender como o SI sinaliza para o SNC a fim de induzir essas alterações comportamentais (LARSON; DUNN, 2001). A generalidade da resposta para infecção e lesão foi nomeada em inglês como “sickness behaviour” (comportamento de doença), cujo comportamento focalizado inclui: mobilidade, congelamento, exploração, interação social, comportamento sexual, função cognitiva e sono (KENT et al., 1992).

O comportamento humano e de outros animais se modifica durante uma infecção. São verificadas mudanças na regulação do sono, temperatura corporal e perda de apetite. Indivíduos com processo infeccioso mostraram inabilidade para o prazer, falta de concentração, fadiga e resposta exagerada a dor. Sugere-se que ações biológicas de citocinas pró-inflamatórias agindo no cérebro possam ser responsáveis pelo comportamento de doença (RUMJANEK; PIUVEZAM; RODRIGUES MASCARENHAS, 2006).

Em animais experimentais, os efeitos comportamentais “comportamento de doença” decorrente da ativação do eixo HPA e ou do desafio imune agudo apresentam similaridade com depressão maior em humanos (KONSMAN; PARNETI; DANTZER, 2002; ANDO; DUNN, 1999). Portanto, a comunicação entre os sistemas endócrino, nervoso e imune tem sido foco maior de pesquisa (BRODERICK; SIMMONS, 2005).

A reação de fase aguda é uma resposta multissistêmica para estímulo inflamatório que é mediada em parte por hormônios derivados de leucócitos conhecidos como citocinas. Evidências indicam que citocinas podem atuar no SNC, no qual coordenam vários componentes da reação de fase aguda, e partes diferentes dessa reação são iniciadas por

mecanismos diferentes e em distintas regiões cerebrais (SAPER; SCAMMELL; ELMQUIST, 1997).

Entre os componentes do SI, as citocinas são consideradas mensageiras ou hormônios secretados por células imunes, os quais têm efeito sobre o tecido não imune. Foi investigado que alterações associadas com infecção e inflamação são induzidas pela IL-1 e, possivelmente, por outras citocinas, tais como IL-6 e TNF- α . Portanto, as citocinas são os maiores mediadores do comportamento de doença, e a IL-1 tem sido um potente agente investigado (LARSON; DUNN, 2001; INUI, 2001; LARSON et al., 2002).

A administração direta de IL-1 no cérebro induz alguns comportamentos de doença, e requer doses menores que as da periférica para causar tais efeitos (BLUTHÉ; DANTZER; KELLEY, 1997). Alternativamente, citocinas podem atuar sobre células endoteliais cerebrais, ativando a via da ciclooxygenase e, conseqüentemente, levando à síntese de prostaglandinas, que ultrapassa a barreira endotelial para penetrar no parênquima cerebral (CAO et al., 1997).

Vias vagais podem ser alvos de citocinas pró-inflamatórias. O nervo vago, que inerva órgãos da cavidade abdominal, contém macrófagos e células dendríticas no perineuro que produzem IL-1 em resposta à injeção intraperitoneal com lipopolissacarídeo (LPS) (GOEHLER et al., 1999). Citocinas produzidas como resultado de infecção local, como por exemplo, nas cavidades abdominal e torácica, podem ativar fibras sensoriais vagais, resultando em comportamento de doença e febre (SAPER; SCAMMELL; ELMQUIST, 1997). Os neurônios sensoriais dos nervos vagais expressam receptores para IL-1, a qual estimula atividade sensorial vagal (EK et al., 1998).

O papel do nervo vago, na transmissão de informação da periferia para o cérebro, tem sido avaliado por experimentos com vagotomia, que são seccionados abaixo do diafragma. Mediante esses experimentos, observou-se que os nervos vagais medeiam, parcialmente, a indução do comportamento de doença tão bem quanto a ativação do tronco cerebral, do hipotálamo e das estruturas límbicas em resposta ao LPS e IL-1 quando administrada periféricamente (DANTZER et al., 2000).

Um aspecto do comportamento de doença freqüentemente notado é a diminuição da atividade exploratória e locomotora. Tem sido mostrado que, nas infecções e inflamações, evidencia-se a diminuição da atividade no campo aberto, cujo efeito é mediado por citocina pró-inflamatória, tal como IL-1 β . Essa alteração pode ocorrer devido à redução geral da atividade motora ou a um efeito específico sobre o comportamento exploratório (YIRMIYA et al., 1995; SWIRGIEL et al., 1999). Entretanto, nem toda citocina produz a

diminuição da atividade, ao contrário, tem sido demonstrado que IL-2 e IL-6 podem aumentar a atividade locomotora em camundongos no campo aberto (ZALCMAN et al., 1998).

Várias investigações do comportamento exploratório têm sido conduzidas usando-se uma câmara multicompartimental, através da qual se verificou que o LPS, a IL-1 α e a IL-1 β diminuíram a exploração em ambientes novos quando administrados intracerebroventricular (icv) (SPADARO; DUNN, 1990) ou periféricamente (DUNN; ANTOON; CHAPMAN, 1991). Contudo, os efeitos evidenciados foram dependentes de medidas específicas da exploração. Por exemplo, IL-1 α ou IL-1 β diminuíram a investigação do estímulo novo, como mostrado pela diminuição do tempo de contato com o estímulo. A mesma dose de IL-1 não diminuiu o número de entradas nos compartimentos. Isso demonstra que nem todos os aspectos da exploração são afetados similarmente por citocinas (SPADARO; DUNN, 1990). As condições ambientais podem ser determinantes nas alterações comportamentais induzidas por doença ou citocinas (LARSON; DUNN, 2001).

A IL-1 é uma importante citocina para o comportamento de doença. A administração periférica e central de IL-1 β induz a uma reação de fase aguda, incluindo febre, ativação do eixo HPA e depressão comportamental, caracterizada por diminuição da atividade exploratória e locomotora (ANFORTH et al., 1998). As vias de sinalização que medeiam os efeitos comportamentais da IL-1 não têm sido bem elucidadas (QUAN et al., 1997). Em contraste, a IL-6 tem atividades pirogênicas e corticotrópicas, mas não, atividade comportamental (LENCZOWSKI et al., 1999).

Pouco é conhecido sobre a associação entre o desafio imune e as possíveis alterações nas funções do sistema comportamental e no SNC. Verificou-se que a produção de citocinas seguida do desafio imune aumenta o sono, diminui a glicose sanguínea, induz a fadiga e afeta a atividade locomotora (DANTZER; KELLEY, 1989). A imunização causa alteração na quantidade de catecolaminas dos tecidos linfóides e no hipotálamo (BESEDOVSKY et al., 1979; 1983). Uma alteração no número de neurônios no hipotálamo tem sido evidenciada em ratos após injeção de antígeno (BESEDOVSKY; DEL REY; SORKIN, 1985). É sugerido que o SI pode atuar como um órgão aferente sensorial para o SNC, sendo o estímulo iniciador da interação na resposta para alteração dentro do SI correspondente ao desafio com antígeno (BLALOCK; SMITH, 1985).

Posteriormente, estabeleceu-se uma sólida base molecular e bioquímica para a comunicação bidirecional entre os sistemas imune e neuroendócrino (BESEDOVSKY; DEL REY, 1996; BLALOCK, 1989). O produto específico de um dos sistemas existe no outro, por

exemplo, citocinas podem ser sintetizadas no SNC, e hormônios como ACTH e TSH podem ser produzidos por células linfóides (BESEDOVSKY; DEL REY, 1996). Essa interação bidirecional atua como importante papel tanto na fisiologia e na homeostasia desses sistemas quanto em vários processos patológicos (ADER; COHEN; FELTEN, 1995).

Estudos prévios mostraram que os pacientes com alergia alimentar apresentam prevalência de ansiedade e / ou depressão mais alta do que os indivíduos saudáveis (ADDOLORATO et al., 1998). Seguidamente, demonstrou-se relação direta entre alergia alimentar e alteração na atividade do SNC, associadas à expressão da resposta comportamental, como ansiedade e aversão. Camundongos imunizados com OVA, após desafio oral com OVA, apresentaram aumento dos níveis de ansiedade, uma vez que eles permaneceram pouco tempo explorando os braços abertos no teste do labirinto em cruz elevado, e se esquivaram de beber solução contendo antígeno. Portanto, a alergia pode modular o comportamento alimentar (PALERMO NETO et al., 2003), bem como, a resposta alérgica influencia na seleção da dieta (BASSO; DE SA-ROCHA; PALERMO-NETO, 2001).

Subseqüentemente, foi mostrado que a OVA dada por gavagem para camundongos alérgicos leva a forte ativação do núcleo paraventricular do hipotálamo e do núcleo central da amígdala, importantes áreas do SNC na mediação dos padrões comportamentais (BASSO et al., 2003). A alteração comportamental e a ativação cerebral são dependentes de IgE (RUSSO et al., 2001), e a administração de anticorpo anti-IgE inibe essa resposta (BASSO et al., 2003).

2.3 Processos Alérgicos - Asma

As reações alérgicas foram classificadas em quatro tipos e receberam o nome genérico de hipersensibilidade a todas as reações em que ocorre resposta imune exacerbada diante de substâncias geralmente inócuas, presentes no meio ambiente ou células próprias alteradas. Essas hipersensibilidades são classificadas em: hipersensibilidade imediata ou tipo I, hipersensibilidade citotóxica ou tipo II, hipersensibilidade do complexo imune ou tipo III e hipersensibilidade tardia ou tipo IV (GELL; COOMBS, 1968 apud GELL; COOMBS; LACHMANN, 1975).

A resposta alérgica pode ser desencadeada por picadas de insetos, ingestão de alimentos ou medicamentos e contato ou inalação de moléculas estranhas ao organismo, as

quais estão presentes na poeira ou ar atmosférico poluído. Outros alérgenos são moléculas presentes em esporos de fungos, fezes de ácaros, escamas de animais domésticos, alimentos, antibióticos, entre outros (SCHERER; LEUNG, 2004; PEDEN, 2005). Atopia e alergia são termos genéricos que confere uma resposta aumentada para alvos ambientais conhecidos como alérgenos (YAZDANBAKHS; BIGGELAAR; MAIZELS, 2001).

A reação de hipersensibilidade imediata pode ocorrer como uma reação sistêmica, conhecida como anafilaxia ou como uma reação local. A reação sistêmica geralmente se segue à inoculação de um antígeno (proteínas estranhas, tais como, anti-soro, hormônios, enzimas, polissacarídeos e antibióticos) no qual o hospedeiro se tornou sensibilizado. Minutos após a exposição, prurido e eritema da pele aparecem, seguidos de dispnéia e rouquidão. Vômitos, cólicas abdominais, diarreia e obstrução da faringe se seguem, e o paciente pode entrar em choque e morrer dentro de uma hora (KEMP; LOCKEY, 2002). O choque anafilático é a forma mais grave de anafilaxia e caracteriza-se por um colapso circulatório associado com sinais cutâneos, respiratórios e gastrointestinais (MONERET-VAUTRIN et al., 2005).

As reações locais de hipersensibilidade do tipo I têm duas fases bem definidas. A fase imediata ou inicial, caracterizada por vasodilatação, extravasamento vascular e, dependendo da localização, contração do músculo liso ou secreções glandulares. Essas alterações geralmente são evidenciadas entre 5 e 30 min após a exposição do alérgeno e costumam enfraquecer após 60 min. Uma segunda reação, fase tardia se instala entre 2 e 24 hs depois, sem que haja exposição adicional ao alérgeno, podendo durar por vários dias. Essa reação de fase tardia se caracteriza por infiltração dos tecidos por eosinófilos, neutrófilos, basófilos, monócitos e células Th2 (COSTA, 1997).

O aumento inexplicável na incidência, prevalência e morbidade das doenças alérgicas como reações de hipersensibilidade tipo I, são responsáveis por uma das maiores preocupações de saúde pública (FOSTER et al., 2002). As patologias alérgicas de grande interesse em saúde pública são classificadas como reações de hipersensibilidade imediata como dermatite atópica, alergia alimentar, rinite e asma alérgica, urticária, choque anafilático (SCHERER; LEUNG, 2004). O número de mortes causadas por reações anafiláticas vem aumentando nas últimas décadas (PUMPHREY, 2004).

A asma teve início desde os tempos remotos, e seu histórico apresenta várias etapas. Na Antiguidade - 2600 a.C. – essa doença foi descrita no livro médico “Teoria do Interior do Corpo”, conhecido como *Nei Ching*, escrito por Huang – Ti, “o imperador amarelo” (SAAVEDRA; COHEN; HUANG, 1991 apud TELES FILHO, 2004). Em 522 - 347

a.C. a asma, palavra grega que significa ofegante, dificuldade na respiração, foi citada pela primeira vez por Homero, Píndaro e Platão (BRENNER, 1999 apud TELES FILHO, 2004). Hipócrates (460 - 370 a.C.) descreveu a asma como um ataque paroxístico, mais severo do que uma dispnéia. A condição espasmódica da asma era comparada a uma convulsão epiléptica, que era vista como um castigo divino. Galeno e Aretaeus (150 a.C.) observaram que a asma era mais freqüente no inverno do que no verão e que ocorria, principalmente, à noite (KEENEY, 1964; MARKETOS; BALLAS, 1982 apud TELES FILHO, 2004).

Na Idade Média, Avicenna (1000 d.C.) descreveu a utilização de plantas aromáticas para o tratamento de asma (MAIMONIDES, 1963 apud TELLES-FILHO, 2004). Na Renascença, foi destacado que o sítio da doença ficava nos brônquios e que a inalação de poeira ou a ingestão de peixe, em certos indivíduos, desencadeava ataques de asma (VAN HELMONT, 1962 apud TELLES-FILHO, 2004). Floyer (1698) apud Telles-Filho, (2004) fez referência à predisposição hereditária da doença.

No século XIX, René Laennec definiu o vocábulo asma como a dificuldade de respirar e estava convencido de que a contração das fibras musculares seria capaz de estrangular as vias aéreas, impedindo a passagem de ar para as grandes áreas dos pulmões. Ele acreditava que os mecanismos da doença consistiam em estimulação nervosa, determinando espasmo dos bronquíolos (WILLIAMS, 1841; LONGET, 1842 apud TELLES-FILHO, 2004). Segundo Williams (1841) apud Telles Filho (2004), revelou que a contração do músculo liso era a provável causa da obstrução das vias aéreas na asma e Cooke (1932) apud Telles Filho (2004) afirmou que a expressão de uma reação alérgica é fundamental em todos os tipos dessa doença.

No século XX, Ricket e Portier (1902) apud Telles Filho (2004), descreveram o fenômeno da anafilaxia e verificaram que todas as substâncias que provocam hipersensibilidade são proteínas *in natura*, que podem ser de origem animal, vegetal ou bactérias. Pirquet (1906) apud Telles Filho (2004) criou o termo “Alergia”, designação do estado de hipersensibilidade causado por exposição a um determinado antígeno, dito alérgeno, sendo observadas reações imunológicas nocivas se houver subseqüentes exposições a esse mesmo alérgeno.

Em 1910, Dale e Laidlaw apud Teles Filho (2004), demonstraram o elo entre histamina e a patogênese das doenças alérgicas. Ellis (1908) apud Teles Filho (2004), descreveu a associação entre eosinofilia sanguínea e pulmonar com a asma, e Walker (1918) apud Teles Filho (2004), relatou que nem todos os asmáticos demonstravam reação cutânea

de hipersensibilidade e propôs a classificação da doença de acordo com a resposta ao teste (desafio antigênico): extrínseca, quando reagia ao teste cutâneo, e intrínseca, quando não.

Prausnitz e Kustner (1921) apud Teles Filho (2004), introduziram dois termos da alergia - sensibilização e reação. Coca e Cooke (1923) apud Teles Filho (2004), atribuíram o termo atopia para descrever a hipersensibilidade aos alérgenos, a qual era dependente da predisposição hereditária. MacDonald (1933) apud Teles Filho (2004), chamou a atenção para o infiltrado eosinofílico das vias aéreas de pacientes que morriam de asma e em 2001, foi identificado o primeiro gene relacionado à asma (TELLES FILHO, 2004).

A asma alérgica é uma doença respiratória crônica, caracterizada por obstrução intermitente das vias aéreas, inflamação eosinofílica, hiperreatividade das vias aéreas e aumento da produção de IgE (MAYR; ZUBERI; LIU, 2003). Segundo Hegele (2000), a asma caracteriza-se por obstrução reversível das vias aéreas, hiperreatividade brônquica não específica e inflamação crônica das vias aéreas. A alteração estrutural, conhecida por remodelamento, ocorre como resultado do desequilíbrio na regeneração do tecido e os mecanismos de reparação (BOUSQUET et al., 2000 apud HUMBLETS et al., 2004).

Os mecanismos que contribuem para o desenvolvimento da asma são complexos e podem variar de acordo com influências geográficas, individuais e sociais (SOUSA-MUCIDA et al., 2003). O aumento epidêmico da asma tem sido atribuído a vários aspectos, a saber: poluição do ar livre, recinto fechado, imunização infantil e condições de higiene (COHN; ELIAS; CHUPP, 2004). A asma é uma das enfermidades da infância, considerada como a principal doença respiratória crônica da criança e do adolescente. Sua importância tanto para o indivíduo quanto para a coletividade decorre do fato de ser uma afecção potencialmente grave, cuja prevalência tem aumentado em todo o mundo, com participação crescente na mortalidade (MAIA et al., 2004).

A asma é considerada do ponto de vista imunológico como uma reação alérgica do tipo imediato. Esta reação é caracterizada por uma subpopulação de células do tipo linfócito Th2 e pelas citocinas secretadas por estas células tais como: IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 e IL-10 (SOUSA-MUCIDA et al., 2003). Por outro lado, a regulação desta reação é realizada por linfócitos do tipo Th1 e pelas citocinas por elas secretadas como IL-2 e IFN- γ (TEIXEIRA et al., 2005). A principal característica dessa resposta Th2 é a indução de anticorpos da classe IgE que se associam a mastócito, basófilos e eosinófilos, ativando-os e induzindo à resposta inflamatória (LARCHÉ; KAY; ROBINSON, 2003).

O aspecto inflamatório da asma é caracterizado pela extensa infiltração da mucosa brônquica de linfócitos e eosinófilos, pelo aumento da produção de muco e pelo

edema da submucosa que leva à hiperplasia do músculo liso e ao remodelamento das vias aéreas. Esse achado celular estrutural correlaciona-se com a clínica da asma, isto é, a obstrução reversível das vias aéreas e a hiperresponsividade brônquica (HAMELMANN; GELFAND, 2001).

O processo de remodelamento é caracterizado por fibrose subepitelial das vias aéreas, que contribui para o espessamento das paredes devido à deposição de colágeno, tipos I, III e IV, de fibronectina e de outras proteínas da matriz extracelular, tais como tenascina e laminina; e, pelo aumento da massa do músculo liso das vias aéreas e pela excessiva secreção de muco decorrente da hiperplasia das células caliciformes (HUMBLES et al., 2004). A espessura da parede das vias aéreas varia de 10 % a 300 % do normal, levando à redução do diâmetro do lúmen (HOMER; ELIAS, 2000; ROBERTS et al., 1997). Em biópsia brônquica e em fluido do lavado bronco-alveolar de pacientes asmáticos, números aumentados de células T ativadas foram encontrados e associados com a severidade da doença (ROBINSON et al., 1993).

Estudos revelaram que as citocinas do perfil Th2 e fator de crescimento tumoral beta (TGF- β) têm induzido fibrose subepitelial. Os eosinófilos apresentam potente papel no desenvolvimento do remodelamento das vias aéreas. A eosinofilia na mucosa brônquica tem sido associada com o espessamento da membrana basal, e essas células são capazes de secretar mediadores fibróticos (HUMBLES et al., 2004).

Os mastócitos são células chave durante a fase imediata das alergias através da degranulação pela ligação cruzada do alérgeno com IgE no Fc ϵ RI (receptor de IgE de alta afinidade), culminando na liberação maciça de mediadores pré-formados, tais como, histamina com potente e rápido efeito sobre os vasos sanguíneos e brônquios. Isso explica a maioria dos sintomas experimentados pelos pacientes asmáticos durante a fase imediata (MADDOX; SCHWARTZ, 2002).

A inflamação das vias aéreas é causada, principalmente, por infiltração de leucócitos e pela liberação de uma diversidade complexa de mediadores inflamatórios (KROEGEL et al., 1994). O mecanismo fisiopatológico dessa doença tem sido alvo de intensas investigações, o qual inclui anormalidades de neurotransmissores colinérgicos, não colinérgicos e não adrenérgicos (NANC) tão bem quanto à disfunção dos β - receptores sobre o músculo liso das vias aéreas (BARNES, 1989). A inflamação periférica tem sido implicada com alterações na atividade cerebral e no comportamento, influenciando o resultado de vários fenômenos biológicos (STEINMAN, 2004).

Weinstock (1992), demonstrou que órgãos com alta densidade de receptores de neuropeptídios, como o intestino e o pulmão, são mais susceptíveis a inflamação. Joos (1995), mostrou o envolvimento de neuropeptídeos nas reações alérgicas (substância P, neurocinina A) liberados por terminações nervosas da mucosa brônquica, relacionando uma via colinérgica mediada entre os sintomas asmáticos e os fatores psicossociais.

As fibras sensoriais do tipo C, sensíveis à capsaicina, encontradas dentro do epitélio, ao redor dos vasos, e as glândulas submucosas, dentro do músculo liso brônquico, contêm substância P e neurocinina A, que podem ser liberadas na inflamação crônica (VAN der VELDEN; HULSMANN, 1999). Esses neuropeptídios modulam o tônus do músculo liso brônquico e da migração de leucócitos nas vias aéreas de diferentes espécies de animais (JOOS et al., 1996; NALINE et al., 1996; FAYON et al., 1994). Os níveis de substância P estão aumentados no lavado brônquico alveolar de indivíduos asmáticos (NIEBER et al., 1992). A substância P vem sendo extensivamente estudada e considerada o mais potente membro da família das taquicininas. É um neurotransmissor na condução de estímulo nociceptivo e um modulador da neuroimunoregulação (BLACK, 1994; GILBERT; PAYAN, 1991).

Os nervos, somático (fibras do tipo C) e autonômico (fibras simpáticas e parassimpáticas), estão intimamente associados com células inflamatórias, incluindo os mastócitos, que parecem atuar como células nervosas em algum sentido (PURCELL; ATTERWILL, 1995). As fibras nervosas, notavelmente, os neurônios sensoriais que contêm substância P, estão anatomicamente próximas de células inflamatórias, especialmente, os mastócitos (MCKAY; BIENNESTOCK, 1994; MIYAN; DOWNING, 2000), o que dá suporte importante na interação entre essas estruturas em alguns tecidos (WILLIAMS; BERTHOUD; STEAD, 1997). Essa comunicação é bidirecional: despolarização de nervos seguido da degranulação de mastócitos e a ativação de mastócitos seguido da despolarização de nervos (KIERNAN, 1990). Existe evidência de um papel de “feedback” entre mastócitos e nervos, particularmente as fibras do tipo C na modulação da rede imunoneuroendócrina (THEOHARIDES, 1990).

O componente emocional pode influir no desencadeamento das crises, na persistência ou no agravamento durante as crises ou nos períodos intercríticos e na resistência ao tratamento (DEITOS; GASPARY, 1997). Doenças infecciosas como tuberculose e gripe estão relacionadas às condições psíquicas conscientes e inconscientes dos indivíduos (MELLO, 1992). Cada vez mais se ressalta a importância do inconsciente, porque os seus conflitos são causas comuns de imunossupressão (JANSON et al., 1994).

Apesar de numerosos relatos indicando vários aspectos de que o funcionamento imune pode ser influenciado por estressores (ANISMAN et al., 1997), é considerado que o impacto dos estressores sobre o funcionamento imune pode ser dependente de características do estressor empregado (severidade, ocorrência, cronicidade e controlabilidade) tão bem quanto várias experiências (experiências anteriores com estresse agudo e crônico) e fatores orgânicos, tais como: idade, sexo, espécie e linhagem de animais (KELLER; SCHLEIFER; DEMETRIKOPOULOS, 1991 apud ADER; FELTEN; COHEN, 1991a; KUSNECOV; RABIN, 1994; RINNER et al., 1992).

Tem sido demonstrada forte associação entre sintomas respiratórios e indicadores de estados psicológicos (CLARK; STARR-SCHNEIDKRAUT, 1994; HYLAND; FINNIS; IRVINE, 1991; JANSON et al., 1994; MELLO, 1992). O que torna a asma um problema fascinante sob a perspectiva psiconeuroimunológica é que, por mais que fatores genéticos aumentem o risco de expressão da doença, existem claros fatores ambientais que parecem ser necessários para sua expressão clínica (ADER; FELTEN; COHEN, 1991b).

Alterações no estado emocional e níveis aumentados de ansiedade estão comumente associados com crises de asma (LAWRENCE, 2002; LEHRER; ISENER; HOCHRON, 1993). A angústia, associada com a doença crônica recorrente, pode ser responsável pela geração patológica da ansiedade em pacientes que sofrem de asma a longo prazo (DAHLEN; JANSEN, 2002; RIETVELD; EVERAERD; CREER, 2000).

A percepção da asma pelos pacientes com doença a longo tempo pode influenciar sua perspectiva relativa à qualidade de vida. Entender a modulação da emoção sobre o SI, bem como o SI sobre o comportamento é relevante para as decisões sobre a terapêutica no controle da doença, mas também para a melhora das desordens psicológicas associadas com alergia crônica (COSTA-PINTO; BASSO; MOMTCHILO, 2007).

Atualmente, existem quatro classes de drogas usadas no tratamento da asma: glicocorticóides, por sua potente ação antiinflamatória; agonistas β_2 -adrenérgico, pela broncodilatação; teofilina e seus derivados, usados no broncoespasmo e na inflamação; inibidores e antagonistas de leucotrienos, como drogas broncodilatadoras e antiinflamatórias (SAMPSON et al., 2000). Os anticolinérgicos podem também ser usados como broncodilatadores, entretanto, eles são menos potentes do que os β_2 -agonistas (PIGNATTI, 2004).

O tratamento dirigido para a asma tem como objetivos aliviar os sintomas, manter a função normal dos pulmões e prevenir exacerbações com o mínimo de efeitos colaterais. Como a patogênese inflamatória e o papel da ativação de célula Th2 na asma têm

sido claros, os agentes antiinflamatórios tornaram-se a primeira linha de terapia dessa doença (COHN; RAY, 2000).

Várias linhas de conduta terapêutica são elegidas para o tratamento da asma. A terapia tradicional corresponde primeiramente aos esteróides, (os glicocorticóides) os quais continuam sendo a primeira linha de terapia para asmáticos com sintomas moderados ou severos. Quando dados por via sistêmica ou localmente por inalação, exercem seus efeitos antiinflamatórios sobre vários tipos de células (COHN; RAY, 2000). Portanto, corresponde à mais potente droga antiinflamatória usada no tratamento da asma (PIGNATTI, 2004).

Os glicocorticóides se ligam ao receptor hormônio esteróide no citosol, que se transloca para o núcleo e modula a expressão de diferentes genes (RAY; ZHANG; RAY, 1995). Um dos efeitos mediados por esse receptor é o antagonismo do NF- κ B (RAY; PREFONTAINE, 1994). Tem sido mostrado que os glicocorticóides modulam as células LT CD4⁺ nas vias aéreas, levando à diminuição da expressão de RNAm para IL-4, IL-5 e IL-13, com aumento na expressão de RNAm para IFN- γ (ROBINSON et al., 1993).

O efeito antiinflamatório dos esteróides resulta na redução da produção de citocinas (IL-4, IL-5 e IL-13), das quimiocinas pró-inflamatórias e de outros mediadores inflamatórios, tais como: eicosanóides, produtos derivados de eosinófilos, moléculas de adesão e células dendríticas no trato respiratório (BARNES, 1999).

O segundo lugar na terapia tradicional da asma são os β -agonistas, que representam a droga broncodilatadora mais importante usada no tratamento da asma e é, ao mesmo tempo, a mais prescrita (PIGNATTI, 2004). O mecanismo molecular da ação dos β -agonistas sobre o músculo liso é bem elucidado. O receptor β_2 sobre o músculo liso das vias aéreas leva a um aumento na ciclase de adenilil e no AMP cíclico intracelular. Esse aumento promove o relaxamento do músculo liso, inibindo a broncoconstrição (COHN; RAY, 2000). Paralelamente ao efeito broncodilatador dos β -agonistas na asma, também foram relatados efeitos antiinflamatórios (JOHNSON, 1991), incluindo a redução dos mediadores inflamatórios liberados pelos mastócito e pelo eosinófilo “*in vitro*” (CHURCH; HIROI, 1987). Entretanto, tem sido relatado que β -agonistas não têm efeitos antiinflamatórios *in vitro* (GARDINER et al., 1994; BOULET et al., 1997).

Outros estudos demonstraram que o tratamento, a longo prazo, com β -agonistas pode ter efeitos deletérios sobre a resposta das vias aéreas. Causam um aumento na hiperreatividade brônquica, e a resposta tardia é mais pronunciada, sugerindo um efeito pró-inflamatório dessa terapia. Em estudos com animais, observou-se que o salbutamol aumentou

a produção de IgE em camundongos sensibilizados com antígenos e, *in vitro*, aumentou a produção de IL-4, IL-5, e não de IFN- γ (COQUERET et al., 1994; FEDYK et al., 1996).

Em adição à terapia tradicional da asma, a terceira categoria consiste das Cromonas. O mecanismo de ação do cromolim sódio e nedocromil sódio na asma é a prevenção da liberação de mediadores de mastócitos (LEUNG et al., 1988), neutrófilos, eosinófilos e monócitos (KAY et al., 1987). O cromoglicato de sódio é efetivo em bloquear os efeitos de IL-4 sobre plasmócitos produtores de IgE, levando à redução da produção de IgE *in vitro* (KIMATA; MIKAWA, 1993; LOH et al., 1994). Outro mecanismo de ação das cromonas parece bloquear a via específica Th2 e pode diminuir a atividade de mastócitos e eosinófilos (COHN; RAY, 2000).

Novas linhas de conduta terapêutica foram eleitas para o tratamento da asma (COHN; RAY, 2000) e correspondem a terapias que bloqueiam citocinas tipo Th2 e terapias que estimulam as citocinas tipo Th1. Como parte da conduta no bloqueio de citocinas de perfil Th2, encontram-se as seguintes linhas de tratamento: o recombinante solúvel de IL-4 inalado - que se liga e sequestra IL-4, impedindo a ligação com o receptor de IL-4, como também inibe a sinalização de IL-13 (BORISCH et al., 1999). As IL-4 e IL-13 têm sido consideradas importantes para a diferenciação Th2, a produção de IgE, a eosinofilia das vias aéreas e a hiperresponsividade brônquica. A IL-13 parece ser a mais importante na produção de muco e hiperresponsividade das vias aéreas (COHN et al., 1999).

O inibidor solúvel da IL-13 - neutralizante de IL-13 - é efetivo no tratamento da asma. Em modelos animais, o inibidor da IL-13 reduziu a eosinofilia, a produção de muco e a hiperresponsividade das vias aéreas. Tem papel menos importante na diferenciação Th2, supressão de IFN- γ e produção de IgE, porém é potente estímulo na produção de muco e na hiperresponsividade das vias aéreas (BARNER et al., 1998; GRUNING et al., 1998).

O anti-IL-5 - estudos com animais mostraram que a inibição da IL-5, com anticorpos neutralizantes, reduziu a eosinofilia das vias aéreas (NAKAJIMA et al., 1992). O bloqueio do recrutamento de eosinófilos nas vias aéreas resulta na diminuição da inflamação.

O GATA-3 - da célula T é identificado como fator de transcrição. São expressos nos progenitores de linfócito T e na ausência o desenvolvimento do linfócito T é interrompido. Está envolvido na subpopulação de Th2, que controla todas as citocinas-chaves (ZHANG et al., 1999). O inibidor de GATA-3 tem mostrado efeitos benéficos na asma, tais como: inibição da geração de Th2 e redução na produção de IL-4, IL-5 e IL-13 (COHN; RAY, 2000).

Dentro da terapia que estimula citocinas do tipo Th1, encontram-se a imunoterapia para alérgeno e a vacinação. A imunoterapia para alérgeno é um tratamento efetivo em algumas alergias, como para veneno de abelha e pólen de grama. Porém os resultados na asma têm sido inconsistentes (BOUSQUET; DEMDY; MICHEL, 1997).

O mecanismo pelo qual a injeção subcutânea de alérgeno purificado melhora alergias não é bem definido. A imunoterapia reduz a inflamação por diminuir ambos mastócitos e eosinófilos, produção de histamina e a IgE. Estudos de imunoterapia com pólen de grama para doença na pele atópica e rinite alérgica mostrou uma redução na fase tardia e acumulação de eosinófilo na pele e mucosa nasal. Esses efeitos foram associados com aumento na produção de IFN- γ e expressão do gene e, em alguns casos diminuição na produção de IL-4 e IL-5 (COHN; RAY, 2000).

A vacinação, induz resposta Th1 no pulmão, podendo ser alternativa na imunoterapia para alérgeno, objetivando melhorar as alterações patológicas na asma. Existem evidências de que efeitos imunomodulatórios da vacinação têm sido gerados no trato respiratório após resposta imune Th2, inibindo, assim, a inflamação alérgica (COHN; RAY, 2000).

Com o aumento do reconhecimento do papel dos leucotrienos (LTs) como importante mediadores inflamatórios, novas terapias com alvos em LTs têm sido desenvolvidas. Farmacologicamente, existem duas vias para inibir a ação de LTs: primeiro, através do bloqueio da via 5-lipooxigenase, cujo alvo é a enzima 5-lipooxigenase ou o bloqueio da ativação da proteína ativadora da 5-lipooxigenase, e assim inibindo a síntese; segundo, através do bloqueio da interação do LTs cisteinil (CysLTs) com seus receptores (HOLGATE; BRADDING; SAMPSON, 1996). Ambos os tipos de compostos inibem a sobrevivência de eosinófilos por induzir apoptose (LEE et al., 2000).

Os LTs correspondem a um grupo de mediadores lipídicos que são derivados do ácido araquidônico via 5-lipooxigenase (PETTERS-GOLDEN, 1998). O CysLTs compreende os LTC₄, LTD₄ e LTE₄, que são produzidos por diferentes tipos de células, incluindo os mastócitos (MACGLASHAN et al., 1982) e os macrófagos (WILLIAMS; CZOP; AUSTEN, 1984). Essas células são residentes nas vias aéreas e capazes de liberar CysLTs, que desempenham um papel significativo na inflamação das vias aéreas (PIGNATTI, 2004).

2.4 Aspectos Botânicos, Químicos e Etnofarmacológicos de *Sida cordifolia* L.

A família Malvaceae é constituída por cerca de 120 gêneros e aproximadamente 2.000 espécies (FUERTES, 1993; BRUMMITT, 1992), ocorrendo em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, sendo restrita às Américas (CRONQUIST, 1988). Dentre os gêneros da família Malvaceae, estão a *Pavonia*, *Hibiscus* e *Abutilon* (FUERTES, 1993) e a *Sida* Linn (DAWAR; ALI; QAISER, 1996; SIVADASAN; ANIL-KUMAR, 1996; FRYXELL, 1985).

O gênero *Sida* L. foi estabelecido por Linnaeus (1753), sendo considerado o terceiro mais diverso e complexo da família Malvaceae, compreende cerca de 250 espécies em todo o mundo (CRONQUIST, 1981; FRYXELL, 1985; FUERTES, 1993). Fryxell (1985), reagrupou todas as espécies do gênero *Sida* L. em onze seções distintas, inclusive o *Cordifoliae*, baseado na forma e na margem da lâmina foliar, morfologia do cálice, os carpídios e o número cromossômico.

A seção *Cordifoliae* compreende representantes pantropicais e neotropicais. De acordo com Fryxell (1985) e Fuertes (1993), pelo menos sete espécies existem na América do Norte. Dentre elas, a *Sida cordifolia* que apresenta distribuição ampla, de origem pantropical, ocorrendo ao longo das Américas e no Velho Mundo, na África, Ásia e Oceânia. A seção *Cordifoliae* é amplamente representativa nas regiões Nordeste e Sul e, em menor grau, na região Norte, no Centro-Oeste e no Sudeste (BARACHO, 1998). No Brasil, a *Sida cordifolia* é uma espécie nativa da região do Nordeste, popularmente conhecida como “Malva Branca” ou Malva - branca - sedosa (Figura 1)



Figura 1. Foto de *Sida cordifolia* Linn (MALVACEAE).

Essa planta é caracterizada por se apresentar como arbusto ou sub-arbusto (0,5 - 2 m de altura), ramificado com caules cilíndricos e revestidos por pêlos e folhas verde-claras, simples, cordiformes, oval-oblongadas e com margens serreadas. Suas flores são pendunculadas, dispostas em racemos axilares ou terminais (BARACHO, 1998).

Análises fitoquímicas das folhas de *Sida cordifolia* têm demonstrado a presença de aminas simpatomiméticas, efedrina, pseudoefedrina (potente vasoconstrictor), vasocinona (GHOSAL; CHAUHAN; MEHTA, 1975) e vasicina, sendo esta última o alcalóide de maior teor (GUNATILAKA et al., 1980). A *Sida cordifolia* contém, principalmente, alcalóides, óleos, esteróides, resina, ácidos de resina, mucina e nitrato de potássio (DIWAN; KANTH, 1999).

Segundo Chopra (1982), a efedrina foi identificada como o principal alcalóide. Análises recentes revelam que a efedrina e a y-efedrina constituem a maioria dos alcalóides das partes aéreas. Das raízes e das partes aéreas também foram obtidos os 6-feniletilamina, as triptaminas carboxiladas, os alcalóides quinazolina, a hipaforina, a vasicina e o vasicinol em quantidades variáveis (GHOSAL; CHAUHAN; MEHTA, 1975).

No Brasil essa planta é usada na medicina popular para o tratamento de estomatites, blenorragia, asma, bronquites e congestão nasal (BALBACH, 1978). Na Índia, a *Sida cordifolia* é usada na Ayurveda (Sistema Indiano de Medicina) para atividades antireumática e antipirética (MUZAFFER, 1991). O efeito demulcente e laxativo é relatado com as sementes. Nas raízes, foram encontradas propriedades diuréticas e tônicas. A raiz também é utilizada nas desordens do sistema nervoso para hemiplegia e paralisia facial (RASTOGI; MALHOTRA, 1985; THE WEALTH OF INDIA, 1972).

Vários estudos farmacológicos mostram que *Sida cordifolia* apresenta diversas atividades biológicas, dentre as quais destacam-se a laxativa e diurética (RASTOGI; MALHOTRA, 1985), a antiinflamatória e analgésica (KANTH; DIWAN, 1999; FRANZOTTI et al., 2000), a hipoglicêmica (KANTH; DIWAN, 1999), a antiasmática, a descongestionante nasal (BALBACH, 1978), a antiviral (HATTORI et al., 1995), a bactericida (BOILY; PUYVELDE, 1986), a antifúngica (VIJAYALAKSHIMI; MISHRA; PRASAD, 1979) e a capacidade regenerativa do fígado (ANTONIOLLI et al., 2006).

O extrato aquoso de *Sida cordifolia* mostrou interferência na via ciclooxigenase (biossíntese de prostaglandina), mas não na via lipooxigenase. Esse fato levou a sugerir que o extrato de *Sida cordifolia* apresenta propriedades analgésicas e anti-inflamatórias por interferir com a via ciclooxigenase (FRANZOTTI et al., 2000). Recentemente, Franco et al. (2005), demonstraram que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Sida cordifolia* induziu diminuição da atividade locomotora sem interferir na coordenação motora, mostrando, assim, um efeito depressor do SNC.

Muito se tem a estudar acerca dos produtos naturais. Atualmente, estima-se que aproximadamente 420.000 espécies existem na natureza (VUORELA et al., 2004), e menos que 10 % foram investigadas com vista ao descobrimento de propriedades terapêuticas. Segundo outras estimativas, esse percentual de plantas pesquisadas é menor, inferior a 0,5 % (FERREIRA, 1998).

O interesse em investigar os produtos de plantas com atividade sobre o sistema imune se justifica devido a possíveis aplicações em vários processos fisiopatológicos, tais como: asma, artrite, infecção e outros.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Contribuir para o estudo científico de plantas e substâncias bioativas dando ênfase a interação entre o SNC e SI.

3.2 Específicos

- Analisar a resposta comportamental em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com ovalbumina;
- Investigar os efeitos do extrato hidroalcoólico bruto de *Sida cordifolia* L. no perfil comportamental e imunológico em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com ovalbumina;
- Avaliar os efeitos do diazepam, dexametasona e salbutamol no perfil comportamental e do diazepam e salbutamol na resposta imunológica em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com ovalbumina

4. ANIMAIS

Para a realização dos experimentos, foram utilizados camundongos isogênicos da linhagem BALB/c, machos, com 6 – 8 semanas, pesando entre 20 – 25 g, e ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos, pesando entre 150 – 200 g, com aproximadamente três meses de idade. Todos os animais foram provenientes do Biotério Prof. Dr. Thomas George, no Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais (NPPN) do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “Prof. Delby Fernandes de Medeiros” (LTF/UFPB).

No biotério, os animais eram alojados em gaiolas de polietileno, contendo cinco ratos ou 20 camundongos em cada gaiola, mantidos sob condições monitoradas de temperatura equivalente a 21 ± 1 °C, com livre acesso a uma dieta controlada, à base de ração tipo *pellets* (Purina) e água disponível em garrafas de polietileno com bico de inox, colocadas na parte superior da grade metálica da gaiola. Os animais eram mantidos em ciclo claro / escuro de 12 hs, sendo a fase clara de 06h00 às 18h00, e a fase escura de 18h00 às 06h00. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) do LTF/UFPB quanto ao uso dos animais experimentais (Parecer N^o 1101/03).

Os animais foram transferidos para a sala de experimentos, sem alimento e água, no mínimo, com 30 min de antecedência à realização dos testes, que eram realizados nos horários compreendidos entre 08h00 e 12h00, visando minimizar as possíveis alterações na resposta comportamental do animal bem como a adaptação ao novo ambiente. A cada troca de animal, o local era higienizado com álcool a 30 % para evitar qualquer interferência de possíveis resíduos deixados por outro animal (VÁZQUEZ-FREIRE; LAMELA; CALLEJA, 1994).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Material botânico

As folhas de *Sida cordifolia* L. (MALVACEAE) foram coletadas no horto botânico da Universidade Federal de Sergipe (UFS), na cidade de Aracaju, no Estado de Sergipe. A identificação da planta foi realizada pelo Setor de Botânica do Departamento de Biologia da mesma Universidade, e seu exemplar (exsicata nº 30171) foi depositado no Herbário do Departamento de Biologia da UFS e registrado pelo botânico Dr. C Dias Silva Jr.

5.2 Substâncias

Todas as substâncias utilizadas neste estudo estão relacionadas no Quadro 1, abaixo, com as respectivas doses ou concentrações empregadas, e foram preparadas antes dos experimentos e administradas por via intraperitoneal (i.p.) ou via oral (v.o.), no volume de 0,1 mL/10 g de peso de camundongo e 0,1 mL / 100 g de peso de rato, exceto os animais tratados com salbutamol, que foram tratados por via subcutânea (s.c.). As doses de EHSc foram preparadas a partir do extrato bruto e diluídas em solução de NaCl 0,9 % ou água destilada.

Quadro 1. Relação das substâncias utilizadas nos estudos farmacológicos.

NOME	FONTE	DOSE / CONCENTRAÇÃO
Azul de Evans	Sigma (EUA)	1 %
Cloreto de sódio	Merck (Brasil)	0,9 %
Diazepam	CEME (Brasil)	0,5 mg/kg
Dexametasona	Sigma (EUA)	0,1 mg/kg
EHSc	LTF / UFPB	100, 200, 400 mg/kg
Éter	Lafari (Brasil)	50 %
Hidróxido de alumínio	Vetec	2,25 mg/kg
Ovalbumina	Sigma (EUA)	10 µg
Salbutamol	Sigma (EUA)	5, 10, 20 mg/kg
Tiopental	Cristália (Brasil)	45 mg/kg

5.3 Equipamentos

5.3.1 Placa perfurada

O aparelho de placa perfurada (Ugo Basile-Itália, modelo 6650) é uma plataforma de formato quadrado, medindo 40 x 40 cm, contendo 16 orifícios de 3 cm de diâmetro, acoplados a fotocélulas sensíveis ao mergulho da cabeça do animal, as quais são conectadas à central que registra, de forma cumulativa, o número de mergulhos e contém dispositivos para ligar e zerar o aparato. Essa estrutura é posicionada a 18 cm do balcão, através de dois suportes localizados nas duas laterais do mesmo (Figura 2).

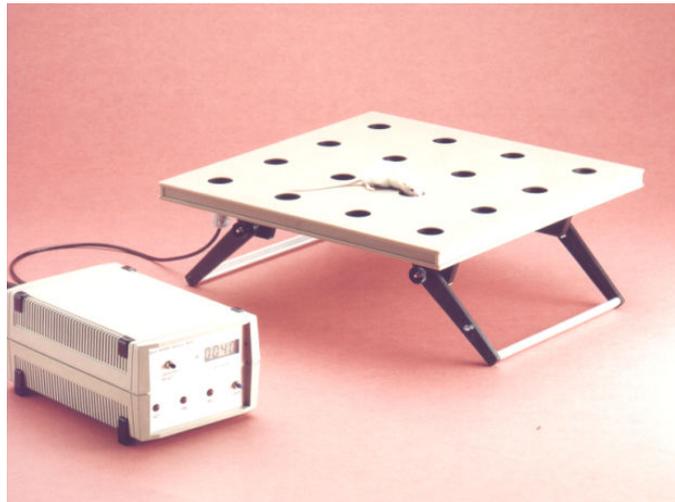


Figura 2. Aparelho de placa perfurada.

5.3.2 Labirinto em cruz elevado

Confeccionado em madeira, esse aparelho possui dois braços fechados, medindo 50 cm de comprimento por 10 cm de largura, com paredes de 40 cm de altura e dois braços abertos medindo cerca de 50 cm de comprimento por 10 cm de largura e paredes de 2 cm dispostos alternadamente, num ângulo de 90°, com uma plataforma no centro medindo 18 x 18 cm. Esse aparato é colocado sobre um suporte (34 x 34 cm), com 50 cm elevado do solo (Figura 3).

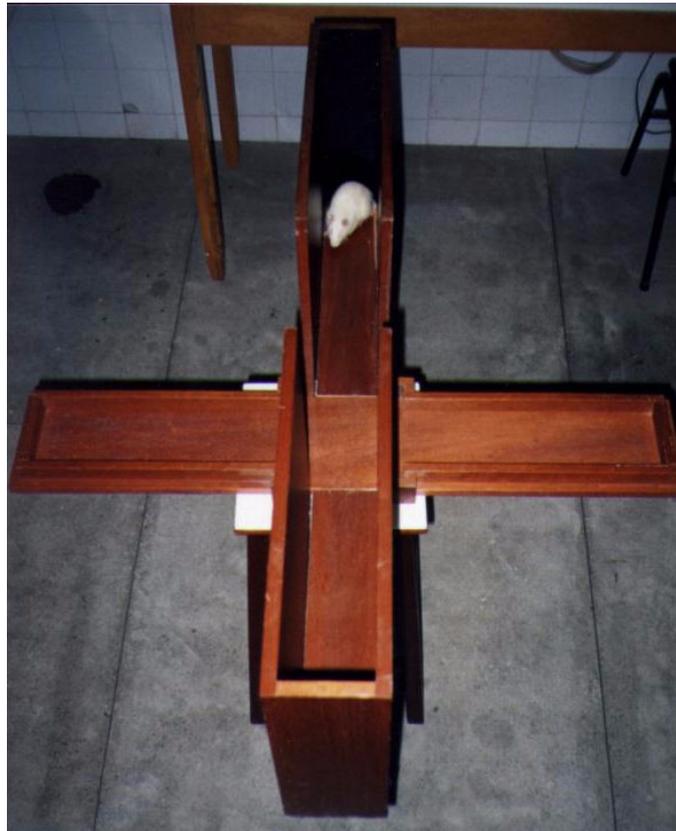


Figura 3. Aparelho do labirinto em cruz elevado.

5.4 Metodologias

5.4.1 Processo para a obtenção do extrato hidroalcoólico das folhas de *Sida cordifolia* L. (EHSc)

As folhas da *Sida cordifolia* L. foram desidratadas em estufa a 40 ± 1 ° C, trituradas em moinho especial e guardadas em frascos estéreis. Após serem pulverizadas, essas folhas foram submetidas à extração em Soxhlet com etanol a 70 %, com temperatura em torno de 50 °C por 72 hs. Depois de filtrado, o material foi concentrado em rotavapor a 50 ± 5 °C por 48 hs, fornecendo um produto viscoso de cor verde-escura. Esse material, denominado de extrato hidroalcoólico, foi submetido à liofilização por 8 hs, fornecendo assim o EHSc, com um rendimento de 17,8 % (Figura 4)

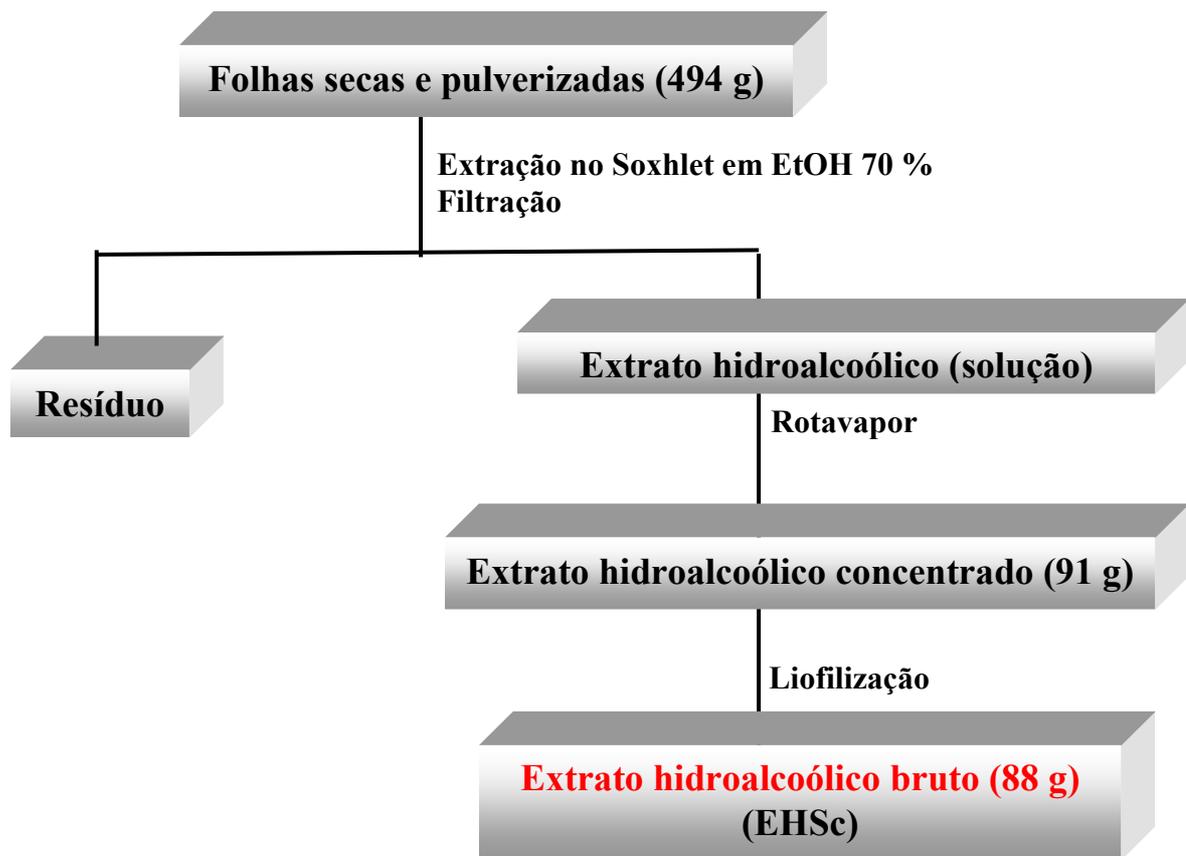


Figura 4. Processo para a obtenção do Extrato Hidroalcoólico Bruto a partir das partes aéreas de *Sida cordifolia*.

5.4.2 Triagem farmacológica comportamental

A triagem farmacológica comportamental ou avaliação dos efeitos gerais é o primeiro passo para se pesquisar a ação de determinada droga ou extrato de planta medicinal e também nos indica alguma possível atividade farmacológica (MATTEI; FRANCO, 2006). Essa metodologia possibilita o direcionamento do estudo psicofarmacológico para a utilização de testes que levem à caracterização do efeito específico.

A ação farmacológica caracteriza-se por efeito no SNC, efeito autonômico e morte. Os sinais comportamentais sugestivos de ação no SNC podem ser: estimulantes - agressividade, ambulação aumentada, convulsões, tremores, autolimpeza, levantar,

irritabilidade, vocalização, saltos, entre outros; ou depressores - ambulação diminuída, analgesia, resposta ao toque diminuída, ataxia, catatonía, sedação, reflexo de endireitamento e etc. Os efeitos autonômicos correspondem à cianose, constipação, defecação, diarreia, micção, respiração, força para agarrar, piloereção, lacrimejamento e tônus muscular. Outro efeito diz respeito a evidencia de mortes (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006 apud ALMEIDA, 2006).

Nessa metodologia, foram utilizados camundongos BALB/c (n = 8), divididos em grupos: controle tratado com veículo - salina (i.p.) ou água destilada (v.o.) e experimental (droga teste) - tratado com EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, via i.p. ou v.o. Os animais foram tratados e colocados em gaiolas de arame para observação. O tempo total de observação foi de 24 hs para o n sendo os sinais anotados nos intervalos de 30, 60, 120, 180 e 240 min.

5.4.3 Protocolo de sensibilização e desafio com OVA

O protocolo de sensibilização foi realizado no 1º e 14º dias com 0,5 mL (i.p.) de uma suspensão contendo 10 µg de OVA em 2,25 mg de hidróxido de alumínio – Al (OH)₃ (OSHIBA et al., 1996). A suspensão foi preparada pesando-se 1 mg de OVA, que foi dissolvida em 10 mL de solução salina. Essa solução foi diluída para se obterem 20 µg/mL, em seguida, 45 mg de Al (OH)₃ foram dissolvidos nesta última solução e inoculada em cada animal.

Na realização desse protocolo, foram utilizados grupos de camundongos BALB/c (n = 8) tratados com EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, administradas por vias i.p. ou v.o.; DZP (0,5 mg/kg, i.p.), DEX (0,1 mg/kg, i.p.) ou SBL (5 mg/kg, s.c.). Após 1 h dos respectivos tratamentos, os camundongos BALB/c foram sensibilizados com a suspensão de OVA (i.p.).

Os animais tratados com salina e que receberam a suspensão de OVA foram considerados grupo controle positivo (OVA), enquanto que os tratados com salina ou água e que receberam salina 0,9 % (i.p.) ou água destilada (v.o.), ao invés da suspensão de OVA, foram considerados grupo controle negativo (salina ou água).

No 21º dia de sensibilização, os camundongos BALB/c dos grupos: controle positivo (OVA) e experimentais - EHSc (100, 200 ou 400 mg/kg, i.p. ou v.o.); DZP (0,5

mg/kg, i.p.), DEX (0,1 mg/kg, i.p.) ou SBL (5 mg/kg, s.c.) - foram tratados e, 1 h depois dos tratamentos foram desafiados por inalação intranasal (i.n.) sob um fluxo contínuo, com aerossol de OVA 1 % durante 40 minutos, em uma câmara fechada, através do nebulizador (RANDOLPH et al., 1999). Os grupos controles negativos (salina ou água) não sensibilizados com OVA receberam o desafio com aerossol de salina.

5.4.4. Metodologias para avaliar os efeitos comportamentais e imunológicos do EHSc, DZP, DEX ou SBL em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA.

A interação entre o SNC e o SI foi investigada através do perfil comportamental e da resposta imunológica respectivamente. A seqüência dos protocolos encontra-se descrita na Figura 5 objetivando uma melhor compreensão da complexa rede de interação.

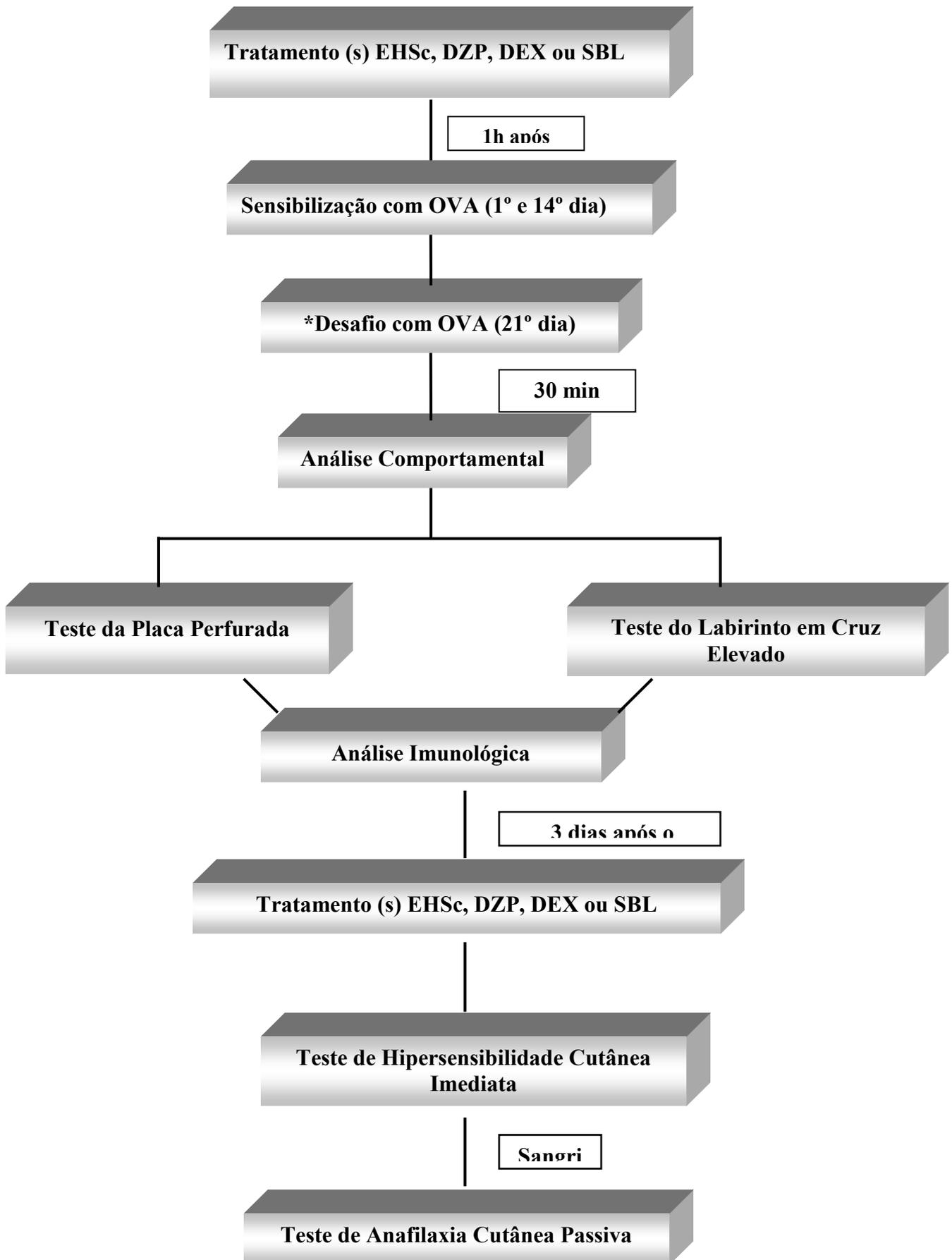


Figura 5. Sequência dos procedimentos experimentais utilizados na verificação da interação do SNC e SI.

5.4.4.1 Teste da placa perfurada

O teste da placa perfurada foi introduzido, primeiramente, por Boissier e Simon (1962; 1964), que ofereceram um método simples para medir a resposta de um animal em ambiente não familiar. Baseia-se na observação de que a atividade de mergulhos dos animais é inversamente proporcional ao estado de “ansiedade” dos mesmos (FILE; WARDILL, 1975). Esse teste tem como objetivo avaliar a emocionalidade, a ansiedade e/ou a resposta por estresse em animais (RODRIGUEZ; BROITMAN; FOSCOLO, 1987), e suas vantagens é que vários comportamentos podem ser realmente observados e quantificados, promovendo uma descrição compreensiva do comportamento exploratório do animal (TAKEDA; TSUJI; MATSUMIYA, 1998).

Camundongos BALB/c (n = 8) dos grupos: controle negativo (salina ou água); controle positivo (OVA) e experimentais - EHSc (100, 200 ou 400 mg/kg, i.p. ou v.o.), DZP (0,5 mg/kg, i.p.), DEX (0,1 mg/kg, i.p.) ou SBL (5 mg/kg, s.c.) foram tratados e após 30 min do desafio com salina ou OVA, os animais dos respectivos grupos foram colocados individualmente no centro da placa, onde, por um período de 5 min, registrou-se a locomoção ou ambulação através do número de quadrados percorridos (SILVA; ELISABETSKY, 2001) e a atividade exploratória através do número de mergulhos (MONNIER; LALONDE, 1995). Antecedendo a exposição de cada camundongo, o aparato era higienizado com solução de etanol a 30 % (GRAEFF et al., 1996).

5.4.4.2 Teste do labirinto em cruz elevado

O teste Labirinto em Cruz Elevado foi utilizado por Handley e Mithani, em 1984, para rato e Pellow em 1985, para camundongo a partir de um modelo criado por Montgomery, em 1955 (PEREZ et al., 1998). Esse modelo baseia-se no conhecimento de que ratos e outros roedores evitam locais abertos e elevados. Quando neles confinados, mostram sinais de medo (congelamento, defecação e micção) e aumento do nível plasmático do hormônio do estresse - cortisona (GRAEFF; GUIMARÃES, 2000).

É largamente usado em modelo animal de ansiedade (GRAEFF et al., 1996; HOGG, 1996), e seu objetivo é verificar os possíveis efeitos ansiolíticos ou ansiogênicos das

substâncias, uma vez que drogas ansiolíticas levam o animal ao aumento do número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, enquanto que as drogas ansiogênicas induzem ao aumento dos mesmos parâmetros nos braços fechados (PELLOW et al., 1985; LISTER, 1987).

Camundongos BALB/c (n = 8) dos grupos: controle negativo (salina ou água); controle positivo (OVA) e experimentais - EHSc 100, 200 ou 400 mg/kg, i.p. ou v.o.), DZP (0,5 mg/kg, i.p.); DEX (0,1 mg/kg, i.p.) ou SBL (5 mg/kg, s.c.) foram tratados e após 30 min do desafio com salina ou OVA, os animais desses grupos foram colocados, individualmente, no centro do aparelho e, durante 5 min, observou-se o índice de ansiedade através dos parâmetros: número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos (PELLOW et al., 1985; LISTER, 1990; RATES et al., 1996; GUARALDO et al., 2000). A entrada do animal era definida quando ele colocava as quatro patas dentro do mesmo braço (VASSILIEFF et al., 1998). A cada troca de animal procedia-se à limpeza do aparelho (MONNIER; LALONDE, 1995).

5.4.4.3 Teste de hipersensibilidade cutânea imediata

A reação de hipersensibilidade cutânea imediata é, freqüentemente, evidenciada na pele, no nariz e na conjuntiva de indivíduos atópicos. Essa reação se inicia dentro de minutos do desafio antigênico (ZWAIMANN, 1995).

Três dias após o desafio com aerossol de salina 0,9 % ou OVA 1 %, os camundongos BALB/c (n = 16) dos grupos: controle negativo (salina ou água), controle positivo (OVA), experimentais - EHSsc (100, 200 ou 400 mg/kg, i.p. ou v.o.), DZP (0,5 mg/kg, i.p.) ou SBL (5 mg/kg, s.c.) e padrão - DEX (0,1 mg/kg, i.p.) foram tratados e, após 1 h dos respectivos tratamentos, os animais receberam injeções de 20 µL, via subcutânea (s.c.), de salina, na pata direita, e 20 µL de uma solução de OVA 20 mg/mL na pata esquerda. As patas direita e esquerda do animal foram medidas individualmente antes das inoculações (medida basal – 0) e após 30, 60 e 120 min, dos respectivos tratamentos. As medidas das patas (mm) foram realizadas com a ajuda de um paquímetro (FACINCONE et al., 1997).

5.4.4.4 Teste de anafilaxia cutânea passiva

Após a última leitura da medida das patas no teste de hipersensibilidade cutânea imediata, camundongos BALB/c dos grupos selecionados foram anestesiados com éter etílico e sangrados pelo plexo braquial com o auxílio de pinça e tesoura. O sangue foi coletado com pipeta de Pasteur, transferido para tubos do tipo ependorff, e levado à geladeira com inclinação de 45 ° para facilitar a retração do coágulo e a obtenção do soro. Após 24 hs o sangue foi centrifugado a 1800 rpm durante 5 minutos para obtenção das amostras de soro. Estas foram então coletadas, aliquotadas, etiquetadas e congeladas à 20 °C até a realização do teste de anafilaxia cutânea passiva.

Anticorpos IgE são detectados no soro de animais sensibilizados. As amostras de soro de camundongos BALB/c (n = 16) dos grupos: controle positivo (OVA), experimentais - EHSc (100, 200 ou 400 mg/kg, i.p. ou v.o.), DZP (1 mg/kg, i.p.) ou SBL (20 mg/kg, s.c.) e padrão - DEX (1 mg/kg, i.p.) foram descongeladas e diluídas em salina 0,9 % - 1:2 até 1:512 com razão 2. Da mesma forma, os soros de animais dos grupos controle negativo (salina ou água) também passaram pelos mesmos procedimentos.

As diluições de soro (50 µL) foram inoculadas em diferentes sítios dos dorsos de ratos Wistar previamente depilados. Após 48h00, os ratos foram anestesiados com tiopental (45 mg/kg, i.p.), e as caudas lavadas com água e sabão para realizar o desafio antigênico. Para tal, injeta-se uma solução do corante Azul de Evans 1% e 2,0 mg/kg de OVA (0,5 mL) na veia da cauda do animal. Após 30 min, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, e o diâmetro das manchas formadas no dorso foi medido com o auxílio de uma régua. O título de Ig OVA-específica foi determinado pela maior diluição do soro capaz de promover mancha mensurável - ≥ 5 mm (HOLT et al., 1981).

5.4.4.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm e.p.m. e testados com análise de variância (ANOVA) seguida pelo Teste de Dunnett's e o Teste "t" de Student não pareado e

considerado significativos quando apresentaram um valor de $p < 0,05$. Todos os dados foram analisados com o software Graph Pad Prism versão 3,02.

6 RESULTADOS

6.1 Efeito do EHSc na triagem farmacológica comportamental

Os camundongos BALB/c tratados com EHSc na dose de 100 mg/kg via i.p. apresentaram discreta sedação e redução da ambulação aos 60 e 120 min. Os animais tratados com EHSc, nas doses de 200 ou 400 mg/kg (i.p.), mostraram aumento de sinais depressores do S.N.C. com evidência de sedação. Entretanto, o tratamento com EHSc, nas doses de 100, 200, 400 mg/kg (v.o.), induziu discretos sinais depressores do SNC, com redução da ambulação. O QUADRO 2 mostra o resumo das principais alterações comportamentais observadas em camundongos tratados com EHSc, administrado por via i.p. Já o QUADRO 3 destaca as principais alterações comportamentais observadas em animais tratados por v.o.

Quadro 2. Efeito do EHSc administrado via i.p. na triagem farmacológica comportamental em camundongos BALB/c.

Dose (mg/kg)	Tempo (min)	Principais efeitos comportamentais observados
100	30	Diminuição da ambulação
	60	Discreta sedação, Analgesia, diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	120	Discreta sedação, Analgesia, diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	180	Analgesia, diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	240	Sem efeito
200	30	Diminuição da ambulação
	60	Sedação, analgesia, diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	120	Sedação, analgesia, diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	180	Sedação, diminuição da ambulação e da resposta ao toque diminuída
	240	Discreta diminuição da ambulação
400	30	Diminuição da ambulação
	60	Sedação, analgesia, diminuição da ambulação e da resposta ao toque diminuída
	120	Sedação, analgesia, diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	180	Sedação, diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	240	Discreta diminuição da ambulação

Quadro 3. Efeito do EHSc administrado v.o. na triagem farmacológica comportamental em camundongos BALB/c.

Dose (mg/kg)	Tempo (min)	Principais efeitos comportamentais observados
100	30	Discreta diminuição da ambulação
	60	Diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	120	Diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	180	Discreta diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	240	Sem efeito
200	30	Diminuição da ambulação
	60	Diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	120	Redução da ambulação e da resposta ao toque
	180	Discreta diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	240	Sem efeito
400	30	Diminuição da ambulação
	60	Diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	120	Redução da ambulação e da resposta ao toque
	180	Diminuição da ambulação e da resposta ao toque
	240	Discreta diminuição da ambulação

6.2 Efeito da OVA no perfil comportamental

6.2.1 Efeito da OVA no teste da placa perfurada

Conforme os parâmetros analisados: número de mergulhos e de quadrados percorridos, a sensibilização e desafio com OVA em camundongos BALB/c induziu diminuição significativa do número de mergulhos ($19,3 \pm 2,1$) quando comparado com os grupos controle negativo salina ($35,8 \pm 3,1$) ou água ($34,6 \pm 3,7$) após 30 min do desafio com OVA (Figura 6 A). Evidenciou-se também que a sensibilização com OVA induziu redução significativa do número de quadrados percorridos ($7,6 \pm 0,8$) quando comparado com os grupos controles - salina ($16,7 \pm 2,5$) ou água ($14,4 \pm 1,7$) após 30 min do desafio com OVA (Figura 6 B).

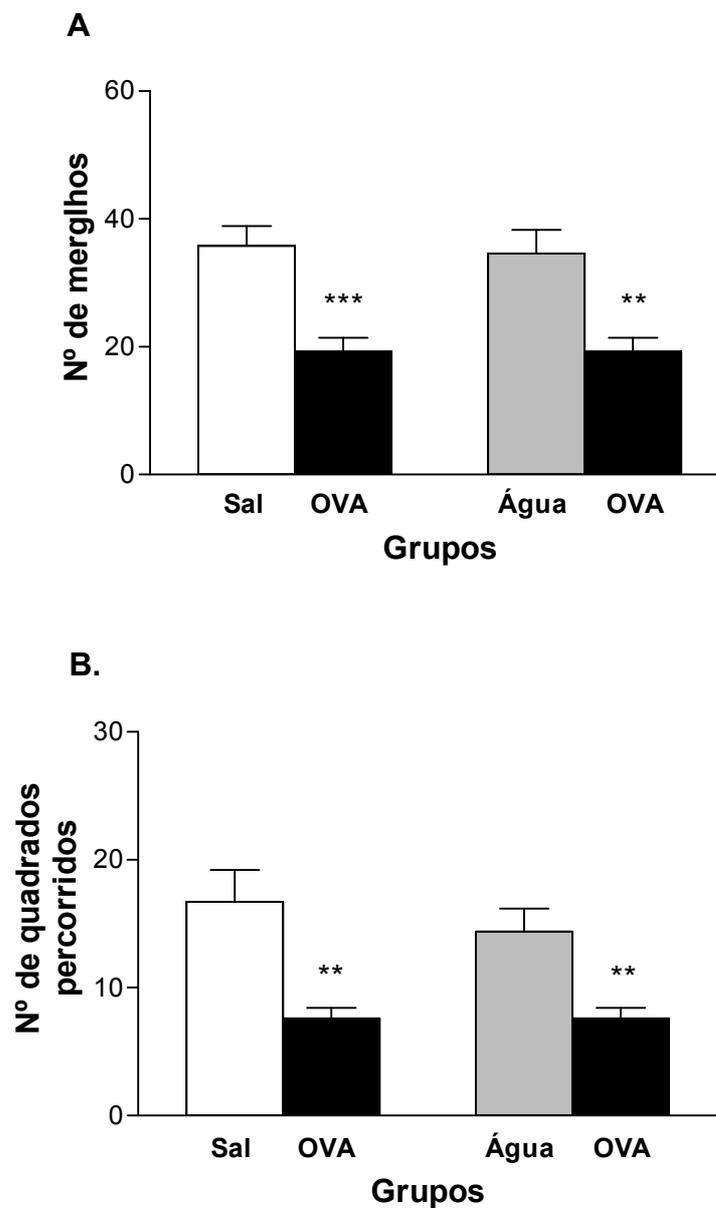


Figura 6. Efeito da OVA sobre a atividade exploratória e locomotora no teste da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. O número de mergulhos (A) e o número de quadrados percorridos (B) foram avaliados em grupo de animais tratados com salina e sensibilizados com OVA (OVA) vs grupo salina ou água aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 8$). Valores de ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparados com o grupo salina ou água (Teste “t” de Student não pareado).

6.2.2 Efeito da OVA no teste do labirinto em cruz elevado

Para confirmar os dados prévios sobre o perfil comportamental de doença, induzido pela OVA em camundongos BALB/c, realizado no teste da placa perfurada, seguiu-se com o teste do labirinto em cruz elevado para analisar o índice de ansiedade desses animais. Os animais do grupo OVA apresentaram diminuição significativa ($p < 0,05$) do número de entradas nos braços abertos ($2,0 \pm 0,6$), quando comparado com os animais dos grupos controles salina ($8,0 \pm 1,2$) ou água ($5,5 \pm 1,3$) (Figura 7 A). Da mesma forma, os animais do grupo OVA, apresentaram redução significativa ($p < 0,01$) do tempo de permanência nos braços abertos ($1,5 \pm 0,5$ s) vs grupo controle salina ($82,8 \pm 22,1$ s) ou água ($50,0 \pm 18,4$ s) aos 30 min, após o desafio com OVA (Figura 7 B).

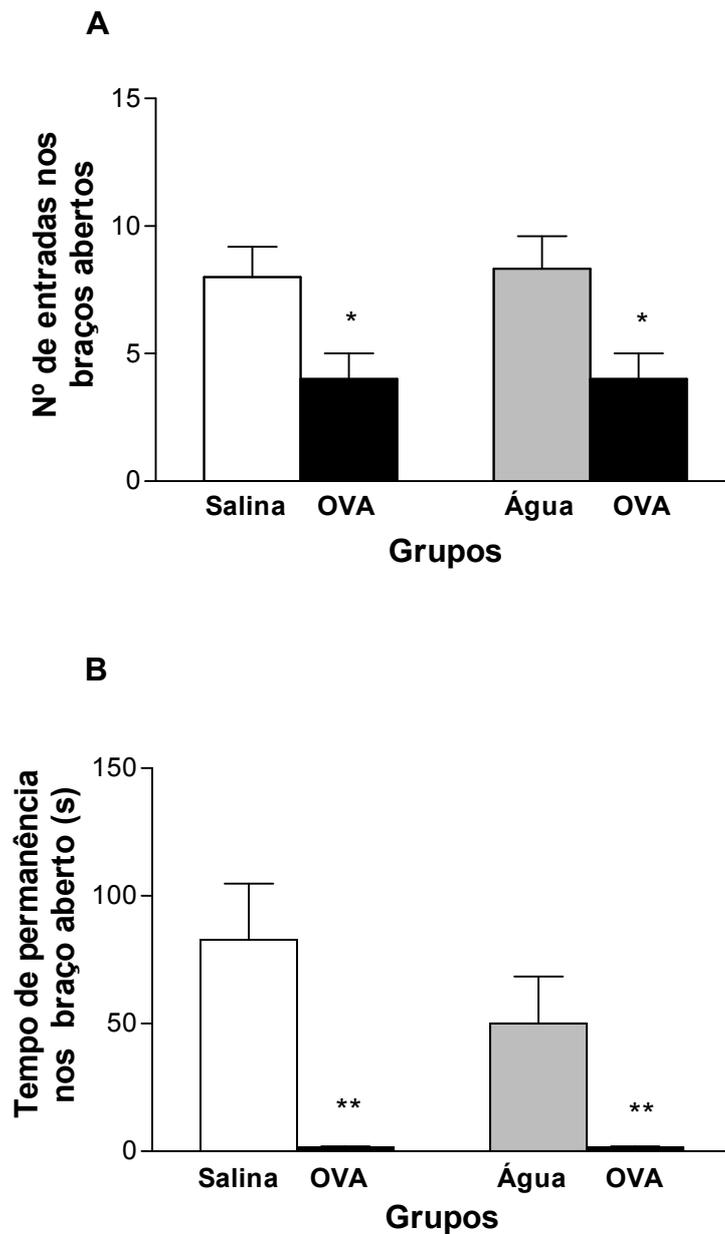


Figura 7. Efeito da OVA sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. O número de entradas (A) e o tempo de permanência nos braços abertos (B) foram avaliados em grupo de animais tratados com salina e sensibilizados com OVA (OVA) vs grupo salina ou água aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 8$). Valores de * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ foram considerados significativos quando comparados com o grupo salina ou água (Teste “t” de Student não pareado).

6.3 Efeitos do EHSc nas metodologias comportamental e imunológica em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA

6.3.1 Efeito do EHSc no teste da placa perfurada

Os animais tratados com EHSc nas doses de 100 ou 200 mg/kg (i.p.) e sensibilizados com OVA não apresentaram diferenças significativas, quanto ao número de mergulhos em relação ao grupo não tratado OVA. Contudo, os animais tratados com EHSc na dose de 400 mg/kg (i.p.) apresentaram aumento da atividade exploratória com valores significativos ($p < 0,001$) observados através do número de mergulhos ($37,6 \pm 4,5$) quando comparado com o grupo OVA ($19,3 \pm 2,1$) após 30 min do desafio com OVA (Figura 8 A). Contudo, os animais tratados com EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg (i.p.) não apresentaram diferenças significativas do número de quadrados percorridos em relação ao grupo OVA (Figura 8 B).

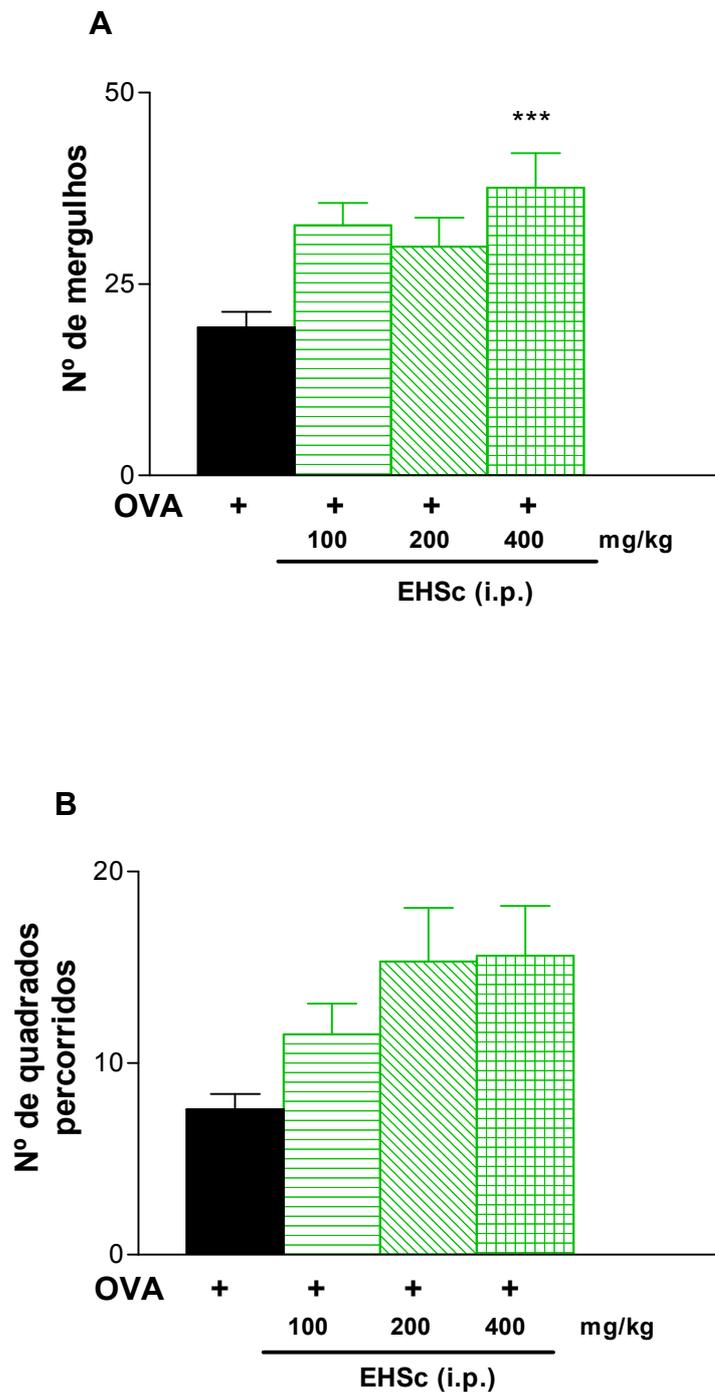


Figura 8. Efeito do EHS nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, via i.p. sobre a atividade exploratória e locomotora no teste da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Camundongos foram tratados com EHS 1 h antes de cada sensibilização e desafio com OVA. O número de mergulhos (A) e o número de quadrados percorridos (B) foram avaliados em grupo de animais tratados com EHS vs grupo OVA aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 8$). Valores de *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

Uma vez realizado o estudo com o EHSc administrado por via i.p., iniciou-se a investigação do EHSc administrado por via oral. Observou-se que camundongos BALB/c, tratados com EHSc nas doses de 100 ou 200 mg/kg (v.o.) e sensibilizados com OVA, não mostraram diferenças significativas do número de mergulhos em relação ao grupo OVA. Entretanto, o tratamento com a dose de 400 mg/kg (v.o.) induziu ao aumento significativo ($p < 0,001$) do número de mergulhos com $39,9 \pm 5,6$ vs grupo OVA com $19,3 \pm 2,1$ depois de 30 min do desafio com OVA (Figura 9 A).

Por outro lado, os camundongos BALB/c tratados com EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg (v.o.) não apresentaram diferenças significativas do número de quadrados percorridos em relação ao grupo OVA após 30 min do desafio com OVA (Figura 9 B).

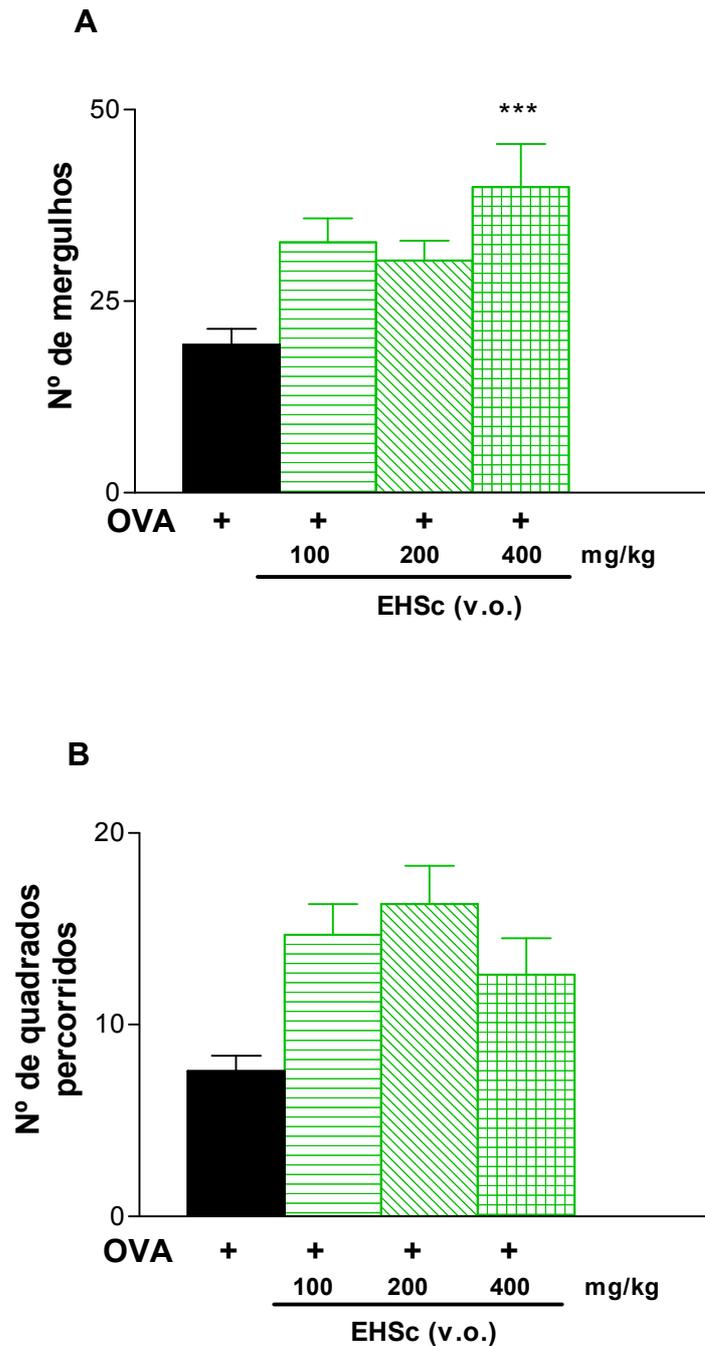


Figura 9. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, v.o. sobre a atividade exploratória e locomotora no teste da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Camundongos foram tratados com EHSc 1 h antes de cada sensibilização e desafio com OVA. O número de mergulhos (A) e o número de quadrados percorridos (B) foram avaliados em grupo de animais tratados com EHSc vs grupo OVA aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 8$). Valores de *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

6.3.2 Efeito do EHSc no teste do labirinto em cruz elevado

Os camundongos BALB/c sensibilizados e tratados com EHSc, na dose de 100 ou 200 mg/kg (i.p.), apresentaram aumento significativo ($p < 0,001$; $p < 0,05$ respectivamente) do número de entradas nos braços abertos ($6,8 \pm 1,1$; $4,9 \pm 0,8$) quando comparados com o grupo OVA ($2,0 \pm 0,6$), aos 30 min após o desafio com OVA. Contudo, os animais tratados com EHSc, na dose de 400 mg/kg (i.p.), não apresentaram diferenças significativas vs grupo OVA (Figura 10 A).

Evidenciou-se também que o tratamento com EHSc, nas doses de 100 ou 200 mg/kg (i.p.), induziu ao aumento significativo ($p < 0,05$) do tempo de permanência nos braços abertos com valores de $83,0 \pm 22,4$ s; $72,1 \pm 27,1$ s respectivamente, quando comparado com o grupo OVA, cuja média foi $1,5 \pm 0,5$ s, após 30 min do desafio com OVA. Por outro lado, a dose de 400 mg/kg (i.p.) não induziu diferença estatística desse parâmetro vs grupo OVA (Figura 10 B).

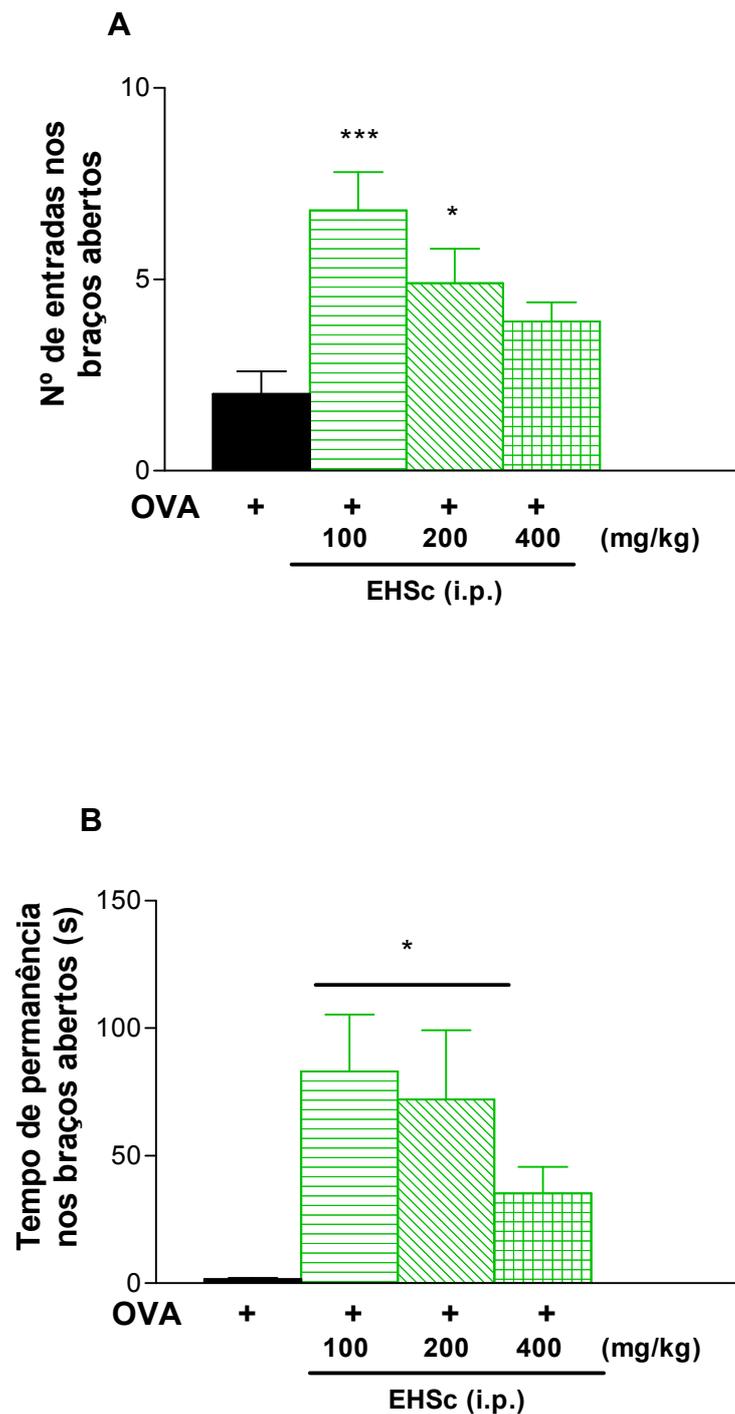


Figura 10. Efeito do EHS nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, via i.p. sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Camundongos foram tratados com EHS 1 h antes de cada sensibilização e desafio com OVA. O número de entradas (A) e tempo de permanência (B) nos braços abertos foi avaliado em grupo de animais tratados com EHS vs grupo OVA aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 8$). Valores de * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

Dando continuidade aos experimentos direcionou-se para a avaliação do EHSc administrado por via oral. Os camundongos BALB/c, tratados com EHSc, nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg (v.o.) sensibilizados com OVA, apresentaram aumento significativo ($p < 0,001$) do número de entradas nos braços abertos com valores de $7,4 \pm 0,6$; $7,4 \pm 1,0$; $6,5 \pm 0,8$ respectivamente, quando comparados ao grupo OVA, com $2,0 \pm 0,6$, após 30 min do desafio com OVA (Figura 11 A).

Nos animais tratados com EHSc, nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg (v.o.), também foi evidenciado aumento de forma significativa ($p < 0,001$) do tempo de permanência nos braços abertos ($112,3 \pm 23,0$ s; $75,3 \pm 8,4$ s; $75,6 \pm 12,6$ s) respectivamente, em relação ao grupo OVA, com $1,5 \pm 0,4$ s após 30 min do desafio com OVA (Figura 11 B).

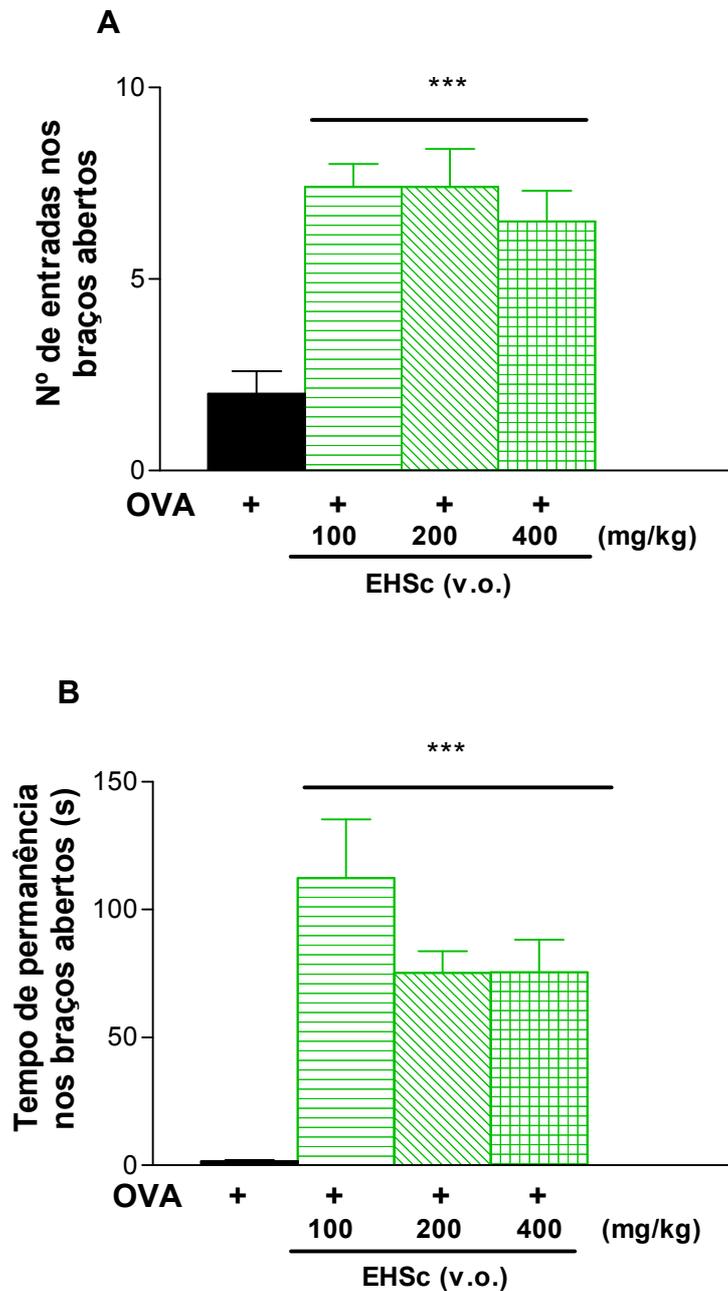


Figura 11. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, v.o. sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Camundongos foram tratados com EHSc 1 h antes de cada sensibilização e desafio com OVA. O número de entradas (A) e o tempo de permanência (B) nos braços abertos foi avaliado em grupo de animais tratados com EHSc vs grupo OVA aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 8$). Valores de *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

6.3.3 Efeito do EHSc no teste de hipersensibilidade cutânea imediata

Camundongos BALB/c sensibilizados com OVA apresentaram aumento significativo ($p < 0,001$) do diâmetro de patas aos 30 ($30,9 \pm 3,6$); 60 ($27,0 \pm 2,9$) e 120 min ($25,1 \pm 1,8$) quando comparados com os animais do grupo controle negativo (Salina) não sensibilizado aos 30 ($6,75 \pm 1,0$); 60 ($5,2 \pm 1,4$) e 120 min ($7,6 \pm 2,0$), após inoculação da OVA

O tratamento com EHSc, administrado por via i.p., reduziu de forma significativa ($p < 0,001$) o diâmetro de pata nas doses de 100 mg/kg aos 30 ($11,7 \pm 2,1$), 60 ($5,8 \pm 1,3$) e 120 min ($4,1 \pm 1,2$); 200 mg/kg aos 30 ($9,8 \pm 1,3$), 60 ($8,4 \pm 1,3$) e 120 min ($5,8 \pm 1,2$) e 400 mg/kg aos 30 ($20,1 \pm 2,0$), 60 ($13,8 \pm 1,8$) e 120 min ($13,2 \pm 1,6$) quando comparado com o grupo OVA (Figura 12 A).

O tratamento com EHSc, administrado por v.o., também atenuou de forma significativa ($p < 0,001$) o edema de pata nas doses de 100 mg/kg, aos 30 ($13,5 \pm 1,6$), 60 ($8,3 \pm 1,6$) e 120 min ($8,9 \pm 1,5$); 200 mg/kg, aos 30 ($10,0 \pm 2,3$), 60 ($12,5 \pm 2,1$) e 120 min ($7,4 \pm 1,2$) e 400 mg/kg, aos 30 ($15,6 \pm 2,4$), 60 ($10,6 \pm 1,9$) e 120 min ($9,4 \pm 1,6$) em relação ao grupo OVA, após inoculação de OVA (Figura 12 B).

Da mesma forma, os animais do grupo padrão tratados com DEX na dose de 0,1mg/kg apresentaram redução significativa ($p < 0,001$) aos 30 min ($7,3 \pm 1,6$), 60 ($6,3 \pm 1,6$) e 120 min ($3,8 \pm 1,1$) quando comparado com o grupo OVA ($30,9 \pm 3,6$ – 30 min; $27,0 \pm 2,9$ – 60 min; $25,1 \pm 1,8$ – 120 min) após a inoculação da OVA.

Os valores do tempo basal dos grupos Salina, OVA, EHSc (100, 200 ou 400 mg/kg, i.p. ou v.o.) e DEX (0,1 mg/kg) não apresentaram diferenças estatísticas quanto ao diâmetro das patas (dado não mostrado).

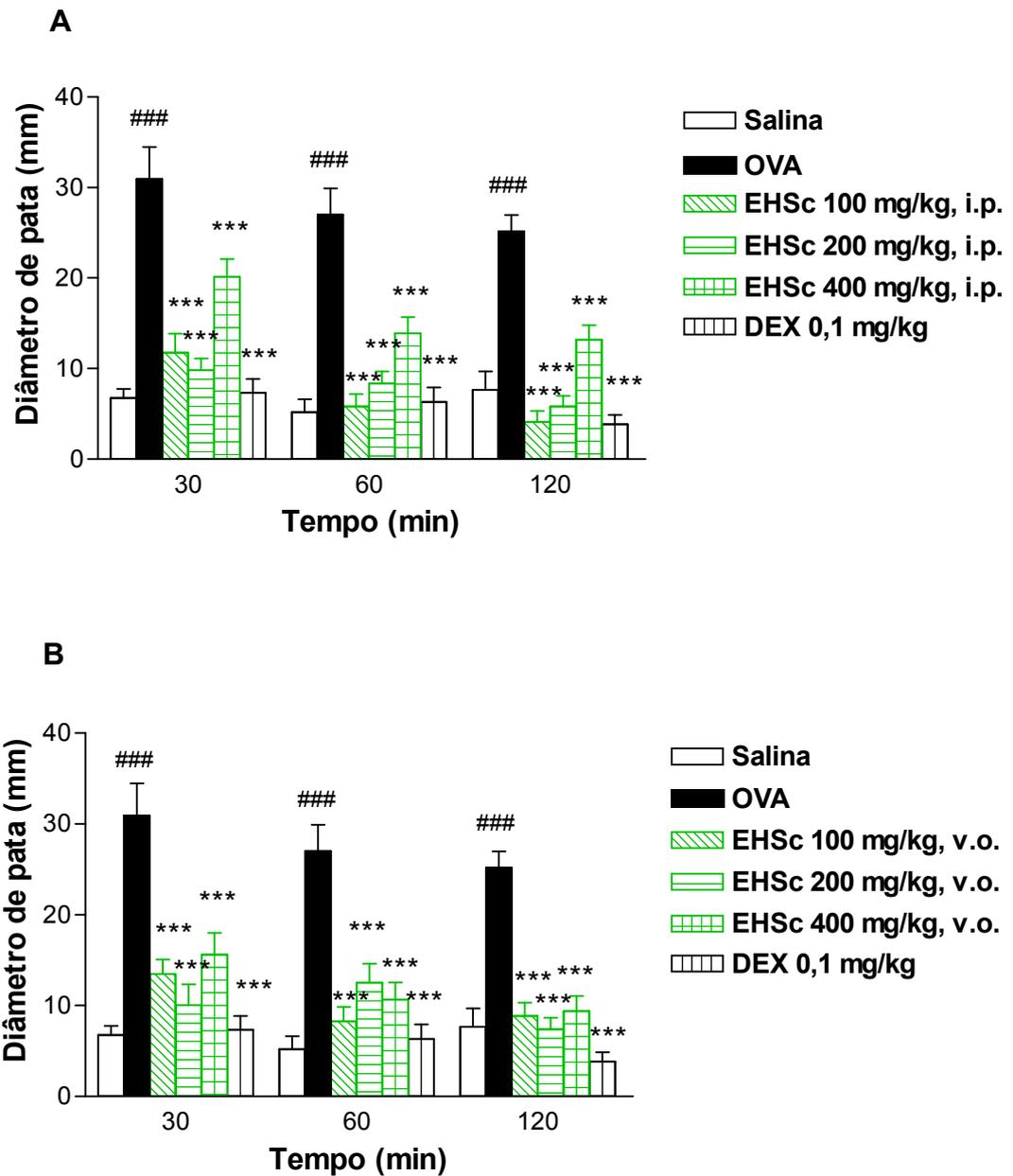


Figura 12. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, nas vias i.p. e v.o. sobre o edema de pata no teste de hipersensibilidade cutânea imediata em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Após as sensibilizações, os camundongos foram tratados com EHSc ou DEX 1 h antes do desafio com injeção de 20 μ L OVA (20 mg/kg) na pata esquerda e salina na pata direita. O edema de pata foi avaliado em grupo de animais tratados com EHSc administrado por via i.p. (A) ou v.o. (B) vs grupo OVA nos tempos de 30, 60 e 120 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. (n = 16). Valores de ### p < 0,001 foram considerados significativos quando comparados com o grupo salina (Teste “t” de Student não pareado); ***p < 0,001 quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

6.3.4 Efeito do EHSc no teste de anafilaxia cutânea passiva

Animais do grupo salina não apresentaram título de anticorpo específico ao antígeno (dado não mostrado). Entretanto camundongos BALB/c sensibilizados com OVA mostraram elevado título de IgE OVA-específica ($365,7 \pm 48,1$).

O tratamento com EHSc, nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg (i.p.), induziu à inibição significativa ($p < 0,001$) do título de IgE OVA-específica com valores de $17,7 \pm 8,9$; $14,6 \pm 3,6$; $28,8 \pm 13,0$ respectivamente, quando comparado ao grupo OVA (Figura 13 A). Da mesma forma, nos animais tratados com EHSc, nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg (v.o.), houve inibição significativa ($p < 0,001$) do título de IgE OVA-específica, com valores de $70,1 \pm 21,6$; $86,5 \pm 43,8$; $18,6 \pm 10,5$ respectivamente, quando comparado ao grupo OVA (Figura 13 B).

Os animais do grupo padrão tratados com DEX (1 mg/kg) apresentaram uma redução do título de IgE OVA-específica com valores de $26,8 \pm 25,4$ em relação ao grupo OVA ($365,7 \pm 48,1$).

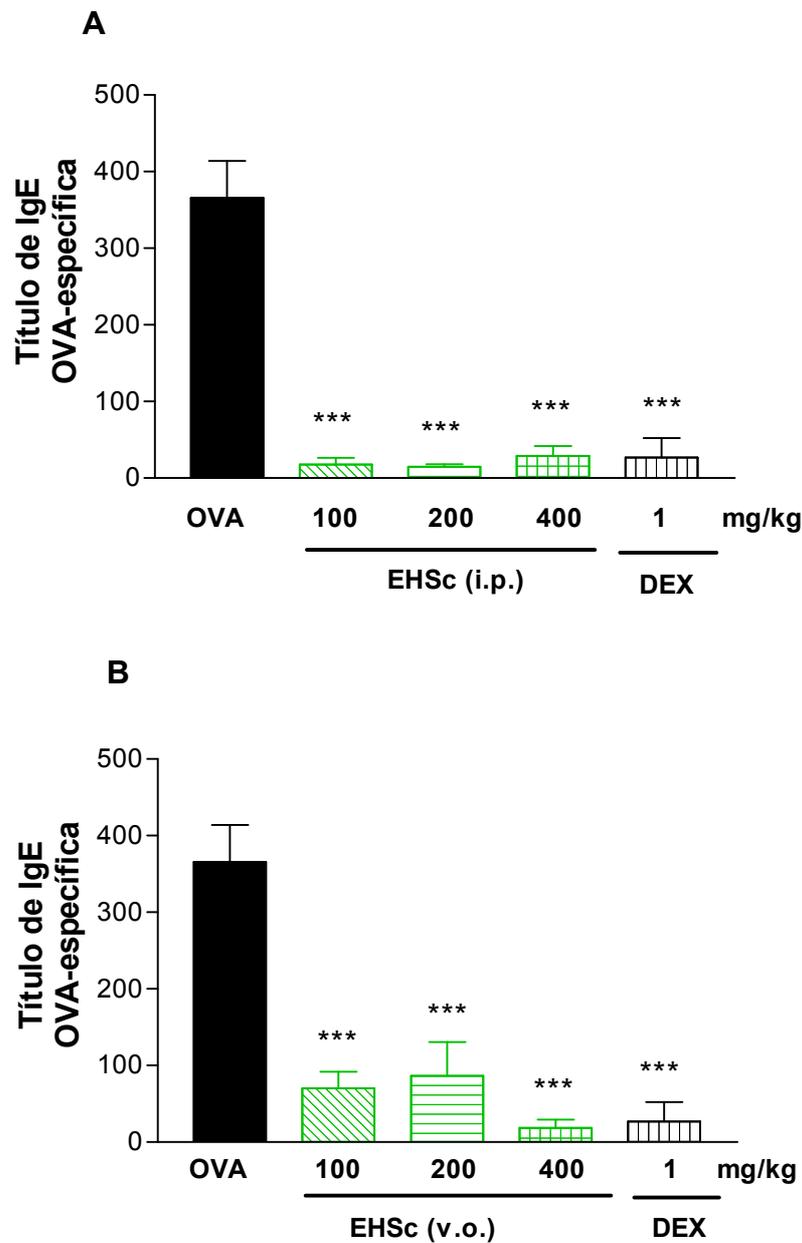


Figura 13. Efeito do EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, nas vias i.p. e v.o. sobre a produção de IgE OVA-específica no teste de anafilaxia cutânea passiva de camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Após as sensibilizações e desafio com OVA, os animais foram sangrados e os soros obtidos foram testados. O título de anticorpo (IgE OVA-específica) foi definido como a maior diluição do soro capaz de provocar mancha mensurável (≥ 5 mm) no dorso de ratos Wistar. Foram analisados os títulos de IgE OVA-específica em animais tratados com EHSc administrado por vias i.p. (A) ou oral (B) vs grupo OVA. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 16$). Valores de *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparado com o grupo de animais não tratados e sensibilizados com OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

6.4 Efeitos do DZP, DEX e SBL nas metodologias comportamental e imunológica de camundongos BALB/c sensibilizados com OVA

6.4.1 Efeito do DZP, DEX e SBL no teste da placa perfurada

O tratamento com DZP (0,5 mg/kg) ou DEX (0,1 mg/kg) em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA induziu aumento significativo ($p < 0,001$) no número de mergulhos com valores de $47,4 \pm 2,0$; $50,2 \pm 2,4$ respectivamente, em relação ao grupo OVA com $19,3 \pm 2,1$ após 30 min do desafio com OVA. O tratamento com SBL (5 mg/kg) não interferiu na atividade exploratória (Figura 14 A).

Da mesma forma, o tratamento com DZP (0,5 mg/kg) ou DEX (0,1 mg/kg) causou aumento significativo ($p < 0,001$) do número de quadrados percorridos com valor de $38,0 \pm 1,7$; $20,2 \pm 2,6$ respectivamente, vs grupo OVA com $7,6 \pm 0,8$. Os animais tratados com SBL (5 mg/kg) não mostraram diferenças significativas quando comparado com o grupo OVA (Figura 14 B).

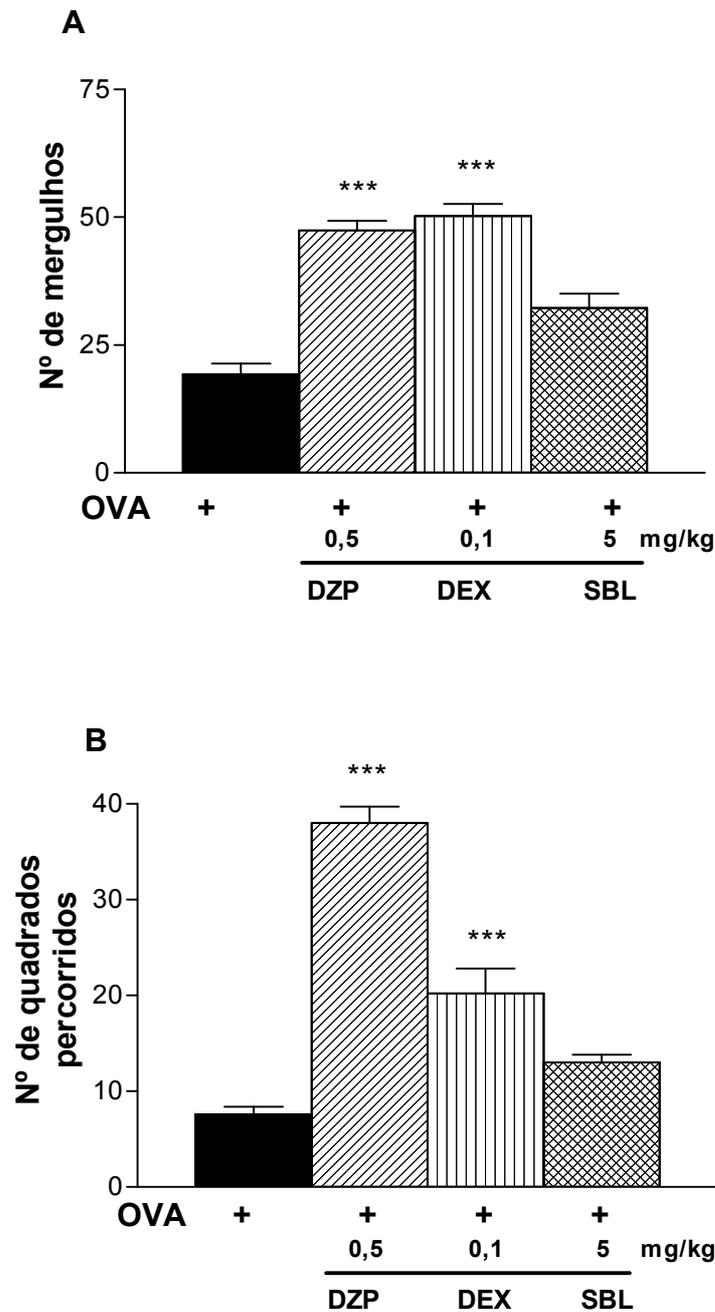


Figura 14. Efeito do DZP, DEX ou SBL sobre a atividade exploratória e locomotora no teste de da placa perfurada em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Camundongos foram tratados com DZP, DEX ou SBL 1 h antes de cada sensibilização e desafio com OVA. O número de mergulhos (A) e o número de quadrados percorridos (B) foram avaliados em grupos DZP, DEX ou SBL vs grupo OVA aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. (n = 8). Valores de *** p < 0,001 foram considerados significativos quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

6.4.2 Efeito do DZP, DEX e SBL no teste do labirinto em cruz elevado

Camundongos BALB/c tratados com DZP na dose de 0,5 mg/kg e sensibilizados com OVA apresentaram diferenças significativas ($p < 0,001$) com aumento do número de entradas nos braços abertos ($10,5 \pm 1,6$) quando comparado ao grupo OVA ($2,0 \pm 0,6$).

O tratamento com DEX na dose de 0,1 mg/kg induziu alteração significativa ($p < 0,01$) no número de entradas nos braços abertos com valor de $6,2 \pm 0,6$ vs grupo OVA. Da mesma forma, o tratamento com SBL na dose de 5 mg/kg induziu um aumento significativo ($p < 0,001$) do número de entradas nos braços abertos $8,2 \pm 1,0$ quando comparado com o grupo OVA (Figura 15 A).

Os animais tratados com DZP (0,5 mg/kg), DEX (0,1 mg/kg) ou SBL (5 mg/kg) apresentaram alterações significativas ($p < 0,001$) do tempo de permanência nos braços abertos com ($129,4 \pm 18,2$ s; $125,6 \pm 27,0$ s; $184,5 \pm 23,5$ s) respectivamente, comparado ao grupo OVA ($1,5 \pm 0,4$ s) após 30 min do desafio com OVA (Figura 15 B).

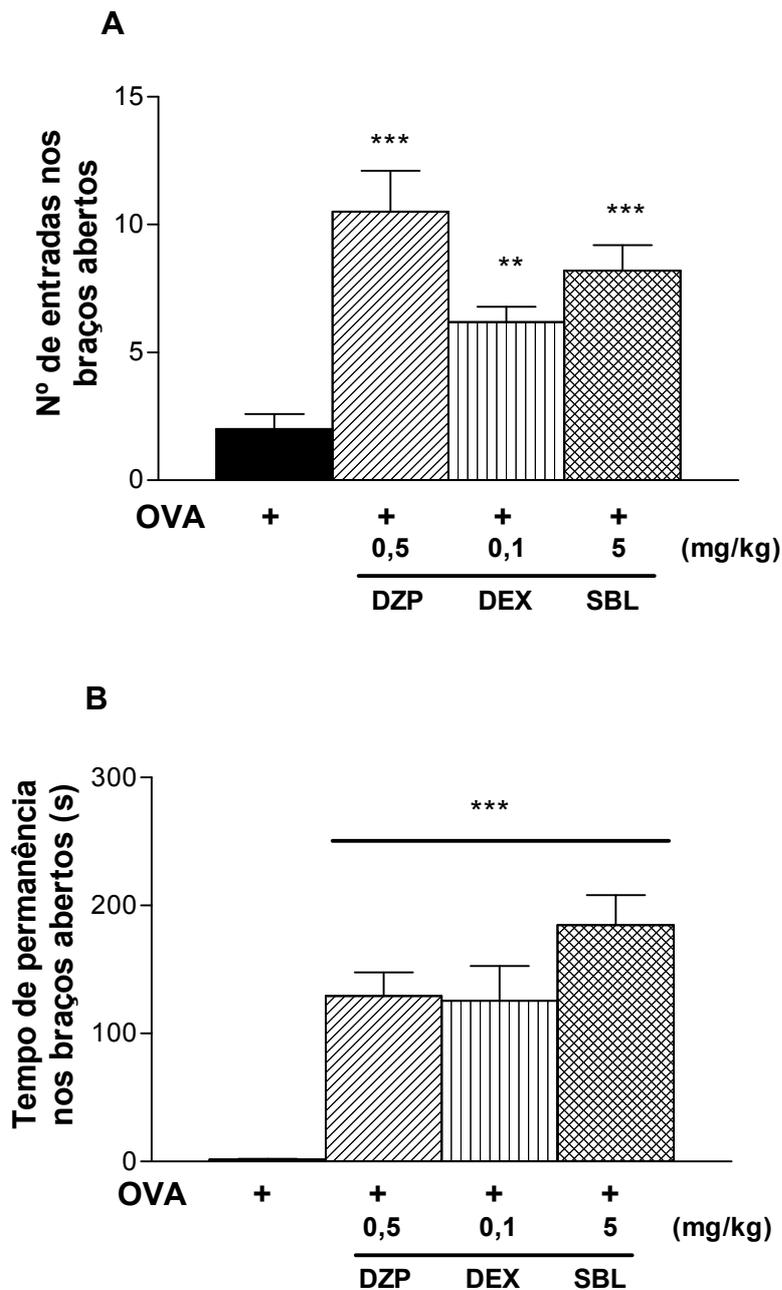


Figura 15. Efeito do DZP, DEX ou SBL sobre a atividade exploratória no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Camundongos foram tratados com DEZ, DEX ou SBL 1 h antes de cada sensibilização e desafio com OVA. O número de entradas (A) e o tempo de permanência (B) nos braços abertos foram avaliados em grupos DZP, DEX ou SBL vs grupo OVA aos 30 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. (n = 8). Valores de ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

6.4.3 Efeito do DZP e SBL no teste de hipersensibilidade imediata

Animais tratados com salina e sensibilizados com OVA apresentaram aumento significativo ($p < 0,001$) do diâmetro de patas aos 30 ($30,9 \pm 3,6$); 60 ($27,0 \pm 2,9$) e 120 min ($25,1 \pm 1,8$) quando comparados com os animais do grupo controle negativo (Salina) não sensibilizado com $6,75 \pm 1,0$, $5,2 \pm 1,4$, $7,6 \pm 2,0$ respectivamente, após inoculação da OVA.

Camundongos BALB/c tratados com DZP na dose de 0,5 mg/kg e sensibilizados com OVA apresentaram redução significativa ($p < 0,001$) do volume da pata aos 30 ($9,1 \pm 1,8$); 60 ($7,8 \pm 1,4$) e 120 min ($9,3 \pm 1,5$) quando comparado com o grupo OVA com valores de $30,9 \pm 3,5$ aos 30; $27,0 \pm 2,9$ aos 60 e $25,1 \pm 1,8$ aos 120 min após inoculação da OVA. Da mesma forma, foi evidenciado que os animais tratados com SBL na dose de 5 mg/kg reverteu significativamente ($p < 0,001$) o aumento de volume da pata aos 30 ($3,1 \pm 1,1$), 60 ($3,4 \pm 1,0$) e 120 min ($3,0 \pm 1,1$) em relação ao grupo OVA após a inoculação da OVA (Figura 16).

Os animais do grupo padrão tratados com DEX na dose de 0,1mg/kg apresentaram redução significativa ($p < 0,001$) aos 30 min ($7,3 \pm 1,6$), 60 ($6,3 \pm 1,6$) e 120 min ($3,8 \pm 1,1$) quando comparado com o grupo OVA ($30,9 \pm 3,6$ – 30 min; $27,0 \pm 2,9$ – 60 min; $25,1 \pm 1,8$ – 120 min) quando comparado com o grupo OVA.

Os valores do tempo basal dos grupos OVA, DZP (0,5 mg/kg) ou SBL (5 mg/kg) não apresentaram diferenças estatísticas quanto ao diâmetro das patas (dado não mostrado).

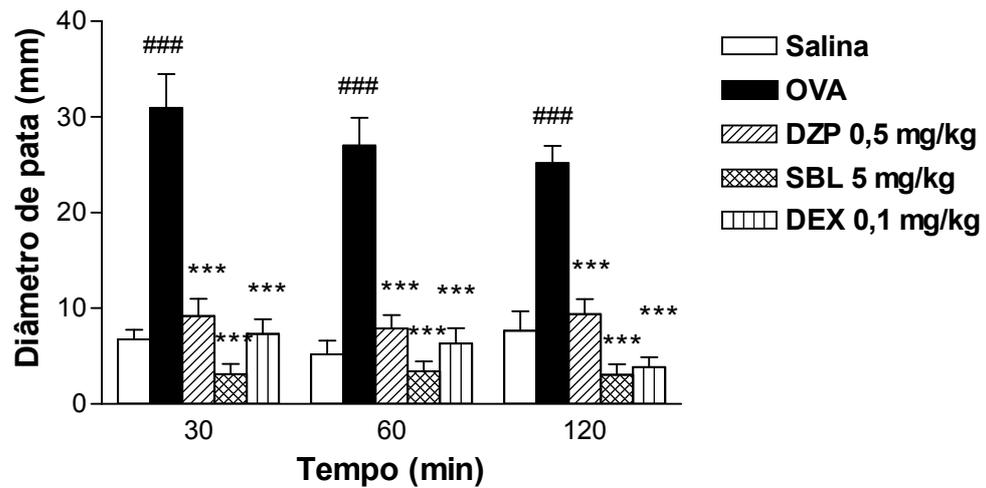


Figura 16. Efeito do DZP ou SBL sobre o edema de pata no teste de hipersensibilidade cutânea imediata em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Após as sensibilizações, os camundongos foram tratados com DZP ou SBL 1 h antes do desafio com injeção de 20 μ L OVA (20 mg/kg) na pata esquerda e salina na pata direita. O edema de pata foi avaliado em grupos DZP ou SBL vs grupo OVA nos tempos de 30, 60 e 120 min após o desafio antigênico. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. (n = 16). Valores de ### p < 0,001 foram considerados significativos quando comparados com o grupo salina (Teste “t” de Student não pareado); ***p < 0,001 quando comparados com o grupo OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

6.4.4 Efeito do DZP e SBL no teste de anafilaxia cutânea passiva

Dados similares foram observados nos animais tratados com DZP (1 mg/kg) e sensibilizados com OVA. Evidenciou-se uma redução significativa ($p < 0,001$) do título de IgE OVA-específica com valores de $14,4 \pm 5,1$ em relação ao grupo OVA ($365,7 \pm 48,1$). Por outro lado, o tratamento com SBL (20 mg/kg) não mostrou alterações significativas vs grupo OVA (Figura 17).

Os animais do grupo padrão tratados com DEX (1 mg/kg) apresentaram redução significativa ($p < 0,001$) do título de IgE OVA-específica com valores de $26,8 \pm 25,4$ em relação ao grupo OVA ($365,7 \pm 48,1$).

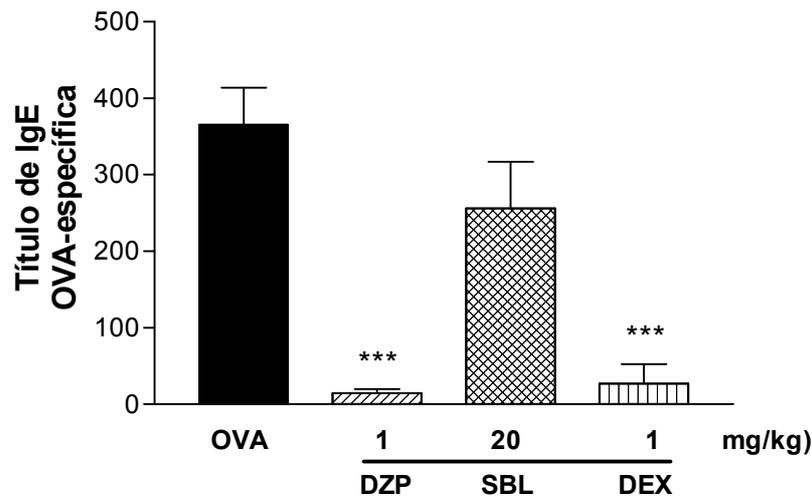


Figura 17. Efeito do DZP ou SBL sobre a produção de IgE OVA-específica no teste de anafilaxia cutânea passiva em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Após as sensibilizações e desafio com OVA, os animais foram sangrados e os soros obtidos foram testados. O título de anticorpo (IgE OVA-específica) foi definido como a maior diluição do soro capaz de provocar mancha mensurável (≥ 5 mm) no dorso de ratos Wistar. Foram analisados os títulos de IgE OVA-específica em animais tratados com DZP ou SBL vs grupo OVA. Os resultados são expressos em média \pm e.p.m. ($n = 16$). Valores de *** $p < 0,001$ foram considerados significativos quando comparado com o grupo de animais não tratados e sensibilizados com OVA (ANOVA seguido do Teste de Dunnett).

7 DISCUSSÃO

A estabilidade no ambiente interno em organismos vivos é o resultado de um complexo equilíbrio, que é constantemente alterado por fatores intrínsecos ou extrínsecos, estímulo físico ou psicológico, conhecidos como estressores (TAFET; BERNARDINI, 2003). Essa tendência para a estabilidade foi chamada de *homeostasia* (CANNON, 1932). Portanto, o *estresse* é definido como um estado de ameaça à *homeostasia*, cujo organismo preserva seu equilíbrio interno com uma resposta adaptativa (BLOOM; KUPFER, 1995; CHROUSOS; GOLD, 1992).

Há uma base sólida bioquímica e molecular para a comunicação bidirecional entre os sistemas imune e neuroendócrino, com seus receptores para citocinas, neurotransmissores, hormônios e neuropeptídeos (BESEDOVSKY; DEL REY, 1996; BLALOCK, 1994). As citocinas foram consideradas como mensageiros ou hormônios secretados por vários tipos de células imunes, algumas das quais apresentam efeitos fisiológicos sobre vários tecidos, incluindo o SNC (LARSON; DUNN, 2001). Essa interação tem papel importante, não somente na fisiologia desses sistemas, mas também em vários processos patológicos (ADER; FELTEN; COHEN, 1991).

A inexistência de estudos psicoimunológicos sobre uma possível atividade de *Sida cordifolia* em modelo experimental de alergia, aliada ao seu amplo uso popular no tratamento da asma na região do Nordeste Brasileiro motivaram a realização deste estudo. No presente estudo os efeitos comportamentais da OVA, EHSc, DZP, DEX ou SBL em modelo experimental de alergia foram investigados através de testes psicofarmacológicos e imunológicos para caracterizar os efeitos dessas substâncias nos sistemas nervoso e imune como também investigar a interação entre eles.

Com base em estudo anterior, realizado em nosso laboratório, referente ao teste de toxicidade aguda em camundongos Swiss, o valor da DL₅₀ estimada do EHSc, administrado por via intraperitoneal, foi de 2639 mg/kg, com intervalo de confiança entre 2068 – 3367 mg/kg. Por outro lado, a administração oral do EHSc até 5000 mg/kg, não gerou letalidade em nenhum camundongo durante o respectivo tempo de observação. Em ratos Wistar, o valor da DL₅₀ estimada do EHSc foi maior que 3000 mg/kg em ambas as vias (FRANCO et al., 2005). Portanto, o teste de toxicidade aguda do EHSc, administrado por via i.p. ou v.o., dentro das condições do nosso experimento, mostrou baixa toxicidade, podendo

ser, segundo Schapoval et al. (1998), um reflexo de baixa concentração de substâncias potencialmente tóxicas no extrato.

De acordo com Lorke (1983), apud Antonioli et al. (2001), quando a dose de 5000 mg/kg não for letal, há uma indicação de baixa toxicidade do extrato. O teste de toxicidade aguda se fez importante por estabelecer uma margem de segurança quanto às doses estabelecidas do extrato para a utilização dos protocolos experimentais.

Baseado em resultados da DL_{50} e em estudos anteriores (FRANZOTTI et al., 2000) indicativos de que o extrato aquoso de *Sida cordifolia* nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg apresentou propriedades antiinflamatórias em modelo de inflamação não dependente de IgE, foi estabelecido que os protocolos experimentais deveriam ser realizados com o EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg via i.p. ou v.o., ressaltando-se que as doses escolhidas foram mantidas dentro da margem de segurança para evitar interferência de efeitos tóxicos.

Uma vez estabelecidas as doses a serem usadas nos experimentos, iniciou-se a realização do teste de triagem farmacológica comportamental para a identificação da possível atividade psicofarmacológica do EHSc, em camundongos BALB/c não sensibilizados com OVA, com o objetivo de investigar se o extrato teria algum efeito sobre a atividade comportamental no SNC. Nesse teste, observou-se que os BALB/c tratados com EHSc, nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, administradas por via i.p. ou v.o. apresentaram alterações comportamentais similares às apresentadas por drogas depressoras, tais como: diminuição da atividade locomotora, sedação (SHURIA; KHANNA; GODHWANI, 1987 apud MORAIS; ALMEIDA; BARBOSA-FILHO, 1998), analgesia e diminuição da resposta ao toque (ALMEIDA et al., 1999). Concomitantemente, Radhakrishnan et al. (2001), relataram que a redução da atividade locomotora pode ser devido a efeitos inibitórios no SNC ou a atividade relaxante muscular periférica.

A primeira fase das doenças alérgicas tem sido uma das maiores preocupações de saúde pública. Entretanto, apesar da eficácia das terapias para doenças alérgicas, ainda existem sérios efeitos colaterais dos medicamentos utilizados somado ao fato de alguns pacientes não serem responsivos à terapia (FOSTER et al., 2002). Neste estudo, o tempo de observação escolhido para a análise comportamental corresponde à primeira fase da asma (30 min a 2 h).

Com o objetivo de investigar os possíveis efeitos da alergia induzida pela OVA sobre a resposta comportamental, buscou-se a realização do protocolo de sensibilização e desafio com OVA em camundongos BALB/c, onde a sensibilização representa a etapa inicial para o entendimento da relação entre SNC e o SI. O protocolo de sensibilização com OVA é

capaz de induzir um estado alérgico em animais. As alterações comportamentais em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA foram investigados em ambos os testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado

O teste da placa perfurada é conhecido como um modelo animal de ansiedade que oferece um método simples de se medir a resposta de um animal em ambiente não familiar, com as vantagens de que vários comportamentos podem ser realmente observados e quantificados (SILVA; ELISABETSKY, 2001). O mergulho de cabeça tem sido validado como um medidor de exploração direta (FILE; WARDILL, 1975).

Esse método avalia, de forma direta, a atividade exploratória (mergulho de cabeça) e locomotora do animal (BOISSIER; SIMON, 1964; BOISSIER; SIMON; LWOFF, 1964; FILE; WARDILL, 1975). É importante salientar que o efeito da droga sobre o comportamento do animal, no teste da placa perfurada, pode ser criticamente dependente da familiaridade do animal com o ambiente do teste (FILE, 1973). Segundo Christmas e Maxwell (1970), o efeito da droga pode ser alterado se o animal tem experiência prévia no aparato.

Outro teste comportamental usado foi o teste do labirinto em cruz elevado (LCE), o qual é considerado importante modelo animal para avaliar a ansiedade em roedores (PENG et al., 2000; GRAEFF et al., 1996). As drogas ansiogênicas diminuem o número de visita e o tempo de permanência nos braços abertos no aparato (PELLOW et al., 1985; LISTER, 1987), e as drogas ansiolíticas, como os benzodiazepínicos, aumentam a exploração no número de visita aos braços abertos (PELLOW et al., 1985; MONNIER; LALONDE, 1995). Esse modelo é baseado na aversão natural de roedores para espaço largo e aberto, o qual tem sido validado tanto para ratos como para camundongos (LISTER, 1987; DAWSON; TRICKLEBANK, 1995; HELTON et al., 1996), onde o índice de ansiedade é avaliado através dos seguintes parâmetros: o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos (LISTER, 1990).

Nesse estudo, os camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA (controle positivo OVA) apresentaram redução das atividades exploratória e locomotora através do número de mergulhos e de quadrados percorridos, respectivamente, no teste da placa perfurada. Esses sinais mostram possível evidência que os efeitos da OVA no SNC são similares a drogas que reduz a atividade do SNC ou são capazes de induzir um comportamento de doença. Esse dado é consistente com as observações feitas por Larson e Dunn (2001) de que alterações na mobilidade, alimentação, exploração, interação social,

comportamento sexual, funções cognitivas e sono estão freqüentemente associados com infecção, lesão e inflamação.

Segundo Perez et al. (1998), o ato de levantar é função do nível de excitabilidade do SNC, e a diminuição da atividade motora indica efeito de drogas depressoras. Os depressores do SNC, também chamados de psicolépticos, referem-se ao grupo de substâncias capazes de deprimir o funcionamento do cérebro, diminuindo sua atividade. Têm-se como exemplo os benzodiazepínicos e os opiáceos (STHAL, 1996).

Hart (1988), descreveu uma associação entre alterações comportamentais e a ativação do sistema imune induzido por infecção e outras patologias. Dentre as alterações comportamentais, incluía a diminuição da atividade locomotora, a redução da ingestão de alimento, a sonolência e a redução da autolimpeza. Em adição, Kent et al. (1992), nomearam tais alterações de “comportamento de doença”. Portanto, como pode ser observado, esse modelo experimental de alergia foi efetivo em induzir um comportamento de doença caracterizado por redução das atividades exploratória e locomotora.

Da mesma forma, a OVA foi capaz de promover comportamento de doença caracterizado pela diminuição da atividade exploratória através do número de visitas e do tempo de permanência nos braços abertos no teste do labirinto em cruz elevado. Rates et al. (1996), relataram que quando se evidencia somente a diminuição no número de visita nos braços fechados não pode ser considerado um grande efeito ansiolítico e segundo Lister (1990), a redução do número de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos reflete uma ação sedativa ou um efeito ansiogênico.

Palermo-Neto e Guimarães (2000), evidenciaram a existência de comportamentos condicionados associados com reação alérgica em ratos imunizados com OVA. De acordo com Russo et al. (2001), as alterações comportamentais e a ativação cerebral da reação alérgica são dependentes de IgE. Da mesma forma, a administração de um anticorpo anti-IgE também pode iniciar essa resposta (BASSO et al., 2003).

Em ambos os testes, placa perfurada e labirinto em cruz elevado, evidenciaram-se um efeito comportamental semelhante a compostos ansiogênicos em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA. De acordo com Rodgers; Cole; Davies, (1997b) e Simon; Panissaud; Costentin, (1993), compostos ansiolíticos como diazepam e flesinoxan e os compostos ansiogênicos como N-metil- β -carbolina-3-carboxamida e metil- β -carbolina-3-carboxylato têm produzido efeitos ansiolíticos ou ansiogênicos, respectivamente, tanto no aparato da placa perfurada quanto no do LCE.

Com base nos resultados, nós verificamos que o estado alérgico induzido pela OVA causou redução das atividades exploratória e locomotora, sugerindo que a OVA pode mediar “comportamento de doença” ou efeito ansiogênico no SNC.

Uma vez identificado o perfil comportamental de camundongo BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA, o presente estudo direcionou investigar se o tratamento com EHSc modificaria o padrão de “comportamento de doença” induzido pela OVA. Da mesma forma, as alterações comportamentais foram investigadas em ambos os testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado

O tratamento com EHSc na dose de 400 mg/kg, administrado por vias i.p. ou v.o., modulou o padrão comportamental de doença evidenciado pelo aumento da atividade exploratória, embora não tenha interferido na atividade locomotora no aparato da placa perfurada. Por outro lado, o tratamento com EHSc nas doses de 100 ou 200 mg/kg administrado por via i.p. ou v.o. não influenciou a atividade exploratória e a locomotora, o que leva a sugerir que tais doses do EHSc não atenuaram o comportamento de doença induzido pela OVA nas observações feitas aos 30 min após o desafio com OVA.

Vários estudos têm mostrado que o mergulho de cabeça e a locomoção podem variar independentemente (FILE, 1985; LISTER, 1987; DURCAN; LISTER, 1989). O aumento do número de mergulhos sugere uma ação ansiolítica no animal (LISTER, 1990) e sua diminuição reflete uma ação ansiogênica (TAKEDA; TSUJI; MATSUMIYA, 1998). Segundo File, (1985) a diminuição de ambas as medidas tem sido associada à ação sedativa.

Para melhor confirmação da resposta comportamental promovida pelo EHSc no teste da placa perfurada, realizou-se o teste do labirinto em cruz elevado. Tendo em vista a análise dos resultados obtidos, evidenciou-se que camundongos BALB/c tratados com EHSc nas doses de 100 ou 200 mg/kg, i.p. e 100, 200 ou 400 mg/kg, v.o., apresentaram aumento do número de visitas e do tempo de permanência nos braços abertos. Segundo Wolfman et al. (1994), o efeito ansiolítico caracteriza-se pelo aumento do número de visitas e do tempo de permanência nos braços abertos no labirinto.

Com base nos resultados obtidos, é possível sugerir que o EHSc administrado por vias i.p. ou v.o. modulou o comportamento de doença ou o estado ansiogênico em camundongos sensibilizados e desafiados com OVA no aparato do LCE. Concomitantemente, estudos anteriores, realizados em nosso laboratório, mostraram que o EHSc apresentou uma possível atividade ansiolítica em camundongos Swiss nos testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado (FRANCO et al., 2003).

Prosseguindo com o estudo, analisou-se o possível efeito imunomodulador do EHSc em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA sobre o edema de pata e o título de IgE OVA-específica. No teste de hipersensibilidade cutânea imediata, os camundongos BALB/c não tratados e sensibilizados com OVA mostraram relevante aumento do edema de pata. Entretanto, os animais tratados com EHSc nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg por vias i.p. ou v.o. apresentaram redução do edema de pata nas observações feitas aos 30, 60 e 120 min após a inoculação com OVA. Com base nos efeitos significativos do EHSc em reverter o edema de pata induzido por OVA, é possível sugerir que o EHSc apresenta atividade imunomoduladora na inflamação mediada por IgE. O papel antiinflamatório do EHSc é corroborado pelos dados obtidos por Franzotti et al. (2000), onde evidenciaram atividade antiinflamatória do extrato aquoso de *Sida cordifolia* em modelo de inflamação induzida por carregenina em camundongos Swiss.

Outras explicações podem ser sugeridas para o efeito imunomodulador do EHSc tais como: a existência de grande concentração de flavonóides nas partes aéreas de *Sida*, que seria responsável pela propriedade antiinflamatória (ROTH; CHAFFNER; HERTEL, 1999); a evidência de atividade antinociceptiva (FRANCO et al., 2003) inibindo o componente neurogênico da inflamação e, conseqüentemente, modulando o reflexo antidrômico na inflamação.

De acordo com Ratzlaff et al. (1992), os nervos cutâneos na pele de camundongos contribuem para a fase efetora da inflamação mediada por IgE por aumentar o edema de pata. Um reflexo axonal pode explicar o componente neurogênico na inflamação cutânea mediada por IgE (MILLER; LIUZZI; RATZLAFF, 1995). Esse dado sugere que a atividade antiinflamatória do EHSc, no teste de hipersensibilidade cutânea imediata, pode estar associada à modulação desses nervos periféricos.

Da mesma forma, o tratamento com DEX, na dose de 0,1 mg/kg, reduziu o edema de pata induzido pela OVA aos 30, 60 e 120 min após a inoculação da OVA. Determinadas drogas sinteticamente produzidas, como a DEX, são utilizadas para impedir a produção de citocinas pró-inflamatórias e o recrutamento de células para o sítio da inflamação, incluindo células T, eosinófilos e basófilos (BAATJES et al., 2002).

Existem quatro grandes classes de drogas usadas na terapia da asma: glicocorticóides, por sua potente ação antiinflamatória; β_2 -adrenérgico, pela broncodilatação; teofilina e seus derivados, usada para broncoespasmo e inflamação; inibidores e antagonistas de leucotrienos, como drogas broncodilatadoras e antiinflamatórias (PALMER, et al., 2002). Segundo Pignatti (2004), os glicocorticóides são drogas antiinflamatórias mais potentes

usadas no tratamento da asma, regulam a transcrição de gene através da diminuição da transcrição de várias proteínas inflamatórias e do aumento da transcrição de proteínas antiinflamatórias. Esses estudos confirmam os achados evidenciados pelo efeito antiinflamatório da DEX na redução do edema de pata após desafio antigênico.

Uma das ações dos glicocorticóides corresponde à propriedade antiinflamatória através da regulação de proteínas pró-inflamatórias (FENECH; HALL, 2002). A DEX é largamente utilizada devido ao seu potente efeito antialérgico e a sua atividade antiasmática. O mecanismo de ação proposto para essa droga é a supressão das enzimas fosfolipases C e A₂ por lipocortinas, em diferentes tipos de células (HIRATA, 1981). De acordo com Pignatti (2004), os glicocorticóides modulam a transcrição do receptor β_2 - adrenérgico e os receptores muscarínicos, os quais podem ajudar na regulação das vias aéreas da broncoconstrição mediada pela acetilcolina para a broncodilatação mediada pela noradrenalina.

No teste de anafilaxia cutânea passiva, os animais tratados com EHSc, nas doses de 100, 200 ou 400 mg/kg, por vias i.p. ou v.o., apresentaram redução do título de IgE OVA-específica induzido pela OVA. O efeito do EHSc pode ser atribuído à presença marcante de determinados metabólitos secundários evidenciados na triagem fitoquímica do EHSc, tais como alcalóides e flavonóides (FRANCO et al., 2003). Os flavonóides são dotados de uma variedade de atividades biológicas, como a antibacteriana (KATAOKA et al., 2001), anticancerígena (LE MARCHAND, 2002), a imunomoduladora (CHEN et al., 2002) e a neuroprotetora (ROTH; CHAFFNER; HERTEL, 1999). Portanto, nesse estudo, nós verificamos que o EHSc pode modular o edema de pata e o aumento do título de IgE OVA-específica no modelo experimental de alergia induzido por OVA.

O tratamento com DEX na dose de 0,1 mg/kg também induziu redução do título de IgE OVA-específica. A capacidade da DEX de diminuir os níveis de IgE pode ser atribuída à produção de lipomodulina, a qual aumenta a síntese do fator supressor de IgE (IgEsF) (ISHIZAKA, 1988) e, conseqüentemente, suprime a produção de IgE.

Segundo Katz (1984) e Ishizaka (1988), a resposta de IgE é regulada de modo específico por estimulação ou supressão na produção de fatores solúveis. O teste de anafilaxia cutânea passiva é inibido pela DEX através de dois mecanismos: inibição na liberação de mediadores de mastócitos e inibição não específica do aumento da permeabilidade vascular induzida por histamina ou outros mediadores (MIURA et al., 1992). Com base nesses dados, é possível sugerir que a atividade moduladora dos níveis de IgE por DEX seja justificada pela capacidade de suprimir a formação de IgE.

Dando seguimento aos trabalhos, buscou-se identificar se drogas com atividade ansiolítica (DZP), antiinflamatória (DEX) e broncodilatadora (SBL) são capazes de modular a resposta comportamental em camundongo BALB/c sensibilizado com OVA nos testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado. Os critérios para utilização do DEX e do SBL corresponderam aos seus efeitos sobre a fisiopatologia da asma alérgica, entretanto, a escolha do DZP foi baseada por ser utilizada como droga padrão em modelo experimental de ansiedade.

Os animais tratados com DZP, na dose de 0,5 mg/kg, i.p., mostraram aumento do número de mergulhos e de quadrados percorridos em camundongos sensibilizados e desafiados com OVA no teste da placa perfurada. O papel modulador do DZP, na dose de 0,5 mg/kg foi corroborado pelos dados obtidos por Takeda; Tsuji; Matsumiya (1998), que verificaram um aumento na frequência do número de mergulho e de locomoção no aparato da placa perfurada.

Da mesma forma, o tratamento com DZP, na dose de 0,5 mg/kg, modulou o comportamento através do aumento do número de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA no teste do labirinto em cruz elevado. De acordo com File e Zangrossi (1993), compostos ansiolíticos como diazepam produzem efeitos ansiolíticos no teste do labirinto em cruz elevado. Esses dados foram correlacionados com relatos prévios de que drogas com efeito ansiolítico induzem ao aumento do número e do tempo de permanência nos braços abertos (NASELO et al., 1998). Esses resultados mostraram uma possível evidência que o comportamento de doença induzido por OVA pode ser atenuado pelo DZP e que as alterações comportamentais induzida pelo DZP são consistentes com efeito ansiolítico. É importante considerar que no desafio com OVA os animais são submetidos a duas variantes de estresse: sistêmico (desafio imune) e psicológico (ambiente não familiar), o que mostra interação entre o SNC e o SI.

O tratamento com DEX, na dose de 0,1 mg/kg, i.p., também foi efetivo em induzir aumento da atividade exploratória e locomotora em camundongos BALB/c após 30 min do desafio com OVA. Segundo Rodgers et al. (1997a), os perfis comportamentais de esteróides ativos são similares à aqueles vistos com benzodiazepínicos, valproato e muscimol, fornecendo assim suporte para mediação através do complexo receptor GABA_A. Entretanto, é necessário estudos para confirmar esse presumido mecanismo de ação.

No teste do labirinto em cruz elevado, animais tratados com DEX, na dose de 0,1 mg/kg, apresentaram aumento do número de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA, após 30 min do desafio

com OVA. A DEX tem largo uso clínico devido à potente ação antialérgica e antiasmática, e à sua ação sobre os receptores de glicocorticóides citoplasmáticos (GUSTAFSSON et al., 1987). A capacidade de reverter o comportamento de doença induzida pela OVA pode estar relacionada à diminuição na expressão de várias proteínas pró-inflamatórias (PIGNATTI, 2004). Segundo Rodgers et al. (1997), certos esteróides tais como desoxicorticosterona e metabólitos da progesterona exercem efeitos sobre o SNC através da modulação alostérica no receptor GABA_A.

Com base na análise dos resultados obtidos nesse modelo é possível sugerir que a DEX pode atuar de forma indireta, através da modulação no desenvolvimento da broncoconstrição ou a inibição da hipersensibilidade para acetilcolina, com conseqüente modulação do estresse sistêmico induzido pela OVA, e de modo direto, através da potente atividade antiinflamatória, sobre a regulação dos fatores de transcrição pró-inflamatórios em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA. Segundo Husband (1993), a produção de citocinas, seguindo o desafio imune, aumenta o sono e a fadiga e diminui a glicose sanguínea e a atividade locomotora. Portanto, nós evidenciamos que o DZP, em doses não sedativas e a DEX é capaz de modular o comportamento de doença induzido pela OVA nos aparatos da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado.

O tratamento com SBL, na dose de 5 mg/kg, s.c., não interferiu no perfil comportamental induzida pela OVA no teste da placa perfurada. A explicação sugerida para esse efeito pode ser atribuída à não efetividade da hiperresponsividade brônquica, dada pela realização de um único desafio com OVA ou a presença de efeitos colaterais, como taquicardia.

Classicamente, os pulmões são controlados pelo SNA, que exerce seus efeitos via receptores adrenérgicos α e β e receptores colinérgicos. Existe um complexo de inervação adicional dos pulmões nos quais os peptídios são os neurotransmissores (SEALE, 1990). O gene β_2 -adrenoreceptor é expresso em alguns tipos de células e, em particular, nas células do músculo liso brônquico (BARNES, 1995).

Ao contrário do que foi observado no teste da placa perfurada, o SBL modulou o comportamento de doença em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA no teste do labirinto em cruz elevado. O tratamento com SBL (5 mg/kg) provocou o aumento do número de visitas e do tempo de permanência nos braços abertos aos 30 min após o desafio com OVA. Dentre as hipóteses atribuídas para explicar o efeito psicomodulador do SBL estão: à sensibilidade do teste do labirinto em cruz elevado; à produção do fator relaxante derivado do endotélio (óxido nítrico) (GOLDIE et al., 1986); à inibição da liberação de

histamina e de leucotrienos por mastócitos no pulmão (HUGHES; SEALE; TEMPLE, 1983) ou à regulação da secreção de muco (BARNES, 1986). De acordo com Pellow et al. (1985), a diminuição da aversão para os braços abertos é devido a um efeito ansiolítico, o qual é expresso por um aumento do número de entradas nos braços abertos.

O receptor β_2 induz à dilatação do músculo brônquico após ser estimulado por catecolaminas que regulam o calibre das vias aéreas ou por agonistas exógenos (PIGNATTI, 2004). Os mecanismos de ação de agonistas β_2 sobre o músculo liso das vias aéreas são bem conhecidos (COHN; RAY, 2000), exibem um potente efeito broncodilatador e são usados para o tratamento da asma (INAGAKI et al., 1997).

Uma vez identificado o papel modulador do padrão de comportamento de doença induzido por OVA, pelas substâncias ativas, DZP, DEX e SBL, o presente estudo buscou investigar se DZP e SBL apresentam efeito imunomodulador sobre o edema de pata e o título de IgE OVA-específica. No teste de hipersensibilidade cutânea imediata, o tratamento com DZP (0,5 mg/kg) ou SBL (5 mg/kg) atenuou o edema de pata induzido pela OVA aos 30, 60 e 120 min após o desafio com OVA.

Os benzodiazepínicos estão entre as classes de drogas psicotrópicas mais frequentemente usadas e prescritas mundialmente, devido aos efeitos ansiolítico, relaxante muscular e anticonvulsivante (RUIZ, 1993). Esses efeitos são conseqüentes da ligação com receptores presentes no SNC, denominados GABA_A. Além desses receptores benzodiazepínicos centrais, têm sido identificados receptores benzodiazepínicos periféricos em órgãos periféricos (BRAESTRUP; SQUIRES, 1977), no tecido endócrino estereidogênico (PAPADOPOULOS, 1993), e em células e órgãos imunes, tais como células polimorfonucleares e mononucleares (MARINO et al., 2001).

Lazarrini; Malucelli; Palermo-Neto (2001), mostraram que o tratamento agudo com DZP na dose de 10 mg/kg diminuiu o edema de pata induzido pela injeção de carragenina em ratos. Da mesma forma, Torres et al. (1999), relataram que vários ligantes do receptor benzodiazepínico, como Ro5-4864 e PKJ1195, afetam várias funções celulares, sendo melhor caracterizadas os efeitos sobre a biossíntese de esteróides e a regulação da função imune.

Os ligantes do receptor benzodiazepínico periférico modulam as funções de monócitos, como quimiotaxia e proliferação de células linfóides (RUFF et al., 1985; LAIRD et al., 1989). O tratamento com Ro5-4864, um agonista desse receptor, exerceu significativo efeito inibitório sobre a formação de edema na pata de camundongo induzida por carragenina (TORRES et al., 1999). Com base nos resultados do DZP, no teste de hipersensibilidade

cutânea imediata, são necessárias mais investigações para melhor entendimento da possível atividade antiinflamatória.

Da mesma forma, os animais tratados com SBL, nas doses de 5 mg/kg apresentaram diminuição do edema de pata aos 30, 60 ou 120 min após o desafio com OVA. Os agonistas β -adrenoreceptores possuem propriedades anti-alérgicas e antiinflamatórias (INAGAKI et al., 1997). Inibem a liberação de mediadores em mastócitos e basófilos dependentes de IgE de pulmão humano (HUGHES; SEALE; TEMPLE, 1983), fragmentos de pulmão de cobaias e macaco (UNDEM; GRAZIANO; BUCKNER, 1985), formação de edema em camundongos e ratos (MALLING et al., 1974) e aumento da permeabilidade vascular em ratos (INAGAKI et al., 1989), o que explica o efeito do SBL na redução do edema de pata após o desafio antigênico em camundongos BALB/c sensibilizados com OVA.

No teste de anafilaxia cutânea passiva, o tratamento com DZP (1 mg/kg) atenuou o título de IgE OVA-específica em camundongos BALB/c sensibilizados e desafiados com OVA. Entretanto, o tratamento com SBL (20 mg/kg) não reverteu os níveis de Ig induzido por OVA.

A estimulação de receptores benzodiazepínico periférico nas células adrenais aumenta a produção de glicocorticóides (CAVALLARO et al., 1992) o qual é conhecido pela potente propriedade imunomoduladora (MCEWEN et al., 1997). O receptor Fc ϵ RII (CD23) foi designado como um receptor benzodiazepínico tipo periférico presente nos linfócitos B. Esse receptor pode ser aumentado pela estimulação de IL-4 e apresenta baixa afinidade para IgE (OHARA; PAUL, 1988 apud LÜCHT-EISENBACH, 2005).

A IgE interage com alta afinidade com o receptor Fc ϵ RI, que é central para a doença alérgica (KEOWN et al., 1995 apud LÜCHT-EISENBACH, 2005). A imunidade mediada por IgE é uma função efetora guiada via essa classe de receptor (WANG; SHEN; SEBALD, 1997 apud LÜCHT-EISENBACH, 2005). Portanto, o efeito modulador sobre o título de IgE ocorre via receptor benzodiazepínico periférico. Estudos *in vivo* serão necessários para avaliar o impacto do diazepam na inflamação das vias aéreas induzida por Th2.

Os benzodiazepínicos diazepam e flunitrazepam se ligam aos receptores benzodiazepínicos central e periférico (WEIZMAN et al., 1997). Os receptores benzodiazepínicos periféricos estão envolvidos no metabolismo intermediário (ANHOLT, 1986), no metabolismo de heme (VERMA; SNYDER, 1989), na estereiodogênese (PAPADOPOULOS et al., 1990), na proliferação celular (WANG; MORGAN; SPECTOR,

1984), na imunomodulação (FERRARESE et al., 1993; BESSLER et al., 1992) e na resposta ao estresse (DRUGAN; HOLMES, 1991; HOLMES; DRUGAN, 1994; WEIZMAN et al., 1994). Evidências sugerem que o receptor benzodiazepínico periférico tem importante papel na regulação da função imune (TORRES et al., 1999).

É importante notar que o SBL não reduziu o título de IgE OVA-específica no teste de anafilaxia cutânea passiva. Em estudo animal, o SBL aumentou a produção de IgE em camundongos sensibilizados com antígeno, e *in vitro*, os β -agonistas aumentaram a produção de IL-4, IL-5, mas não de IFN- γ (COQUERET et al., 1994). Segundo Fedyk et al. (1996), os β -agonistas estimulam a inflamação alérgica por aumentar a produção de citocinas Th2 e produção de IgE.

A presença de uma variedade de compostos no extrato limita a investigação dos possíveis mecanismos envolvidos nas respostas obtidas, uma vez que esses efeitos podem estar associados a mecanismos sinérgicos ou antagônicos dessas substâncias.

Com a realização deste estudo foi possível observar que o protocolo de sensibilização e desafio com OVA realizado em nosso laboratório, induz um estado semelhante ao comportamento de doença, sugestivo de atividade depressora do SNC. Os tratamentos com EHSc, DZP ou DEX apresentam efeito modulador sobre a resposta comportamental, assim como os tratamentos com EHSc, DZP ou SBL mostraram ação imunomoduladora na inflamação dependente de IgE.

Este trabalho contribuiu para o entendimento da interação entre o SNC e o SI para a farmacologia de *Sida cordifolia* na psicoimunologia, assim como para a padronização do modelo experimental de alergia nos testes da placa perfurada e do labirinto em cruz elevado. Além disso, esta pesquisa fornece dados valiosos para estudos futuros que objetivam entender as desordens do SNC e do SI nas alergias do tipo asma.

8 CONCLUSÕES

Na investigação da interação entre o SNC e o SI em modelo experimental de alergia, conclui-se que:

- O protocolo de sensibilização e desafio com OVA é um modelo adequado para investigar a interação entre o SNC e SI induzindo alteração comportamental caracterizada por comportamento de doença;
- O extrato hidroalcoólico bruto de *Sida cordifolia* L. induz sinais indicativos de ação psicomoduladora, considerando que foi efetivo em atenuar o perfil comportamental induzido pela OVA, bem como, possui atividade imunomoduladora na inflamação dependente de IgE, uma vez que reduziu o edema de pata e o título de IgE OVA-específica;
- O diazepam reverte o comportamento de doença induzido pelo estresse sistêmico (OVA), dada a potencialização da ação gabaérgica e apresenta dados indicativos de ação imunomoduladora representada pela redução do edema de pata e do título de IgE OVA-específica, considerando-se a propriedade de influenciar a esteroidogênese – aumentando os níveis de cortisol;
- A dexametasona nas condições empregadas neste estudo, apresenta efeito psicomodulador uma vez que reverteu o padrão de resposta comportamental induzido pela OVA;
- O salbutamol atenua o perfil comportamental induzido pela OVA, assim como o edema de pata.

8 PERSPECTIVAS

De acordo com os resultados obtidos, alguns pontos devem ser considerados, a saber:

- Esclarecer o mecanismo imunomodulador do DZP na inflamação dependente de IgE;
- Avaliar a hiperresponsividade brônquica;
- Caracterizar o perfil de citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- α) implicadas nesse estresse sistêmico;
- Investigar o efeito de substâncias isoladas do EHSc sobre a atividade moduladora no SNC e SI em modelo experimental de alergia – asma, visando futuramente a um possível fitoterápico ;
- Dar ênfase a interação psiconeuroimunoendócrino na alergia – asma, objetivando melhores condutas terapêuticas no controle da doença.

REFERÊNCIAS

- ADER, R.; FELTEN, D.; COHEN, H. Interaction between the brain and the immune system. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 30, p. 561-602, 1990.
- ADER, R.; FELTEN, D.L.; COHEN, N. (Ed.). **Psychoneuroimmunology**, San Diego: Academic Press, 1991a. p.771-787.
- ADER, R.; FELTEN, D.L.; COHEN, N. (Ed.). **Psychoneuroimmunology**, 2. ed., New York: Academic Press, 1991b. 18p.
- ADER, R. On the clinical relevance of psychoneuroimmunology. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 64, p. 6-8, 1992.
- ADER, R.; COHEN, N.; FELTEN, D. Psychoneuroimmunology interactions between the nervous system and the immune system. **Lancet**, v. 345 p. 99-103, 1995.
- ADDOLORATO, G.; MARSIGLI, L.; CAPRISTO, E.; CAPUTO, F.; DALL'AGLIO, C.; BAUDANZA, P. Anxiety and depression: a common feature of health care seeking patients with irritable bowel syndrome and food allergy. **Hepatogastroenterology**, v. 45, p. 1559-1564, 1998.
- ALBRECHT J.; HELDERMAN, J.H.; SCHLESSER, M.A.; RUSH, A.J. A controlled study of cellular immune function in affective disorders before and during somatic therapy. **Psychiatry Research**, v.15, p. 185-93, 1985.
- ALMEIDA, R.N.; FALCÃO, A.C.G.M.; DINIZ, R.S.T.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; POLARI, R.M.; BARBOSA-FILHO, J.M.; AGRA, M.F.; DUARTE, J.C.; FERREIRA, C.D.; ANTONIOLLI, A.R.; ARAÚJO, C.C. Metodologia para avaliação de plantas com atividades no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 80, n. ¾, p.72-76, 1999.
- ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia Fundamentos Práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 133-135p.
- ALTMAN, F. Where Is The "Neuro" in Psychoneuroimmunology?. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 11, p. 1-8, 1997.

ANDO, T.; DUNN, A.J. Mouse tumor necrosis factor-alpha increases brain typtophan concentrations and norepinephrine metabolism while activating the HPA axis in mice. **Neuroimmunomodulation**, v. 6, p. 319-329, 1999.

ANFORTH, H.R.; BLUTHE, R.M.; BRISTON, A.; HOPKINS, S.; LENCZOWSHI, M.J.; LUHESHI, G.; LUNDKVIST, J.; MICHAUD, B.; MISTRY, Y.; VAN DAM, A.M.; ZHEN, C.; DANTZER, R.; POOLE, S.; ROTHWELL, N.J.; TILDERS, F.J.; WOLLMAN, E.E. Biological activity and brain actions of recombinant rat interleukin-1 α and interleukin-1 β . **European Cytokine Network**, v. 9, p. 279-288, 1998.

ANHOLT, R.R.H. Mitochondrial benzodiazepine receptors as potential modulators of intermediary metabolism, **Trends in Pharmacology Science**, v. 7, p. 506-511, 1986.

ANISMAN, H.; MERALI, Z.; RAVINDRAN, A.V.; SONG, C.; LU, W.Z. Influence of a psychogenic and a neurogenic stressor on several Indices of immune functioning in different strains of mice. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 12, p. 7-22, 1998.

ANISMAN, H.; LU, W.Z.; SONG, C.; KENT, P.; McINTYRE, D.C.; MERALI, Z. Influence of psychogenic and neeurogenic stressors on endocrine and immune activity: differential effects in fast and slow seizing strains. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 11, p. 63-64, 1997.

ANTONIOLLI, A.R.; BISPO, M.D.; MOURÃO, R.H.V.; FRANZOTTI, E.M.; BOMFIM, K.B.; MARCHIORO, M.; MORENO, M.P.; ARRIGONE-BLANK, M.F. Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 81-86, 2001.

ANTONIOLLI, A.R.; SILVA, R.L.; MELO, G.B.; MELO, V.A.; MICHELLONE, P.R.T.; ZUCOLOTO, S.; PICINATO, M.A.N.C.; FRANCO, C.F.F.; MOTA, G.A.; SILVA, O.C. Effect of the aqueous extract of *Sida cordifolia* on liver regeneration after partial hepatectomy. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, p. 37-39, 2006.

ARMASON, B.G.W.; SCHORR, C.E. Interactions between the sympathetic nervous system and the immune system. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 13, p. 271-278, 1999.

ARNETZ B.B.; WASSERMAN, J.; PETRINI, B.; SOB. P.H.D.; LEIV, L. Immune function in unemployed women. **Psychosomatic Medicine**, v. 19, p. 3-12, 1987.

BAATJES, A.J.; SEHMI, R.; SAITO, H.; CYR, M.M.; DORMAN, S.C.; INMAN, M.D.; O'BYRNR, P.M.; DENBURG, J.A. Anti-allergic therapies: effects on eosinophil progenitors. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 95, p. 63-72, 2002.

BACHEN E.A.; MANUCK, S.B.; MARSLAND, A.L.; COHEN, S.; MALKOFF, S.B.; MULDOON, M.F.; RABIN, B.S. Lymphocyte subset and cellular immune responses to a brief experimental stressor. **Psychosomatic Medicine**, v. 54, p. 673-679, 1992.

BALBACH, A. **A Flora Medicinal na Medicina Doméstica**. Itaquaquecetuba: MVP, 1978. v. 2, 703p.

BARACHO, G. S. S. **Taxonomia do Gênero *Sida* L. Seção Cordifoliae (DC.) FRYXELL (MALVACEAE) no Brasil**. 1998. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1998.

BARNER, M.; MOHRS, M.; BROMBACHER, F.; KOPF, M. Differences between IL-4R alpha-deficient and IL-4-deficient mice reveal a role for IL-13 in the regulation of Th2 responses. **Current Biology**, v. 8, p. 669-672, 1998.

BARNES, P.J. Neural control of human airways in health and disease. **American Review of Respiratory Disease**, v. 134, p. 1289-1314, 1986.

BARNES, P.J. Our changing understanding of asthma. **Respiratory Medicine**, v. 83S, p. 17-23, 1989.

BARNES, P.J. Beta-adrenergic receptors and their regulation. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 60, p. 152-838, 1995.

BARNES, P.J. Their strategies for allergic Disease. **Nature**, v. 402, p. 31-38, 1999.

BARTROP R.W.; LAZARAUS, L.; LUCKHURST, E.; KILOH, L.G.; PENNY, R. Depressed lymphocyte function after bereavement. **Lancet**, v.1, p. 834-836, 1977.

BASSO, A.S.; DE SA-ROCHA, L.C.; PALERMO-NETO, J. Immune-induced flavor aversion in mice: modification by neonatal capsaicin treatment. **Neuroimmunomodulation**, v. 9, p. 88-94, 2001.

BASSO, A.S.; PINTO, F.A.; RUSSO, M.; BRITTO, L.R.; de SÁ ROCHA, L.C.; PALERMO NETO, J. Neural correlates of IgE-mediated food allergy. **Journal of Neuroimmunology**, v. 140, p. 69-77, 2003.

BESEDOVSKY, H. O.; SORKIN, E. Network of immunoneuroendocrine interactions. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 27, p. 1-12, 1977.

BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A.E.; DA PRADA, M.; KELLER, H.H. Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system. **Cellular Immunology**, v. 48, p. 346-355, 1979.

BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A.E.; SORKIN, E.; DA PRADA, M.; BURRI, R.; HONEGGER, C. The immune response evokes changes in brain non-adrenergic neurons. **Science**, v. 221, p. 564-566, 1983.

BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A.E.; SORKIN, E. Immunoneuroendocrine interactions. **Journal of Immunology**, v. 135, p. 750-754, 1985.

BESEDOVSKY, H.O.; DEL REY, A.E. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. **Endocrine Reviews**, v. 17, p. 64-102, 1996.

BELLINGER, D.L.; LORTON, D. FELTEN D.L. Innervation of lymphoid organs and implications in development, aging, and autoimmunity. **International Immunopharmacology**, v.14, p. 329-344, 1992.

BELLINGER, D.L.; LORTON, D.; FELTEN, D.L.; FELTEN, S.Y. Innervation of lymphoid organs and neurotransmitter-lymphocyte interactions. In: KEANE, R. W.; HICKEY, W. F. (Ed.). **Immunology of the Nervous System**. New York: Oxford Univ. Press. 1997.

BESSLER, H.; WEIZMAN, R.; GAVISH, M.; NOTTI, I.; DJALDETTI, M. Immunomodulatory effect of peripheral benzodiazepine receptor ligands on human mononuclear cells. **Journal of Neuroimmunology**, v. 38, p. 19-25, 1992.

BLACK, P.H. Immune system-central nervous system interaction: effect and immunomodulatory consequences of immune system mediators on the brain. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 38, p. 740-793, 1994.

BLALOCK, J.E.; SMITH, E.M. The immune system: Our mobile brain? **Immunology Today**, v. 6, p. 115-117, 1985.

BLALOCK, J.E. A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. **Physiology Reviews**, v. 69, p. 1-32, 1989.

BLOOM, F.E.; KUPFER, D.J. (Ed.). **Psychopharmacology, the Fourth Generation of Progress**. New York: Raven Press, 1995. .p. 773-785.

BLUTHÉ, R.M.; DANTZER, R.; KELLEY, K.W. Central mediation of the effects of interleukin-1 on social exploration and body weight in mice. **Psychoneuroendocrinology**, v. 22, p. 1-11, 1997.

BOILY, Y.; PUYVELDE, L. Screening of medicinal plants of Rwanda (Central Africa) for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 16, p. 1-13, 1986.

BOISSIER, J. R.; SIMON, P. La reaction d'exploration chez la souris. **Therapie**. v. 17, p. 1225-1232, 1962.

BOISSIER, J.R.; SIMON, P. Dissociation de deux composantes dans le compartiment d'investigation de la souris. **Archives International Pharmacodynamic**, v. 147, p. 372-387, 1964.

BOISSIER, J.R.; SIMON, P.; LWOFF, J.M. L'utilisation d'une réaction particulière de la souris (méthode de la planche à trous) pour l'étude des médicaments psychotropes. **Therapie**, v. 19, p. 571-589, 1964.

BORISH, L.C.; NELSON, H.S.; LANZ, M.J.; CLAUSSEN, L.; WHITMORE, J.B.; AGOSTI, J.M.; GARRINSON, L. Interleukin-4 receptor in moderate atopic asthma. A phase I/II randomized, placebo-controlled trial. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 160, p. 1816-1823, 1999.

BOULET, L.; TURCOTTE, H.; BOULET, M.; DUBE, J.; GAGNON, M. Influence of salmeterol on chronic and allergen-induced airway inflammation in mild allergic asthma – a pilot study. **Current Therapeutic Research**, v. 58, p. 240-259, 1997.

BOURNE, H.R.; LICHTENSTEIN, L.M.; MELMON, K.L.; HENNEY, C.S. Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP. **Science**, v. 184, p. 19, 1974.

BOUSQUET, J.; DEMDY, P.; MICHEL, F.B. Specific immunotherapy. In: BARNES, P. et al. (Ed.). **Asthma**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p. 1667-1682.

BRAESTRUP, C.; SQUIRES, R.F. Specific benzodiazepine receptor in rat brain characterized by high-affinity 3H diazepam binding. **Proceeding of the Academy of Natural Science of the United States of America**, v. 74, p. 3805-3809, 1977.

BRAMBILLA, F. Psychoneuroendocrinology: a science of the past or a new pathway for the future? **European Journal of Pharmacology**, v. 405, p. 341-349, 2000.

BRENNER, B.E. Where Have We Been? The History of Acute Asthma. In: BRENNER, B. E. (Ed.). **Emergency Asthma**, New York: Marcel Dekker. 1999. p. 1-31.

BRODERICK, P.A.; SIMMONS, D.A. Cytokines, stressors, and clinical depression: Augmented adaptation responses underlie depression pathogenesis. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 29, p. 793-807, 2005.

BROSSCHOT, D.; BENSCHOP, R.; GODAERT, G.; DE SMET, N.; HEIJNEN, C.; CALLIEUX, R. Effects of experimental psychological stress on distribution and function of peripheral blood cells. **Psychosomatic Medicine**, v. 54, p. 673-679, 1992.

BRUMMITT, R.K. **Vascular Plant Families and Genera**. Kew: Royal Botanic Gardens. 1992.

BYRON, J.W. Manipulation of the cell cycle of the hematopoietic stem cell. **Experimental Hematology**, v. 3, p. 44, 1975.

CANNON, W. **The Wisdom of the Body**. New York: Norton, 1932.

CAO, C.; MATSUMARA, K.; YAMAGATA, K.; WATANARE, Y. Involvement of cyclooxygenase-2 in LPS-induced fever and regulation of its mRNA by LPS in the rat brain. **American Journal of Physiology**, v. 282, p. 1712-1725, 1997.

CAVALLARO, S.; KORMEYEV, A.; GUIDOTTI, A.; COSTA, E. DBI-processing products, acting at the mitochondrial DBI receptor, mediate ACTH-induced steroidogenesis in rat adrenal. **Proceeding of the Academy of Natural Science of the United States of America**, v. 89, p. 10598-10602, 1992.

CHEN, G.; LU, H.; WANG, C.; YAMASHITA, K.; MANABE, M.; MENG, Z.; XKODAMA, H. Effect of live flavonoid compounds isolated from leaves of *Diospyros kaki* on stimulus-induced superoxide generation and tyrosyl phosphorylation of proteins in human neutrophils. **Clinica Chimica Acta**, v. 326, p. 169-175, 2002.

CHURCH, M.K.; HIROI, J. Inhibition of IgE-dependent histamine release from human dispersed lung mast cells by anti-allergic drugs and salbutamol. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 90, p. 421-429, 1987.

CHRISTMAS, A.J.; MAXWELL, D.R. A comparison of the effects of some benzodiazepines and other drugs on aggressive and exploratory behaviour in mice and rats. **Neuropharmacology**, v. 9, p. 17-29, 1970.

CHROUSOS, G.P.; GOLD, P.W. The concepts of stress and stress disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. **American Journal of Medical Association**, v. 267, p. 1244-1252, 1992.

CLARK, N.M.; STARR-SCHNEIDKRAUT, N.J. Management of asthma by patients and families. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 149, p. 54-56, 1994.

COCA, A.F.; COOKE, R.A. On the classification of the phenomena of hypersensitiveness. **Journal of Immunology**, v. 8, p. 163, 1923.

COHEN, S. Psychological stress and susceptibility to upper respiratory infections. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 152, p. 53-58, 1995.

COHN, L.; HOMER, R. J.; MacLEOD, H.; MOHRS, M.; BROMBACHER, F. Th2-induced airway mucus production is dependent on IL-4 Ralpha, but not on eosinophils. **Journal of Immunology**, v. 161, p. 6178-6183, 1999.

COHN, L.; RAY, A. T-helper type 2 cell-directed therapy for asthma. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 88, p.187-196, 2000.

COHN, L.; ELIAS, J.A.; CHUPP, G. L. Asthma: Mechanisms of Disease Persistence and Progression. **Annual Review of Immunology**, v. 22, p. 789-815, 2004.

COQUERET, O.; LAGENTE, V.; FRERE, C.P.; BRAQUET, P.; MENCIA-HUERTA, J.M. Regulation of IgE production by beta 2-adrenoceptor agonists. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 725, p. 44-49, 1994.

COSTA, J.J. The cells of the allergic response: mast cell, basophils and eosinophils. **Journal of the American Medical Association**, v.278, p. 1815, 1997.

COSTA-PINTO, F.A.; BASSO, A.S.; MOMTCHILO, R. Role of mast cell degranulation in the neural correlates of the immediate allergic reaction in a murine model of asthma. **Brain, Behavior and Immunity**, doi: 10.1016/j.bbi. 2007.01.002, 2007.

CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. New York: Columbia University Press, 1981.

CRONQUIST, A. **The Evolution and Classification of Lowering Plants**. 2. ed. The New York: Botanical Garden. 1988. 555p.

DAHLEN, I.; JANSEN, C. Anxiety and depression are related to the outcome of emergency treatment in patients with obstructive pulmonary disease. **Chest**, v. 122, p. 1633-1637, 2002.

DALE, H.H.; LAIDLAW, P. The physiological function of beta-iminoazolyethylamine. **Journal of Physiology**, v. 41, p. 318, 1910.

DANTZER, R.; KELLEY, K.W. Stress and immunity: An integrated view of relationships between the brain and the immune system. **Life Science**, v. 44, p. 1995-2008, 1989.

DANTZER, R.; KONSMAN, J.P.; BLUTHE, R.M.; KELLEY, K.W. Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? **Autonomic Neuroscience Basic and Clinical**, v. 85, p. 60-65, 2000.

DAWAR, U.; ALI, T.; QAISER, M. Hybridization in the *Sida ovata* complex (Malvaceae). I. Evidence for morphology, chemistry and cytology. **Willdenowia**, v. 25, p. 637-645, 1996.

DAWSON, G.R.; TRICKLEBANK, M.D. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. **Trends in Pharmacology Sciences**, v. 16, n. 2, p. 33-369, 1995.

DEITOS, F.H.; GASPARY, J.F.P. Psiconeuroimunologia: Aspectos Biopsicossociais. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 46, n. 2, p. 77-81, 1997.

DEITOS, F.H.; GASPARY, J.F.P.; LOPES, S.A. As implicações psiconeuroimunológicas do estresse no desencadeamento de doenças. **Jornal Brasileiro de Medicina**, 1996.

DI STASI, L.C. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência**. Um Guia de Estudo Interdisciplinar. São Paulo: Ed. Univ. Estadual Paulista, 1996, 230 p.

DIWAN, P.V.; KANTH, V.R. Analgesic, antiinflammatory and hypoglycaemic activities of *Sida cordifolia*. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 75-77, 1999.

DRUGAN, R. C.; HOLMES, P.V. Central and peripheral benzodiazepine receptors: involvement in an organism's response to physical and psychological stress. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, v. 15, p. 277-298, 1991.

DUNN, A.J.; ANTOON, M.; CHAPMAN, Y. Reduction of exploratory behavior by intraperitoneal injection of interleukin-1 involves brain corticotrophin-releasing factor. **Brain Research Bulletin**, v. 26, p. 539-542, 1991.

DURCAN, M.J.; LISTER, R.J. Does directed exploration influence locomotor activity in a hole-board test? **Behavioral Neural Biology**, v. 51, p. 121-125, 1989.

EK, M.; KUROSAWA, M.; LUNDEBERG, T.; ERICKSSON, A. Activation of vagal afferents after intravenous injection of interleukin-1 β : role of endogenous prostaglandins. **Journal of Neuroscience**, v. 18, p. 9471-9479, 1998.

ELLIS, A.G. The pathologic anatomy of bronchial asthma. **American Journal of Medicine Science**, v. 136, p. 407, 1908.

ESKOLA, J.; RUUSKANEN, O.; SOPPI, E.; VILJANEN, M.K.; JARVINEN, M.; TOIVONEN, H.; KOUVALAINEN, K. Effects of sport stress on lymphocyte transformation and antibody formation. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 32, p. 339, 1978.

FACINCONE, S.; PEREIRA de SIQUEIRA, A.L.; JANCAR, S.; RUSSO, M.; BARBUTO, J.A.M.; MARIANO, M. A novel murine model of late-phase reaction of immediate hypersensitivity. **Mediators of Inflammation**, v.6, p. 127-133, 1997.

FARNISWORTH, N.R. Relative safety of herval medicines. **Herbalgram**, v. 29, p. 36A-36H, 1993.

FAYON, M.; BEN-JEBRIA, A.; ELLEAU, C.; CARLES, D.; DEMARQUEZ, J.L.; SAVINEAU, J.P.; MARTHAN R. Human airway smooth muscle responsiveness in neonatal lung specimens. **American Journal of Physiology**, v. 267, p. L.180- L.186, 1994.

FENECH, A.; HALL, I.P. Pharmacogenetics of asthma. **Brazilian Journal of Clinica Pharmacology**, v. 53, p.3-15, 2002.

FERRARESE, C.; APPOLLONIO, I.; BIANCHI, G.; FRIGO, M.; MARZORATI, C.; PECORA, N.; PEREGO, M.; PIERPAOLI, C.; FRATTOLA, L. Benzodiazepine receptors and diazepam binding inhibitor: a possible link between stress, anxiety and the immune system. **Psychoneuroendocrinology**, v. 18, p. 3-22, 1993.

FERREIRA, S.H. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências 1998. 34p.

FEDYK, E.R.; ADAWI, A.; LOONEY, R.J.; PHIPPS, R.P. Regulation of IgE and cytokine production by cAMP: implications for extrinsic asthma. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 81, p. 101-113, 1996.

FILE, S.E. Potentiation of the effects of chlorpromazine on exploration in the rats by prior experience. **Psychopharmacology**, v. 29, p. 357-363, 1973.

FILE, S.E.; WARDILL, A.G. Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified hole-board. **Psychopharmacology**, v. 44, p.53-59, 1975.

FILE, S.E. What can be learned from the effects of benzodiazepines on exploratory behavior? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 9, p. 45-54, 1985.

FILE, S.E.; ZANGROSSI, H. JR. One trial tolerance to the anxiolytic actions of benzodiazepines in the elevated plus-maze, or the development of a phobic state? **Psychopharmacology**, v. 110, p. 240-244, 1993.

FOSTER, P.S.; MOCZYGEMBA, M.M.; HUSTON, D.P.; CORRY, D.B. Interleukins-4, 5, and 13: emerging therapeutics targets in allergic disease. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 94, p. 253-264, 2002.

FRANCO, C.I.F. **Estudo da Atividade Psicofarmacológica no Sistema Nervosa Central de *Sida cordifolia* Linn. (Malvaceae) em Roedores**. 2003. 129 fls. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2001.

FRANCO, C.I.F.; MORAIS, L.C.S.L.; ALMEIDA, R.N.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; ANTONIOLLI, A.R. CNS pharmacological effects of the hydroalcoholic extract of *Sida cordifolia* L. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 275-279, 2005.

FRANZOTTI, E.M.; ANTONIOLLI, A.R.; RODRIGUES, H.M.S.L.; MOURÃO, R.H.V.; SANTOS, C.V.F.; ANDRADE, M.R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 273-278, 2000.

FRYXELL, P.A. *Sida* Sidarum V. The North and Central American Species of *Sida*. **Sida**, v. 11, p. 62-91, 1985.

FUERTES, F.J. **Revisión taxonómica del género *Sida* L. (Malvaceae) en Colombia.** Salamanca: Universidade de Salamanca. Facultade de Biología / Departamento de Biología Vegetal. 1993. 155 p.

GARDINER, P.V.; WARD, C.; BOOTH, H.; ALISSON, A.; HENDRICK, D.J.; WALTERS, E.H. Effect of eight weeks of treatment with salmeterol on bronchoalveolar lavage inflammatory indices in asthmatics. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 150, p. 1006-1011, 1994.

GELL, P.G.H.; COOMBS, R.R.A. **Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease.** 1968.

GELL, P.G.H.; COOMBS, R.R.A.; LACHMANN, P.J. **Clinical aspects of immunology.** Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1975. p. 761 - 781.

GHOSAL, S.; CHAUHAN, R.B.P.S.; MEHTA, R. Alkaloids of *Sida cordifolia*. **Phytochemical Reports**, v. 14, p. 830-832, 1975.

GILBERT, M.S.; PAYAN, D.G. Interaction between the nervous and immune systems. **Front. Neuroendocrinology**, v. 12, p. 299-322, 1991.

GOEHLER, L.E.; GAYKEMA, R.P.A.; NGUYEN, K.T.; LEE, J.F.E.; TILDERS, F.J.H.; MAIER, S.F.; WATKINS, L.R. Interleukin-1 β in immune cells of the abdominal vagus nerve: a link between the immune and nervous systems? **Journal of Neuroscience**, v. 19, p. 2799-2806, 1999.

GOLDIE, R.G.; PAPADMITRIOU, J.M.; PATERSON, J.W.; SELF, H.M.; SPINA, D. Influence of epithelium on responsiveness of guinea-pig isolated trachea to contractile and relaxant agonists. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 87, p. 5-14, 1986.

GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**, São Paulo: Ateneu, 2000, p.123-160.

GRAEFF, F.G.; SCORZA, M.C.; SILVEIRA, R.; REYES-PARADA, M.; SILVEIRA, R.; VIOLA, H.; MEDINA, J.H.; VIANA, M.B.; ZANGROSSI, H.Jr.; Behavioral effects of the putative anxiolytic (+/-)-1-(2,5-dimethoxy-4-ethylthiophenyl)-2-aminopropane (ALEPH-2) in rats and mice. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**, v. 54, p. 355-361, 1996.

GRUNING, G.; WARNOCK, M.; WAKIL, A.E.; VENKAYYA, R.; BROMBACHER, F.; RENNICK, D.M.; SHEPPARD, D.; MOHRS, M.; DONALDSON, D.D.; LOCKSLEY, R.M.;

CORRY, D.B. Requirement for IL-13 independently for IL-4 in experimental asthma. **Science**, v. 282, p. 2261-2263, 1998.

GUARALDO, L.; CHAGAS, D.A.; KONNO, A.C.; KORN, G.P.; PFIFFER, T.; NASELLO, A.G. Hydroalcoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* Poiret: effects on spontaneous motor activity and elevated plus-maze behavior. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 61-67, 2000.

GUNATILAKA, A.A.L.; SOTHEESWARAN, S.; BALASUBRAMAIAN, S.; CHANDRASEKA, A.I. Studies on medical plants of Sri Lanka. **Planta Medica**, v.39, p.66-72, 1980.

GUSTAFSSON, J.A.; CARLSTEDT-DUKE, J.; POELLINGER, L.; OKRET, S.; WIKSTROM, A.C.; BRONNEGARD, M.; GILLNER, M.; DONG, Y.; FUXE, K.; CINTRA, A. Biochemistry, molecular biology, and physiology of the glucocorticoid receptor. **Endocrinological Reviews**, v. 8, p. 185-234, 1987.

HART, B.L. Biological basis of the behavior of sick animals. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 12, p. 123-137, 1988.

HAMELMANN, E.; GELFAND, E.W. IL-5-induced airway eosinophilia – the key to asthma? **Immunological Reviews**, v. 179, p. 182-191, 2001.

HANDLEY, S.L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 327, p. 1-5, 1984.

HATTORI, M.; NAKABAYASHI, T.; LIM, Y.A.; MIYASHIRO, H.; KUROKAWA, M.; SHIRAKI, K.; GUPTA, M.P.; CORREA, M.; PILAPITIYA, U. Inhibitory effects of various ayurvedic and Panamanian medicinal plants on the infection of herpes simplex virus-1 in vitro and in vivo. **Phytotherapy Research**, v. 9, p. 270-276, 1995.

HEDFORS, E.; HOLM, G.; IVANSEN, M.; WAHREN, J. Psychological variation of blood lymphocyte reactivity: T-cell subsets, immunoglobulin production, and mixed-lymphocytoreactivity. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 27, p. 9, 1983.

HELTON, D.R.; BERGER, J.E.; CZACHURA, J.F.; RASMUSSEN, K.; KALLMAN, M.J. Central nervous system characterization of the New Cholecystokinin_B antagonist LY288513. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 53, n.3, p. 493-502, 1996.

- HERMAN, J.P.; CULLINAN, W.E. Neurocircuitry of stress: Central control of hypothalamopituitary-adrenocortical axis. **Trends in Neuroscience**, v. 20, p. 78-84, 1997.
- HEGELE, G.R. The pathology of asthma: brief review. **Immunopharmacology**, v. 48, p. 257-262, 2000.
- HIRATA, F. The regulation of lipomodulin, a phospholipase inhibitory protein in rabbit neutrophils by phosphorylation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 256, p. 7730-7733, 1981.
- HOGG, S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 54, p. 21-30, 1996.
- HOLGATE, S.T.; BRADDING, P.; SAMPSON, A.P. Leukotriene antagonists and synthesis inhibitors: new directions in asthma therapy. **Journal of Allergy Clinical and Immunology**, v. 98, p.1-13, 1996.
- HOLMES, P. V.; DRUGAN, R. C. Stress-induced regulation of the renal peripheral benzodiazepine receptor: possible role of the renin-angiotensin system. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, p. 43-54, 1994.
- HOLT, P.G.; ROSE, A.H.; BATTY, J.E.; TURNER, K.J. Introduction of Adjuvant-Independent IgE Responses in Inbred Mice: Primary, Secondary, and Persistent IgE Responses to Ovalbumin and Ovomucoid. **International Archives Applied in Immunology**, v. 65, p. 42-50, 1981.
- HOMER, R.J.; ELIAS, J.A. Consequences of long-term inflammation. Airway remodeling. **Clinics in Chest Medicine**, v. 21, p. 331-343, 2000.
- HUGHES, J.M.; SEALE, J.P.; TEMPLE, D.M. Effect of fenoterol on immunological release of leukotrienes and histamine from human lung in vitro: selective antagonism by β -adrenoceptor antagonists. **European Journal of Pharmacology**, v. 95, p. 239-245, 1983.
- HUSBAND, A.J. Role of central nervous system and behaviour in the immune response. **Vaccine**, v. 11, p. 805-816, 1993.
- HUMBLES, A.A.; LLOYD, C.M.; McMILLAN, S.J.; FRIED, D.S.; XANTHOU, G.; McKENNA, E.E.;GHIRAN, S.; GERARD, N.P.; YU, C.; ORKIN, S.H.; GERAD, C. A critical role for eosinophils in allergic airways remodeling. **Science**, v. 305, p. 1776-1779, 2004.

HYLAND, M.; FINNIS, S.; IRVINE, S.H. A scale for assessing quality of life in adult asthma sufferers. **Journal of Psychosomatic Research**, v. 35, p. 99-110, 1991.

INAGAKI, N.; KAWASAKI, H.; NAGAI, H.; HIYAMA, H.; GOTO, M.; MATSUO, A. Inhibitory mechanisms of beta-adrenoceptor agonists for immunoglobulin E-mediated experimental allergic reaction in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 336, p. 225-231, 1997.

INAGAKI, N.; MIURA, T.; DAIKOKU, M.; NAGAI, H.; KODA, A. Inhibitory effects of beta-adrenergic stimulants on increased vascular permeability caused by passive cutaneous anaphylaxis, allergic mediators, and mediator releasers in rats. **Pharmacology**, v. 39, p. 19-27, 1989.

INUI, A. Cytokines and sickness behavior: implications from knockout animal models. **Trends in Immunology**, v. 22, p. 469-473, 2001.

ISHIZAKA, K. Regulation of IgE synthesis. **International Archives of Allergy Applied Immunology**, v. 88, p. 8-13, 1988.

JANSON, C.; PRINSSON, E.; HETTA, J.; BOMAN, G. Anxiety and depression in relation to respiratory symptoms and asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 149, p. 930-934, 1994.

JOOS, G.F. Neurogenic inflammation in human airways: is it important? **Thorax**, v. 50, p. 217-219, 1995.

JOOS, G.F.; VAN SCHOOR, J.; KIPS, J.C.; PAUWELS, R.A. The effect of inhaled FK244, a tachykinin NK-1 and NK-2 receptor antagonist, on neurokininA-induced bronchoconstriction in asthmatics. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 153, p. 1781 – 1784, 1996.

JOHNSON, M. The preclinical pharmacology of salmeterol: non-bronchodilator effects. **European Respiratory Reviews**, v. 1, p. 257-260, 1991.

KANTH, V.R.; DIWAN, P.V. Analgesic, anti-inflammatory and hypoglycaemic activities of *Sida Cordifolia*. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 75-77, 1999.

KATZ, D.H. Regulation of IgE system. **Allergy**, v. 39, p. 81-106, 1984.

KAY, A.B.; WALSH, G.M.; MOQBEL, R.; MACDONALD, A.J.; NAGAKURA, T.; CARROLL, M.P.; RICHERSON, H.B. Disodium cromoglycate inhibits activation of human inflammatory cells in vitro. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 80, p. 1-8, 1987.

KATAOKA, M.; HIRATA, K.; KUNIKATA, T.; USHIO, S.; IWAKI, K.; OHASHI, K.; IKEDA, M.; KURIMOTO, M. Antibacterial action of typtanthrin and kaempferol, isolated from the indigo plant (*Polygonum tinctorium* Lour.) against *Helicobacter pylori*-infected *Mongolian gerbils*. **Journal of Gastroenterology**, v. 36, p. 5-9, 2001.

KEENEY, E.L. The history of asthma from Hippocrates to Meltzer. **Journal of Allergy**, v. 32, p. 215, 1964.

KELLER, S.E.; WEISS, J.M.; SCHLEIFER, J.; MILLER, N.M.; STEIN, M. Stress-induced suppression of immunity in adrenalectomized rats. **Science**, v. 221, p. 1301, 1983.

KEMP, S.F.; LOCKEY, R.F. Anaphylaxis: a review of causes and mechanisms. **Journal of Allergy Clinical and Immunology**, v. 110, p. 341, 2002.

KENT, S.; BLUTHE, R.M.; KELLEY, K.W.; DANTZER, R. Sickness behavior as a new target for drug development. **Trends in Pharmacological Science**, v. 13, p. 24-28, 1992.

KIECOLT-GLASER J.K.; GLASER, R. Psychoneuroimmunology: can Psychological interventions modulate immunity? **Journal Consulting Clinical Psychology**, v. 60, n. 4, p. 569-75, 1992.

KIMATA, H.; MIKAWA, H. Nedocromil sodium selectivity inhibits IgE and IgG4 production in human B cells stimulated with IL-4. **Journal of Immunology**, v. 151, p. 6723-6732, 1993.

KIERNAN, J.A. Degranulation of mast cells in the trachea and bronchi of the rat following stimulation of the vagus nerve. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 91, p. 398-402, 1990.

KOHM, A.P.; SANDERS, V.M. Norepinephrine: a messenger from the brain to the immune system. **Immunology Today**, v. 21, p. 539-542, 2000.

KONSMAN, J.P.; PARNET, P.; DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. **Trends in Neuroscience**, v. 25, p. 154-159, 2002.

KRÄMER, M.H.; CAETANO, D.; CAETANO, S.C. Psiconeuroimunoendocrinologia. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 48, n. 7, p. 307-314, 1999.

KROEGEL, C.; VIRCHOW, J.R.; LUTTMANS, W.; WALKER, C.; WARNER, J.A. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leucocyte (Part 1). **European Respiratory Journal**, v. 7, p. 519-543, 1994.

KUSNECOV, A.W.; RABIN, B.S. Stressor-induced alterations of immune function: mechanisms and issues. **Archives of Allergy and Immunology**, v. 105, p. 107-121, 1994.

LAIRD, H.E.; GERRISH, K.E.; DUERSON, K.C.; PUTNAM, C.W.; RUSSEL, D.H. Peripheral benzodiazepine binding sites in Nb2 node lymphoma cells: effects on prolactin-stimulated proliferation and ornithine decarboxylase activity. **European Journal of Pharmacology**, v. 171, p. 25-35, 1989.

LARCHÉ, M.; KAY, A.B.; ROBINSON, D.S. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. **Journal of Allergy Clinical and Immunology**. V. 11, p. 450-463, 2003.

LARSON, S.J.; DUNN, A.J. Behavioral Effects of Cytokines. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 15, p. 371-387, 2001.

LARSON, S.J.; ROMANOFF, R.R.; DUNN, A.J.; GLOWA, J.R. Effects of interleukin-1 on food-maintained behavior in the mouse. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 16, p. 398 - 410, 2002.

LAUDENSLAGER, M.L.; RYAN, S.M.; DRUGAN, R.C.; HYSON, R.L.; MAIER, S.E. Coping and immunosuppression: inescapable but not escapable shock suppresses lymphocyte proliferation. **Science**, v. 221, p. 568, 1983.

LAZZARINI, R.; MALUCELLI, B.E.; PALERMO-NETO, J. Reduction of acute inflammation in rats by diazepam: role of peripheral benzodiazepine receptors and corticosterone. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 23, p. 253-265, 2001.

LAWRENCE, D.A. Psychologic stress and asthma: neuropeptide involvement. **Environ. Health Perspective**, v. 110, p. 230-231, 2002.

LE MARCHAND, L. Cancer preventive effects of flavonoids – a review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 56, p. 269-301, 2002.

LEE, E.; ROBERTSON, T.; SMITH, J.; KILFEATHER, S. Leukotriene receptor antagonists and synthesis inhibitors reverse survival in eosinophils of asthmatic individuals. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v.161, p. 1881-1886, 2000.

LEHRER, P.M.; ISENER, S.; HOCHRON, S.M. Asthma and emotion: a review. **Journal of Asthma**, v. 30, p. 5-21, 1993.

LENCZOWSKI, M.J.P.; BLUTHE, R.M.; ROTH, J.; REES, G.S.; REES, D.A. Central administration of rat IL-6 induces HPA activation and fever but not sickness behavior in rats. **American Journal of Physiology**, v. 276, p. 652-658, 1999.

LEUNG, K.B.; FLINT, K.C.; BROSTOFF, J.; HUDSPITH, B.N.; JOHNSON, N.M.; LAU, H.I.; LIU, W.L.; PEARCE, F.L. Effects of sodium cromoglycate and nedocromil sodium on histamine secretion from human lung mast cells. **Thorax**, v. 43, p. 756-761, 1988.

LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, p. 180-185, 1987.

LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 46, p. 321-340, 1990.

LOH, R.K.S.; JABARA, H.H.; REN, C.L.; Fu, S.M.; GEHA, R.S. Role of protein tyrosine kinases in CD40/interleukin-4-mediated isotype switching to IgE. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 94, p. 784-792, 1994.

LÜCHT-EISENBACH, V.I.G. **Benzodiazepine involved immunoglobulin secretion tracing the pathway of CD 23 to the involvement of a benzodiazepine receptor engaged in immunoglobulin secretion.** Disponível em: <http://www.vsa-inst.de/news.php?SID> & article_category. Acesso em: 29 jan. 2005.

MacDONALD, I.G. The local and constitutional pathology of bronchial asthma. **Annals of Internal Medicine**, v. 6, p. 253, 1933.

MCEWEN, B.S.; BIRON, C.A.; BRUNSON, K.W.; BULLACH, K.; CHAMBERS, W.H.; DHABHAR, F.S.; GOLDFARB, R.H.; KITSON, R.P.; MILLER, A.H.; SPENCER, R.L.; WEISS, J.M. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. **Brain Research Reviews**, v. 23, p. 79-113, 1997.

MACGLASHAN, D.W.; SCHLEIMER, R.P.; PETERS, S.P.; SCHULMAN, E.S.; ADAMS, G.K.I.; NEWBALL, H.H.; LICHTENSTEIN, L.M. Generation of leukotrienes by purified human lung mast cells. **Journal of Clinical Investigation**, v. 70, p. 747-751, 1982.

MADDEN, K.S.; FELTEN, D.L. Experimental basis for neural-immune interactions. **Physiological Reviews**, v. 75, p. 77, 1995.

MADDOX, L.; SCHWARTZ, D.A. The pathophysiology of asthma. **Annual Review of Medicine**, v. 53, p. 477-498, 2002.

MAIA, J.G.S.; MARCOPITO, L.F.; AMARAL, A.N.; TAVARES, B.F.; SANTOS, F.A.N.L. Prevalência de asma e sintomas asmáticos em escolares de 13 e 14 anos de idade. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 292-299, 2004.

MALLING, H.M.; WEBSTER, M.E.; WILLIAMS, M.A.; WILFORD, S.; ANDERSON Jr, W. Inflammation induced by histamine, serotonin, bradykinin and compound 48/80 in the rat: Antagonists and mechanisms of action. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 191, p. 300-310, 1974.

MANUCK, S.B.; COHEN, S.C.; RABIN, B.S.; MULDOON, M.F.; BACHEN, E.A. Individual differences in cellular immune response to stress. **Psychological Science**, v. 2, p.111-115, 1991.

MARKETOS, S.G.; BALLAS, C.N. Bronchial asthma in medical literature of Greek antiquity. **Journal of Asthma**, v. 19, p. 263, 1982.

MARINO, F.; CATTANEO, S.; COSENTINO, M.; RASINI, E.; DI GRAZIA, L.; FIETTA, A.M.; LECCHINI, S.; FRIGO, G. Diazepam stimulates migration and phagocytosis of human neutrophils: possible contribution of peripheral-type benzodiazepine receptors and intracellular calcium. **Pharmacology**, v. 63, p. 42-49, 2001.

MAYR, S.I.; ZUBERI, R.I.; LIU, F.T. Role of immunoglobulin E and mast cells in murine models of asthma. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, p. 821-827, 2003.

MCKAY, D.M.; BIENNESTOCK, J. The interaction between mast cells and nerves in the gastrointestinal tract. **Immunology Today**, v. 15, p. 533-538, 1994.

MELLO, F.J. **Psicossomática Hoje**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1992.

- MILLER, G.W.; LIUZZI, F.; RATZLAFF, R.E. Involvement of an axonal reflex in IgE-mediated inflammation in mouse skin. **Journal of Neuroimmunology**, v. 57, p. 137-141, 1995.
- MIURA, T.; INAGAKI, N.; YOSHIDA, K.; NAKAJIMA, T.; NAGAI, H.; KODA, A. Mechanisms for glucocorticoid inhibition of immediate hypersensitivity reactions in rats. **Journal of Pharmacological Science**, v. 59, p. 77-87, 1992.
- MIYAN, J.A.; DOWNING, J.E.G. Neural immunoregulation: emerging roles for nerves in immune homeostasis and disease. **Immunology Today**, v. 21, p. 281-289, 2000.
- MONERET-VAUTRIN, D.A.; MORISSET, M.; FLABBEE, J.; BEAUDOUIN, E.; KANNY, G. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. **Allergy**, v. 60, p. 443-451, 2005.
- MONTGOMERY, K.C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. **Journal of Comparative Psychology**, v. 48, p. 254-260, 1955.
- MONJAN, A.A.; COLLECTOR, M.I. Stress-induced modulation of the immune response. **Science**, v. 196, p. 307, 1977.
- MONNIER, C.; LALONDE, R. Elevated + maze and hole-board exploration in lurcher mutant mice. **Brain Research**, v. 702, p. 169-172, 1995.
- MORAIS, L.C.S.L.; ALMEIDA, R.N.; BARBOSA-FILHO, J.M. Central depressant effects of reticuline extracted from *Ocotea duckei* in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 57-61, 1998.
- MOREIRA, M.S. **Psiconeurofarmacologia**. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.
- MUZAFFER, A.J. Screening of *Sida cordifolia* Linn. *Sida Rhomboidea* Linn and *Triumfetta rotundifolia* Linn. for anti-inflammatory and anti-pyretic activities. **Indian Drugs**, v. 28, n. 9, p. 397, 1991.
- NAKAJIMA, H.; IWAMOTO, I.; TOMOE, S.; MATSUMARA, R.; TOMIOKA, H.; TAKATSU, K.; YOSHIDA, S. CD4+ T-lymphocytes and interleukin-5 mediate antigen-induced eosinophilic infiltration into mouse trachea. **American Reviews of Respiratory Disease**, v. 146, p. 374-377, 1992.

NALINE, E.; MOLIMARD, M.; REGOLI, D.; EMONDS-ALT, X.; BELLAMY, J.F.; ADVENIER, C. Evidence for functional tachykinin NK-1 receptors on human isolated small bronchi. **American Journal of Pshysiology**, v. 271, p. 763- 767, 1996.

NASELLO, A.G.; MACHADO, C.; BASTOS, J.F.; FELICIO, L.F. Sudden darkness induces a high activity-low anxiety state in male and female rats. **Physiology and Behaviour**, v. 63, n. 3, p. 451-454, 1998.

NICHOLSON, K.G.; KENT, J.; IRELAND, D.C. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 307, p. 982-986, 1993.

NICHOLSON, K.; SMITH, A. Psychosocial factors, respiratory viruses and exacerbation of asthma. **Psychoneuroendocrinology**, v. 26, p. 411-420, 2001.

NIEBER, K.; BAUMGARTEN, C.R.; RATHSACK, R.; FURKERT, J.; OEHME, P.; KUNKEL, G. Substance P and beta-endorphin-like immunoreactivity in lavage fluids of subjects with and without allergic asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 90, p. 646-652., 1992.

OHARA, J.; PAUL, W.E. Up-Regulation of Interleukin 4/B-Cell Stimulatory Factor 1 Receptor Expression. **Proceeding and the Academy of Natural Science of the United States of America**, v. 85, p. 8221-8225, 1988.

OSHIBA, A.; HAMELMANN, E.; TAKEDA, K.; BRADLEY, K.L.; LOADER, J.E.; LARSEN, G.L.; GELFRAND, E.W. Passive Transfer of Immediate Hypersensitivity and Airway Hyperresponsiveness by Allergen-specific Immunoglobulin (Ig) E and IgG1 in Mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, p. 1398-1408, 1996.

PALERMO-NETO, J.; GUIMARÃES, R.K. Pavlovian conditioning of lung anaphylactic response in rats. **Life Science**, v. 68, p. 611-623, 2000.

PALERMO-NETO, J.; SILVA, F.R.; LAZZARINI, R.; SÁ-ROCHA, L.C.; MORGULIS, M.S.L.A.; MASSOCO, C.O. Effects of acute and long-term diazepam administrations on neutrophil activity: a flow cytometric study. **European Journal of Pharmacology**, v. 478, p. 97-104, 2003.

PALMER, L.J.; SILVERMAN, E.S.; WEISS, S.T.; DRAZEN, J.M. Pharmacogenetics of asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 6, p. 165-861, 2002.

PAPADOPOULOS, V. Peripheral-type benzodiazepine/diazepam binding inhibitor receptor: biological role in steroidogenic cell function. **Endocrinology of Reviews**, v. 14, p. 222-240, 1993.

PAPADOPOULOS, V.; MUKHIN, A.G.; COSTA, E.; KRUEGER, K.E. The peripheral-type benzodiazepine receptor is functionally linked to Leydig cell steroidogenesis, **Journal of Biology Chemistry**, v. 265, p. 3772-3779, 1990.

PEDEN, D.B. The epidemiology and genetics of asthma risk associated with air pollution. **Journal of Allergy Clinical and Immunology**, v. 115, p. 213-219, 2005.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open closed arm entries in elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v.14, p.149-167, 1985.

PENG, W.H.; HSIEH, M.T.; LEE, Y.S.; LIN, Y.C.; LIAO, J. Anxiolytic effect of seed of *Ziziphus jujuba* in mouse models of anxiety. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p. 435-441, 2000.

PEREZ, R.M.; PEREZ, J.A.; GARCIA, L.M.; SOSSA, H. Neuropharmacological activity of *Solanum nigrum* fruit. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 43-48, 1998.

PETERSON, P.K.; CHAO, C.C.; MOLITOR, T. Stress and pathogenesis of infectious disease. **Review International Disease**, v. 13, p. 710-20, 1991.

PETERS-GOLDEN, M. Molecular mechanisms of leukotriene synthesis: the changing paradigm. **Clinical Experimental and Allergy**, v. 98, p. 1059-1065, 1998.

PIGNATTI, P. F. Trends in pharmacogenomics of drugs used in the treatment of asthma. **Pharmacological Research**, v. 49, p. 343-349, 2004.

PRAUSNITZ, C.; KUSTNER, M. **Studien uber die Ueberempfindlichkeit**. Zbl Bkt. 1921, 160p.

PREGER, J.; GAUER, G.C.; VON MÜHLEN, C.A. Sistema neuroendócrino e atividade imune no estresse e depressão. **Psiquiatria Biológica**, v. 3, p. 14-25, 1995.

PROENÇA, C. **Plantas Medicinais em Fisioterapia e Principais Aspectos Ergulamentadores Propostos pela OMS.** In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL 14, 1996, Florianópolis. Florianópolis: UFSC, 1996.

PURCELL, W.M.; ATTERWIL, C.K. Mast cells in neuroimmune function: Neurotoxicological and neuropharmacological perspectives. **Neurochemistry Research**, v. 20, p. 521-532, 1995.

PUMPHREY, R. Anaphylaxis: can we tell who is at risk of a fatal reaction? **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 4, p. 285-290, 2004.

QUAN, N.; WHITESIDE, M.; KIM, L.; HERKENHAM, M. Induction of inhibitory factor $\kappa B\alpha$ mRNA in the central nervous system after peripheral lipopolysaccharide administration: an in situ hybridization histochemistry study in the rat. **Processing and the Academy of Natural Science of Philadelphia**, v. 94, p. 10985-10990, 1997.

RADHAKRISHNAN, R.; ZAKARIA, M.N.; ISLAM, M.W.; CHEN, H.B.; KAMIL, M.; CHAN, K.; AL-ATTAS, A. Neuropharmacological actions of *Portulac oleracea* L. v. sativa (Hawk). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 171-176, 2001.

RANDOLPH, D.A.; CARRUTHERS, C.J.; SZABO, S.J.; MURPHY, K.M.; CHAPLIN, D.D. Modulation of Airway Inflammation by Passive Transfer of Allergen-Specific Th1 and Th2 Cells in a Mouse of Asthma. **Journal of Immunology**, v.162, p. 1375-2383, 1999.

RASTOGI, R.P.; MALHOTRA, B.N. **Compendium of Indian Medical Plants.** Luknow: CDRI, 1985. v. 4.

RATES, S.M.K. de-PARIS, F.; NEVES, G.; SALGUEIRO, J.B.; QUEVEDO, J.; IZQUIERDO, I. Psychopharmacological screening of *Pfaffia glomerata* Spreng. (Amaranthaceae) in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 261-526, 1996.

RATZLAFF, R.E.; CAVANAUGH, V.J.; MILLER, G.W.; OAKES, S.G. Evidence of a neogenic component in IgE-mediated inflammation in mouse skin. **Journal of Neuroimmunology**, v. 41, p. 89-96, 1992.

RAY, A.; PREFONTAINE, K.E. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor. **Processing and the Academy of Natural Science of Philadelphia**, v. 91, p. 752-756, 1994.

RAY, A.; ZHANG, D.H.; RAY, P. Antagonism of nuclear factor- κB functions by steroid hormone receptors. **Biochemical Society Transaction**, v. 23, p. 952-958, 1995.

RIETVELD, S.; EVERAERD, W.; CREER, T.L. Stress-induced asthma: a review of research and potential mechanisms. **Clinical Experimental and Allergy**, v. 30, p. 1058-1066, 2000.

RILEY, V. Psychoneuroendocrine influences on immunocompetence and neoplasia. **Science**, v. 212, p. 1100, 1981.

RINNER, I.; SCHAUENSTEINS, K.; MAGGE, H.; PORTA, S.; KVETNANSKY, R. Opposite effects of mild and severe stress on in vitro activation of rat peripheral blood lymphocytes. **Brain Behavior and Immunity**, v. 6, p. 130-140, 1992.

ROBERTS, C.R.; OKAZAWA, M.; WIGGS, B.; PARE, P. Airway Wall Thickening. In: BARNES, P.J. et al. (Ed.). **Asthma**. Philadelphia: Lippencott-Raven, 1997. p. 925-936.

ROBINSON, D.; HAMID, Q.; BENTLEY, A.; YING, S.; KAY, A.B.; DURHAM, S.R. Activation of CD4⁺T cells, increased TH₂-type cytokine mRNA expression, and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in patients with atopic asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 92, p. 313-324, 1993.

RODGERS, R.J.; COLE, J.C.; DAVIES, A. Antianxiety and behavioral suppressant actions of the novel 5-HT receptor agonist, flesionoxan. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 48, p. 959-963, 1997b.

RODGERS, R.J.; CAO, B.J.; DALVI, A.; HOLMES, A. Animal models of anxiety on ethological perspective. **Brazilian Journal of Medicine and Biological Research**, v. 30, p. 289-304, 1997a.

RODRIGUEZ, E.E.L.; BROITMAN, S.T.; FOSCOLO, M.R. Effects of the chronic ingestión of chlorimipramine and desipramine on the hole board response to acute stresses in male rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 26, p. 207-210, 1987.

ROTH, A.; CHAFFNER, W.; HERTEL, C. Phytoestrogen kaempferol (3, 4, 5, 7 – tetrahydroxyflavone) protects PC12 and T47D cells from beta-amyloid-induced toxicity. **Journal of Neuroscience Research**, v. 57, p. 399-404, 1999.

RUFF, M.R.; PERT, C.B.; WEBER, R.J.; WAHL, S.M.; WAHL, L.M.; PAUL, S.M. Benzodiazepine receptor-mediated chemotaxis of human monocytes. **Science**, v. 229, p. 1281-1283, 1985.

RUIZ, I. Comparative study on benzodiazepine use in Canada and Chile. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 33, p. 124-125, 1993.

RUSSO, M.; NAHORI, M.A.; LEFORT, J.; GOMES, E.; de CASTRO, A. Suppression of asthma-like responses in different mouse strains by oral tolerance. **American Journal of Respiratory and Cellular Molecular Biology**, v. 24, p. 518-526, 2001.

SAAVEDRA, D.A.M.; COHEN, S.G.; HUANG, T.I. The yellow emperor and the Nei ching: antiquity's earliest reference to asthma. **Allergy Proceeding**, 1991.

SAMPSON, A.P.; SDDIQUI, S.; BUCHANAN, D.; HOWARTH, P.H.; HOLGATE, S.T.; HOLLOWAY, J.W.; SAYERS, I. Variant LTC₄ synthase allele modifies cysteinyl leukotriene synthesis in eosinophils and predicts clinical response zafirlukast. **Thorax**, v. 55, p. 28-31, 2000.

SAPER, C.B.; SCAMMELL, T.E.; ELMQUIST, J.K. Mechanisms of CNS response to systemic immune challenge: the febrile response. **Neuro-immune Interactions**, v. 20, 1997.

SCHAPOVAL, E.E.E.; WINTER DE VARGAS, M.R.; CHAVES, C.G.; BRIDI, R.; ZUANAZZI, J.A.; HENRIQUES, A.T. Antiinflammatory and antinociceptive activities of extracts and isolated compounds from *Stachytarpheta cayennensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 60, p. 53-59, 1998.

SCHERER, S.H.; LEUNG, D.Y. Advances in allergic skin disease, anaphylaxis and hypersensitivity reactions to foods, drugs and insect stings. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.114, p. 118-124, 2004.

SILVA, A.L.; ELISABETSKY, E. Interference of propylene glycol with the hole-board test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 14, p. 47-50, 2001.

SIMON, P.; PANISSAUD, C.; COSTENTIN, J. Anxiogenic-like effects induced by stimulation of dopamine receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 45, p. 685-690, 1993.

SIVADASAN; ANIL-KUMAR, N. *Sida ravii*, a new species of Malvaceae from India. **Willdenowia**, v. 25, p. 651-654, 1996.

SORKIN, E.; DEL REY, A.; BESEDOVSKY, H.O. Neuroendocrine control of the immune response. In: STEIMBERG, C.M.; LEFKOVITS, I. (Ed.). **The Immune System**. S. Karger: Basel, 1981. p.340-348.

SOUSA-MUCIDA, D.; KELLER, A.C. K.; FERNEVIK, E. C. Unconventional strategies for the suppression of allergic asthma. **Current Drugs Targets Inflammatory Allergy**, v. 2, p. 187-195, 2003.

SPADARO, F.; DUNN, A.J. Intracerebroventricular administration of interleukin-1 to mice alters investigation of stimuli in a novel environment. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 4, p. 308-322, 1990.

STHAL, S.M. **Essential Psychopharmacology Neuroscientific Basis and Practical Applications**. New York: Cambridge University Press, 1996. 375p.

STEINMAN, L.; CONLON, P.; MAKI, R.; FOSTER, A. The intricate interplay among body weight, stress and the immune response to friend or foe. **Journal of Clinical Investigation**, v. 111, p. 183-183, 2003.

STEINMAN, L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems. **Nature Immunology**, v. 5, p. 575-581, 2004.

STRAUB, R.H.; WESTERMANN, J.; FALK, W.; SCHOLMERICH, J. Dialogue between the CNS and the immune system in lymphoid organs. **Immunology Today**, v. 19, p. 409-413, 1998.

SWIRGIEL, A.H.; BURUNDA, T.; PATTERSON, B.; DUNN, A.J. Endotoxin and interleukin-1 induced hypophagia are not affected by noradrenergic, dopaminergic, histaminergic and muscarinic antagonists. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 63, p. 629-637, 1999.

TAFET, G.E.; BERNARDINI, R. Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 27, p. 893-903, 2003.

TAKEDA, H.; TSUJI, M.; MATSUMIYA, T. Changes in head-dipping behaviour in the hole-board test reflect the anxiogenic and / or axiolytic state in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 350, p. 21-29, 1998.

TEHRANI, M.J.; STENBERG, E.M. Animal models of neuroimmune interactions in inflammatory diseases. **Journal of Neuroimmunology**, v. 100, p.13-20, 1999.

TELLES FILHO, d'A. P. **Asma Brônquica/História da Asma**. 2004. Disponível em: www.asmabronquica.com.br Acesso em: 14 jun. 2006.

TEIXEIRA, L.K.; FONSECA, B.P.; BARBOZA, B.A.; VIOLA, J.P. The role of interferon-gamma on immune and allergic response. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.100 Suppl 1, p. 137-144, 2005.

THAKORE, J.H.; CONDREN, R.M.; O'NEILL, A.; RYAN, M.C.M.; BARRETT, P. HPA axis response to a psychological stressor in generalized social phobia. **Psychoneuroendocrinology**, v. 27, p. 693-637, 1999.

THEOHARIDES, T.C. Mast cells: the immune gate to the brain. **Life Science**, v. 46, p. 607-617, 1990.

THE WEALTH OF INDIA. Publication and Information Directorate. **CSIR**, New Delhi, v. 11, p. 323, 1972.

TORRES, S.R.R.; GEISSON, M.N.; FERRARA, P.; RIBEIRO-do-VALE, R.M.; FARGES, R.C. Potential role of peripheral benzodiazepine receptors in inflammatory responses. **European Journal of Pharmacology**, v. 385, p. 1-2, 1999.

UNDEM, B.J.; GRAZIANO, F.M.; BUCKNER, C.K. Effects of isoproterenol on histamine release induced from monodispersed guinea-pig lung cells by different secretagogues. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 233, p. 617-622, 1985.

VAN der VELDEN, V.H., HULSMANN, A.R., Autonomic innervation of human airways: structure, function and pathophysiology in asthma. **Neuroimmunomodulation**, v. 6, p. 145-159, 1999.

VASSILIEFF, V.S.; NOGUEIRA, E.; ROSA, G.J.M.; HARAGUCHI, M. Anxiolytic effect of *Rubus brasiliensis* in rats and mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 61, p. 111-117, 1998.

VÁZQUEZ-FREIRE, M.J.; LAMELA, M.; CALLEJA, J.M. *Laminaria ochroleuca*: a preliminary study of its effects on the Central Nervous System. **Phytotherapy Research**, v. 8, p. 422-425, 1994.

VERMA, A.; SNYDER, S.H. Peripheral type benzodiazepine receptors. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 29, p. 307-322, 1989.

VIJAYALAKSHIMI, K.; MISHRA, S. D.; PRASAD, S. K. Nematicidal properties of some indigenous plant materials against second stage juveniles of *melodogyne incognita* (Kofoid And White) chitwood. **Indian Journal of Entomology**, v. 41, p. 326-331, 1979.

VUORELA, P.; LEINONEN, M.; SAIKKU, P.; TAMMELA, P.; RAUHA, J.P.; WENNERBERG, T.; VUORELA, H. Natural products in the process of finding new drug candidates. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1375-1389, 2004.

WALDHAUSER, F.; EHRHART, B.; FÖSTER, E. Clinical aspects of the melatonin action: impact development, aging, and puberty, involvement of melatonin in psychiatric disease and importance of neuroimmunoendocrine interactions. **Experientia**, v. 49, p. 671-681, 1993.

WALL, M.E.; WANI, M.C. Camptothecin and taxol; from discovery to clinic. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 51, p. 239-254, 1996.

WANG, J.K.T.; MORGAN, J.I.; SPECTOR, S. Benzodiazepines that bind at peripheral sites inhibit cell proliferation. **Proceeding and the Academy of Natural Science of the United States of American**, v. 81, p. 753-756, 1984.

WEINSTOCK, J.V. Neuropeptides and the regulation of granulomatous inflammation. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v. 64, p. 17-22, 1992.

WEIZMAN, R.; LAOR, N.; KARP, L.; DAGAN, E.; REISS, A.; DAR, D.E.; WOLMER, L.; GAVISH, M. Alteration of platelet benzodiazepine receptors by stress of war. **American Journal of Psychiatry**, v. 151, p. 766-767, 1994.

WEIZMAN, R.; LESCHNER, S.; SCHLEGEL, W.; GAVISH, M. Peripheral-type benzodiazepine receptor ligands and serum steroid hormones. **Brain Research**, v. 772, p. 203-208, 1997.

WETZEL, M.S.; KAPTCHUK, T.J.; HARAMATI, A.; EISENBERG, D.M. Complementary and alternative medical therapies: implications for medical education. **Annals of Internal Medicine**, v. 138, p. 191-196, 2003.

WILLIAMS, J.D.; CZOP, J.K.; AUSTEN, K.F. Release of leukotrienes by human monocytes on stimulation of their phagocytic receptor for particulate activators. **Journal of Immunology**, v. 132, p. 3034-3040, 1984.

WILLIAMS, R.M.; BERTHOUD, H.R.; STEAD, R.H. Vagal afferent nerve fibres contact mast cells in rats small intestinal mucosa. **Neuroimmunomodulation**, v. 4, p. 266-270, 1997.

WOLFMAN, C.; VIOLA, H.; PALADINI, A.; DAJAS, F.; MEDINA, J.H. Possible anxiolytic effects of Chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 47, p. 1-7, 1994.

YAZDANBAKHSH, M.; BIGGELAAR, A.; MAIZELS, R.M. Th2 responses without atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. **Trends in Immunology**, v. 22, p. 371-377, 2001.

YIRMIYA, R.; AVISTUR, R.; DONCHIN, O.; COHEN, E. Interleukin-1 inhibits sexual behavior in female but not in male rats. **Brain, Behavior and Immunity**, v. 9, p. 220-233, 1995.

ZALCMAN, S.; MURRAY, L.; DYCK, D.G.; GREEBERG, A.H.; NANCE, D.M. Interleukin-2 and 6 induce behavioral-activating effects in mice. **Brain Research**, v. 811, p. 111-121, 1998.

ZHANG, D.H.; YANG, L.; COHN, L.; PARKYN, L.; HOMER, R.; RAY, P.; RAY, A. Inhibition of allergic inflammation in a murine model of asthma by expression of a dominant-negative mutant of GATA-3. **Immunity**, v. 11, p. 473-482, 1999.

ZWAIMANN, B. The late-phase reaction: role of IgE its receptor and cytokines. **Current Opinion in Immunology**, v. 5, p. 950-955, 1995.

NOTA

Este trabalho está de acordo com as normas de documentação da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), a saber:

NBR 6023 Informação e documentação – referências e elaboração, 2002.

NBR 6024 Numeração progressiva das seções de um documento escrito, 2003.

NBR 6027 Informação e documentação – sumário, 2003.

NBR 14724 Informação e documentação – trabalhos acadêmicos, 2005.

APÊNDICE

Full Title

Interactive influences on behavioral and immunologic responses of the diazepam, dexamethasone and salbutamol in ovalbumin sensitized BALB/c mice

Carlúcia Ithamar Fernandes Franco^c, Josenilson Lima Feitosa^a, Talissa Muccini^a, Ângelo Roberto Antonioli^b, Márcia Regina Piuvezam^a, Reinaldo Nóbrega de Almeida^a, *

^a Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Departamento de Fisiologia e Patologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil.

^b Laboratório de Farmacologia / Bioquímica e Departamento de Fisiologia - CCBS, Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, Sergipe, Brazil.

^c Departamento de Fisioterapia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Paraíba, Brazil.

*Corresponding authors.

E-mail addresses: mrpiuvezam@ltf.ufpb.br (M.R.Piuvezam), reinaldo@ltf.ufpb.br (R.N. Almeida).

Address: Márcia Regina Piuvezam and Reinaldo Nobrega de Almeida - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica. UFPB. Caixa Postal 5009, CEP 58.051-970. João Pessoa, Paraíba, Brazil. Tel: +55-83-3216-7381 Fax: +55-83-3216-7511

Running Title

Different substances influence immunological and behavioral responses in ovalbumin (OVA)-sensitized BALB/c mice

Abstract

The nervous system and the immune system mount a variety of coordinated response to danger, which communicate through intricate chemical messengers. The goal of this study was to evaluate the effects of different substances: diazepam (DZP), dexamethasone (DEX) or salbutamol (SBL) on behavioral and immunological responses in murine allergic model. OVA-sensitized BALB/c mice were utilized in hole board (HB) and elevated plus maze (EPM) tests, and in passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test. OVA-sensitized BALB/c mice presented reduction the number of head dips and squares crossed and the number of entries and the time spent in the open arms in HB and EPM tests, respectively, as well as caused increase of OVA-specific IgE titer. The treatment with DZP (0.05, 0.1, 0.5 mg/kg) or DEX (0.1, 1 mg/kg) modulated the behavioral response in both parameters in OVA-sensitized

animals. On the same way, DZP attenuated the OVA-specific IgE production. However, the animals treated with SBL showed improve of behavioral responses only in EPM test. Based in all the results we conclude that sensitization with OVA associated to the HB and EPM tests consisted of an good model to the interaction between the CNS and IS; DZP act in both central nervous and immune systems and DEX modulate the “sickness behavior” induced by OVA.

Keyword: Ovalbumin; Sickness behavior; BALB/c mice; Diazepam, Dexamethasone; Salbutamol.

Introduction

The neuroimmunology is based in the concept that the brain interactive with and immune system. Indeed, current power and future hope of this field derives from the realization that the three big systems, nervous, the endocrine and the immune, by which the body communicates and regulates also communicate with one another (Banks and Quan, 2007). The peripheral immune system communicates with the central nervous system (CNS) during systemic inflammation, resulting in CNS-mediate effects collectively referred to as “sickness responses” (e.g. fever, cognitive impairment, reduced social interaction and pain enhancement) (Frank et al. 2007). One of the ways that the peripheral immune system communicates with the CNS is via peripheral nerve afferent, which is activated upon detection of inflammatory mediators. This pathway leads to CNS glial activation and proinflammatory cytokine release in discrete CNS regions, there be inducing “sickness response” (Cunningham et al. 2005; Godbout et al. 2005; Semmler et al., 2005). Cytokines, peptide hormones and neurotransmitters, as well as their receptors/ligands, are endogenous to the brain, endocrine and immune systems (Haddad et al. 2002). Infection, injury and inflammation might induce changes in various behaviors as such mobility, exploration, sleep (Larson and Dunn, 2001) and cognitive function, feeding, sexual behavior (Kent et al. 1992). The generality of response to infection and injury was named “sickness behavior” and considered nonspecific in the sense that similar symptoms occur in association with immune activation, resulting from a variety of different causes. In addition “sickness behavior” occurs after peripheral immune activation (Nadjar et al. 2005).

Infections and inflammation have been shown to decrease open field activity and this effect is mediated by proinflammatory cytokines such as interleukin-1 β - IL-1 β (Swiergiel et al. 1999). The behavioral features of sick animals are to stress adaptative responses or side-

effects of the pathogen-induced debilitation (Hart, 1988), but are part of an organized defense response to antigenic challenge and that are mediated by the neural effects of cytokines such as IL-1 (Larson and Dunn, 2001). Basso et al. (2001) demonstrated that sensitized mice with ovalbumin avoided the consumption of sweetened egg solution. Oral administration of ovalbumin to allergic mice led to both activation of the paraventricular nucleus of the hypothalamus and central nucleus of the amygdale (Basso et al. 2003). Several murine allergic models based on ovalbumin administration have been used but the influence of this allergic response on brain activity and behavior is poorly understood (Basso et al. 2005).

The objective of the present study was to evaluate the immunological and behavioral effects of different substances: DZP, DEX or SBL in OVA-sensitized BALB/c mice utilizing psychopharmacological models, such as, hole board and elevated plus maze tests and immune model as passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test to establish relation among CNS and Immune System (IS).

2. Materials and Methods

2.1. Drugs

DZP, DEX, SBL, ovalbumin – OVA and Evans of blue were purchased from Sigma (USA); aluminum hydroxide from Vetec (Brazil); saline from Merck (Brazil); tiopental from Cristália (Brazil) and ether from Lafari (Brazil). The vehicle used in protocols was saline (0.9 %). Agents were injected by routes intraperitoneal (i.p.) or subcutaneous (s.c.) with a dose volume of 0.1 mL/10 g or 0.1 mL/100 g of weight for mice rats, respectively.

2.2. Animals

Male or female BALB/c mice (25-30 g) and Wistar rats (130-150 g) were obtained from the vivarium Prof. Thomas George of Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba. The animals were maintained at constant room temperature (21 ± 2 ° C) and on a 12/12 h light-dark cycle (light from 06:00 to 18:00 h), with free access to food pellets and water. They were transferred to the laboratory at least 30 min before the start of experiments. All experiments were performed between 08:00 – 12:00 h to avoid circadian influences and carried out in accordance with ethical committee acts CEPA N^o. 1101/03.

2.3. Experimental procedures - OVA challenge and sensitization protocol

To evaluate a behavioral effect of OVA and different substances (DZP, DEX or SBL) in the murine allergic model, in first and fourteenth day BALB/c mice were actively sensitized (i.p.) with 10 µg OVA adsorbed to 2.25 mg of aluminum hydroxide (Oshiba et al. 1996). The sensitization consist in the administration of saline, DZP, DEX or SBL in BALB/c mice 60 min before the administration of OVA. One group was treated with saline but didn't receive OVA. BALB/c mice were divided into groups of 8 animals each. Saline (negative control); OVA (positive control) and DZP - 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/kg, i.p., DEX - 0.1, 1 mg/kg, i.p. or SBL - 5, 10, 20 mg/kg, s.c. (experimental).

On day twentieth first after one hour of respective treatments, sensitized groups (OVA or experimental) were challenge with 1% (w/v) aerosol of OVA in saline for 40 min. (Randolph et al. 1999). The negative control was challenge only with aerosol of saline. DZP, DEX or SBL were dissolved in saline immediately before use.

2.3. Hole-board (HB) test

BALB/c mice were divided into groups (n = 8). Each animal from the positive control group (OVA); experimental groups (DZP - 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/kg, i.p., DEX - 0.1, 1 mg/kg, i.p. or SBL - 5, 10, 20 mg/kg, s.c.) or negative control group, was placed in the center of apparatus (model 6650, Ugo Basile, Italy) after 30 min of the OVA challenge and the numbers of head dips and squares crossed were recorded for 5 min. The apparatus was thoroughly cleaned between each animal change using a 10 % alcohol-water solution.

2.4. Elevated plus maze (EPM) test

BALB/c mice were divided into groups (n = 8). Each animal from the positive control group (OVA); experimental groups (DZP - 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/kg, i.p., DEX - 0.1, 1 mg/kg, i.p. or SBL - 5, 10, 20 mg/kg, s.c.) or negative control group, was placed in the center of apparatus. EPM apparatus made in wood consisted of two open arms, 50 x 10 x 2 cm (length x width x height), and two closed arms, 50 x 10 x 40 cm (length x width x height) emanating from a common central platform, 18 x 18 x 17,5 cm, (length x width x height) after 30 min of the OVA challenge. The number of entries and the time spend in the open arms were recorded during a 5 min test period. The apparatus was thoroughly cleaned between each animal change using a 10 % alcohol-water solution.

2.5. Determination of OVA specific IgE by the PCA test.

The IgE titers were determined by the passive cutaneous anaphylaxis (PCA) reaction. Serial twofold dilutions of the samples with saline were inoculated intradermally on the shave backs of rats. Wistar rats were divided into groups of 16 animals each: negative control; positive control; experimental (DZP - 1 mg/kg, i.p. or SBL - 20 mg/kg, s.c.) and standard (DEX - 1 mg/kg, i.p.). After 24 h the animals received intravenous injection of OVA (20 mg/rat) in 1% Evans blue solution. Thirty min later the animals were submitted to euthanasia and the OVA-specific IgE titers were measured. The highest serum dilution giving a 5 mm diameter flare or bluing reaction was taken as the PCA titer (Holt et al. 1981).

2.6. Statistical analysis

The results were expressed as mean \pm S.E.M. and tested with unpaired Student's *t* test. Value of $p < 0.05$ was accepted as significant. All data were analyzed with the software package GraphPad Prism Software version 3.02 (GraphPad Software Incorporated, San Diego, CA 92121 USA).

3. Results

3.1. Effect of DZP, DEX or SBL on the behavioral pattern of OVA-sensitized BALB/c mice on the HB test.

The figure 1 (A, B) shows that OVA-sensitized-BALB/c mice (OVA group-allergic mice) showed a clear “sickness behavior” or anxiogenic behavioral responses characterized for decrease in the number of head-dips and square crossed as compared with the negative control after 30 min of the OVA challenge. OVA-sensitized animals of experimental group treatment with different doses of DZP (0.05, 0.1 or 0.5 mg/kg) or DEX (0.1 or 1.0 mg/kg) showed a significant increase in the number of head dips or square crossed as compared with the OVA group, however, the animals treated with SBL (5, 10 or 20 mg/kg) did not show any improvement in these parameters (Fig.1 A, B).

3.2. Effect of DZP, DEX or SBL on OVA-sensitized BALB/c mice behavioral pattern on the EPM test.

As shown in the figure 2 (A, B) OVA-sensitized BALB/c mice showed a decrease in the number of entries and time spent in the open arms as compared with the saline group. Treatment with DZP (0.05, 0.5 or 1 mg/kg), DEX (1 mg/kg) or SBL (5 mg/kg) induced an increase of the number of entries and the time spent in the open arms as compared with OVA group.

3.3. Effect of DZP or SBL in the IgE production

The OVA-sensitization procedure was effective as showed on Table 1. The OVA-sensitization induced increase of OVA-specific IgE titers. On the other hand, the animals treated with DZP (1 mg/kg) present reduction of OVA-specific IgE titer. The animals of experimental group (SBL – 20 mg/kg) not show significant alterations, however, the animals of standard group (DEX – 1 mg/kg) showed decrease OVA-specific IgE titer

4. Discussion

In the present study the behavioral effects of OVA, DZP, DEX or SBL in murine allergic model were investigated through of psychopharmacological and immunological tests to characterize the effects this substances on the nervous and immune systems and so, to investigate the interaction between them.

The OVA-sensitization protocol used is able of induce an allergic state in animals. The behavioral alterations in the OVA-sensitized BALB/c mice were investigated in both HB and EPM tests. The HB test evaluate the emotionality or anxiety response of an animal (Boissier and Simon, 1962, 1964) through of head dipp and square crossed parameters that have been validated as a measurement of exploration and locomotion behavior, respectively (File and Wardill, 1975; Silva and Elisabetsky, 2001). Other behavioral test used was the EPM test, which evaluate the animal anxiety (Nogueira and Vassilieff, 1996). This test is based on the natural aversion of rodents to open spaces and it is a quantitative analysis of anxiety (Lister, 1987; Pellow et al. 1985).

In this study, OVA-challenge and sensitization BALB/c mice of positive control (OVA) presented a reduction in the exploratory and locomotor activities through of numbers of head dipp and squares crossed, respectively on hole board test. These signals show possible evidence that the effects of OVA on CNS are similar to drugs that reduce the CNS activity or that the OVA is able to induce a “sickness behavior”.

On the same way, the OVA was able to promote sickness behavior through of decrease exploratory activity through of number of entries and the time spent open arms EPM apparatus. The decreased aversion to the open arms is as a result of an anxiolytic effect expressed by an increased number of entries and the time spent open arms in EPM apparatus (Peng et al. 2000). The anxiogenics effects (decrease of number head dips and squares crossed and of number of entries and the time spent open arms) observed in animals of positive control, after OVA-challenge and sensitized can be associated the capacity of OVA to induce “sickness behavior”, being this model considered capable for investigation of interaction of CNS with IS.

“Sickness behavior” refers to a coordinated set of subjective, behavioral and physiological changes that develop in sick individuals during the course of an infection. This is mediated by proinflammatory cytokines that are temporarily expressed in the brain during infection and can be induced in experimental animals either by the administration of a cytokine inducer such as lipopolysaccharide (LPS), or by direct injection of proinflammatory cytokines such as IL-1 (Dantzer, 2004).

Studies previous identified changes in behavior in organisms experiencing immune system activation caused by infection or other pathologies. Such changes include decreased activity, decreased food intake, increased sleep and reduced grooming (Hart, 1988; Larson and Dunn, 2001) which is named “sickness behavior” (Kent, et al. 1992). In this work, we verified that the allergic state induced by OVA caused reduction of exploratory and locomotor activities, suggesting that the OVA can mediate a “sickness behavior”.

In passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test, OVA-challenged and sensitized BALB/c mice presented increase of OVA-specific IgE titers, it was related with characteristic of allergic state. This results corroborate with studies in that murine model allergic sensitization in BALB/c mice, exposed to an aerosolized antigen, develop antigen-specific IgE (Oshiba et al. 1996).

Once identified an OVA-sensitized BALB/c mice behavioral pattern, the present study addressed whether the treatment with anxiolytic (diazepam - DZP), glucocorticosteroid (dexamethasone - DEX) or β_2 adrenergic (salbutamol - SBL) could modify the “sickness behavior” pattern induced by OVA.

The treatment with DZP in OVA-challenged and sensitized BALB/c mice induced increase of exploratory and locomotor activities (number of head dips and square crossed, respectively) in HB test and exploratory activity (number of entries and the time spent open arms) in EPM test, that corroborate with Takeda et al. (1998) demonstrated that the

administration of non-sedative doses of DZP (0.05 – 0.5 mg/kg) in mice induced an increase in the frequency and duration of the head dip on the HB apparatus. Additionally, Nasello et al. (1998) showed that anxiolytic drugs induced an increase in the number of entry and the time spent in the open arms (EPM test). These results show a possible evidence that the “sickness behavior” induced by OVA can be attenuated by DZP and that behavioral alterations induced by DZP are consistent an anxiolytic effect. This data of DZP are important considering that in sensitization with OVA the animals are submitted the two variants of stress: immune challenge and psychic (unfamiliar ambient), reinforcing the hypothesis of interaction between CNS and IS.

In immunological response was observed that DZP reduced the OVA-specific IgE titers in OVA- challenged and sensitized BALB/c mice. Bessler et al. (1997) showed an inhibitory effect of DZP in spontaneous IgA production in human peripheral blood mononuclear cells suggesting that this drug may be modulating B cell activation. Besides that, Irie et al. (2004) demonstrated DZP reduced histamine release in OVA-sensitized guinea pigs leading to an improvement of asthma symptoms. Therefore, it is possible to suggest that DZP modulated an antigen-specific IgE response in BALB/c mice that repeated exposure to antigen proteins such as OVA. There is considerable evidence to support that the DZP possess both central (CNS) as peripheral (immune) activities. Further studies will be necessary to better define the mechanisms of action of DZP in the murine allergic model.

The treatment with DEX, other substance utilized in investigation of modulator activity on behavioral alterations in OVA-challenged and sensitized BALB/c mice, induced an increase of number head dippings and squares crossed in the HB test as well as of number of entry and the time spent in the open arms in EPM test. However, the increase of exploratory and locomotor activities induced by DEX can be due a neuro-modulatory activity of “sickness behavior” on systemic stress (allergic state) in OVA-challenged and sensitized BALB/c mice Sorrells and Sapolski (2007), related that the glucocorticoid to modulate and control the stress response in minutes to hours following a stressor.

The treatment with DEX also caused a significant reduce the OVA-specific IgE titer in OVA-sensitized BALB/c mice. Glucocorticoids are the most potent anti-inflammatory drugs used for asthma treatment. They regulate gene expression decreasing transcription of various pro-inflammatory proteins and increasing transcription of anti-inflammatory proteins (Pignatti, 2004). It was reported that the DEX induces the production of lipomodulin which enhances the synthesis of the IgE suppressor factor and thus suppresses the formation of IgE (Queralt et al. 1995). Our results corroborate with the fact that DEX possess effects on the

IgE-dependent inflammatory response, as well as, it improved the sickness behavior pattern observed in our study.

The animals treated with SBL did not show any change on the parameters analyzed in the HB test. However, only the dose of 5 mg/kg increased the exploratory activity on the EPM test. With base in this results, is possible to suggest that SBT might have ameliorated the behavioral responses through it bronchodilator effect or by inhibiting mast cell degranulation on the lung of these animals (Hughes et al. 1983).

Taken in considerations all results in this study, is possible to suggest that OVA model induced behavioral alterations that can be utilized with tool to provide a immune-neuronal communication; the OVA possess activity on CNS by to induce a “sickness behavior” and drugs as such as DZP, DEX or SBL are able to modify this behavior. DZP caused modulation of behavioral alterations as well as attenuated the IgE production. Further investigations are necessary to give more detailed information of mode of action and or the pathways that are responsible for the inhibition in “sickness behavior” by DZP, DEX, or SBL. In group this results allow us to conclude that there is interaction of CNS and IS and that the OVA model can be used for to analyze this interaction.

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere thanks to Dra. Liana Clébia de Moraes for manuscript revision. This work was supported by CAPES of Brazil.

References

Banks WA, Quan N. Brain-immune communication pathways. *Brain, Behavior, and Immunity* 2007; 21: 727-735.

Basso AS, de Sa-Rocha LC, Palermo-Neto J. Immune-induced flavor aversion in mice: modification by neonatal capsaicin treatment. *Neuroimmunomodulation* 2001; 9:88-94.

Basso AS, Pinto FA, Russo M, Britto LRG, de Sa-Rocha LC, Palermo Neto J. Neural correlates of IgE-mediated food allergy. *Journal of Neuroimmunology* 2003;140:69-77.

Basso AS, Costa-Pinto FA, Britto LRG, Malucelli BE, Russo AS. Avoidance behavior and neural correlates of allergen exposure in a murine model of asthma. *Brain, Behavior, and Immunity* 2005;19:52-60.

Bessler H, Caspi B, Gavish M, Rehavi M, Weizman A. Significant inhibition of spontaneous IgA secretion by selective peripheral-type benzodiazepine receptor ligands. *Clin Neuropharmacol* 1997;20:215-23.

Boissier JR, Simon P. La réaction d'exploration chez la souris. *Thérapie* 1962;17:1225-32.

Boissier JR, Simon P. Dissociation de deux composantes dans le compartiment d'investigation de la souris. *Arch Int Pharmacodyn* 1964;147:372-87.

Cunningham C, Wilcockson DC, Campion S, Lunnon K, Perry VH. Central and systemic endotoxin challenges exacerbate the local inflammatory response and increase neuronal death during chronic neurodegeneration. *Journal of Neuroscience* 25: 9275-9284, 2005.

Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. *Eur J Pharmacol* 500: 399-411, 2004.

Durcan MJ, Lister RG. Does directed exploration influence locomotor activity in a holeboard test? *Behav Neural Biol* 1989;51:121-25.

Frank JW; Jekich BM; Mahoney JH; Bland ST; Maier SF; Watkins LR. A novel immune-to-CNS communication pathway: Cells of the meninges surrounding the spinal cord CSF space produce proinflammatory cytokines in response to an inflammatory stimulus. *Brain, Behavior, and Immunity* 2007; 21:711-718.

File SE, Wardill AG. Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified holeboard. *Psychopharmacology* 1975;44:53-9.

Godbout JP, Chen J, Abraham J, Richwine AF, Berg BM, Kelley KW, Johnson RW. Exaggerated neuroinflammation and sickness behavior in aged mice following activation of the peripheral innate immune system. *FASEB J.* 19: 1329-1331, 2005.

Haddad JJ, Saadé NE, Garabedian BS. Cytokines and neuro-immune-endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary-adrenal revolving axis. *Journal Neuroimmunology* 133:1-19, 2002.

Hart BI. Biological basis of the behaviour of sick animals. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1988;12:123-137.

Holt PG, Rose AH, Batty JE, Turner KJ. Induction of adjuvant-independent IgE responses in inbred mice: Primary, secondary and persistent IgE responses to ovalbumin and ovomucoid. *Int Archs Appl Immun* 1981;65:42-50.

Hughes JM, Seale JP, Temple DM. Effect of fenoterol on immunological release of leukotrienes and histamine from human lung in vitro: selective antagonism by β -adrenoceptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 1983; 95:239-45.

Irie M, Nagata S, Endo Y. Diazepam attenuates conditioned histamine release in guinea pigs. *Int J Psychophysiol* 2004;51:231-38.

Kent S, Bluthé RM, Kelley KW, Dantzer R. Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:24-8.

Larson SJ, Dunn A. Behavioral effects cytokines. *Brain, Behavior, and Immunity* 2001;15:371-84.

Lawrence DA. Psychologic stress and asthma: neuropeptide involvement. *Environ Health Perspect* 2002;110:230-31.

Lehrer PM, Isenberg S, Hochron SM. Asthma and emotion: a review. *J. Asthma.* 1993;30:5-21.

Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 1987; 92:180-5.

Nadjar A, Bluthé RM, May MJ, Dantzer R, Parnet P. Inactivation of the cerebral NFκB pathway inhibits interleukin-1β-induced sickness behavior and c-fos expression in various brain nuclei. *Neuropsychopharmacology* 30: 1492-1499, 2005.

Nasello AG, Cybelle M, Jaime FB, Luciano FF. Sudden darkness induces a high activity-low anxiety state in male and female rats. *Physiol Behav* 1998;63:451-54.

Nogueira E, Vassiliev VS. Hypnotic, anticonvulsant and muscle relaxant effects of *Rubus brasiliensis*. Involvement of GABA_A- system. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 70, p. 275-280, 2000.

Oshiba A, Hamelmann E, Takeda K, Bradley KL, Loader JE, Larsen GL, Gelfand EW. Passive transfer of immediate hypersensitivity and airway hyperresponsiveness by allergen-specific immunoglobulin (Ig) E and IgG1 in mice. *J Clin Invest* 1996;97:1398-408.

Pellow S, Philippe C, Sandra EF, Mike B. Validation of open closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Meth* 1985;14:149-67.

Peng WH, Hsieh MT, Lee YS, Lin YC, Liao J. Anxiolytic effect of seed of *Ziziphus jujuba* in mouse models of anxiety. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 72, p. 435-441, 2000.

Pignatti PF. Trends in pharmacogenomics of drugs used in the treatment of asthma. *Pharmacol Res* 2004;49:343-9.

Queralt J, Salgado J, Puigneró V. Effects of cyclosporine and dexamethasone on IgE antibody response in mice, and on passive cutaneous anaphylaxis in the rat. *Int Arch Allergy Immunol* 108:142-147, 1995.

Randolph DA, Cynthia JLC, Susane JS, Kenneth MM, David DC. Modulation of airway inflammation by transfer of allergen-specific Th1 and Th2 cells in a mouse of asthma. *J. Immunol* 1999;162:2375-83.

Semmler A, Okulla T, Sastre M, Dumitrescu-Ozimek L, Heneka MT. Systemic inflammation induces apoptosis with variable vulnerability of different brain regions. *J Chem Neuroanat* 30: 144-157, 2005.

Sherwin CM, Christiansen IJ, Duncan HWE, Lay Jr DC, Mench JA, O'Connor CE, Petherick JC. Guidelines for the ethical use of animals in applied ethology studies. *App Anim Behav Sci* 2003;8:291-305.

Silva AL, Elisabetsky E. Interference of propylene glycol with the hole-board test. *Braz J Med Biol Res* 2001;34:545-7.

Sorrells SF, Sapolsky RM. An inflammatory review of glucocorticoid action in the CNS. *Brain Behavior and Immunity* 21: 259-272, 2007

Swiergiel AH, Burunda T, Patterson B, Dunn AI. Endotoxin and interleukin-1 induced hypophagia are not affected by noradrenergic, dopaminergic, histaminergic and muscarinic antagonists. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1999; 63:629-637.

Takeda H, Tsuji M, Matsumiya T. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and / or anxiolytic state in mice.. *Eur J Pharmacol* 1998;350:21-9.

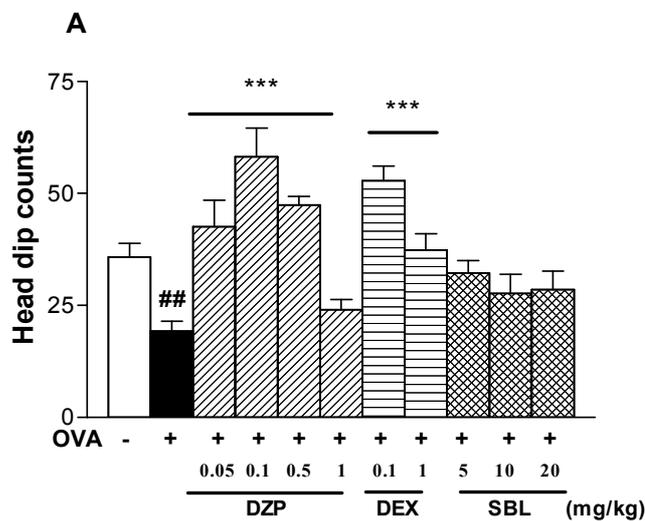
Wolfman C, Haydeé V, Alejandro P, Federico D, Jorge HM. Possible anxiolytic effects of Chrysin, a central benzodiazepine receptor ligand isolated from *Passiflora coerulea*. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 47:1-7.

Legends

Fig. 1 Effect of treatments with DZP, DEX or SBL in OVA-sensitized BALB/c mice on head dip (A) and square crossed (B) counts in hole-board test. The values are the mean \pm S.E.M. (n= 8). # p<0.01, ## p<0.001 as compared with negative control group (unpaired Student's t test); ***p<0.001 as compared with OVA group (unpaired Student's t test).

Fig. 2 Effect of treatments with DZP, DEX or SBL in OVA-sensitized BALB/c mice on number of entries (A) and the time spent (B) in the open arms in EPM test. The values are the mean \pm S.E.M. (n= 8). # p<0.01 as compared negative control saline group (unpaired Student's t test); **p<0.01, ***p<0.001 as compared with OVA group (unpaired Student's t test).

Fig. 1 - Franco et al. 2006



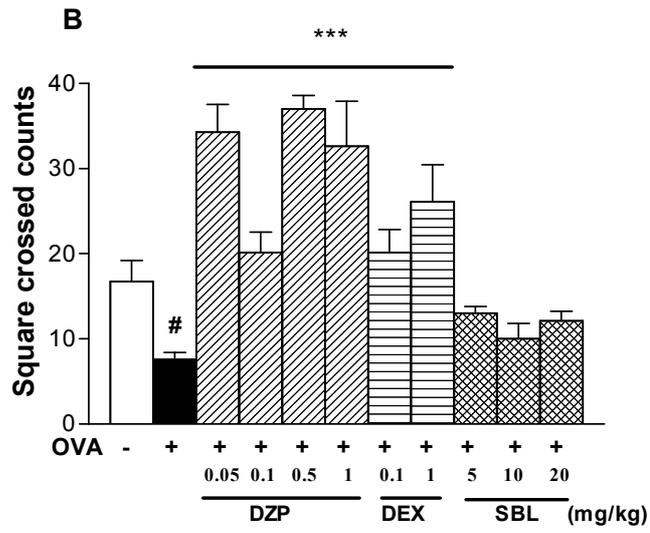
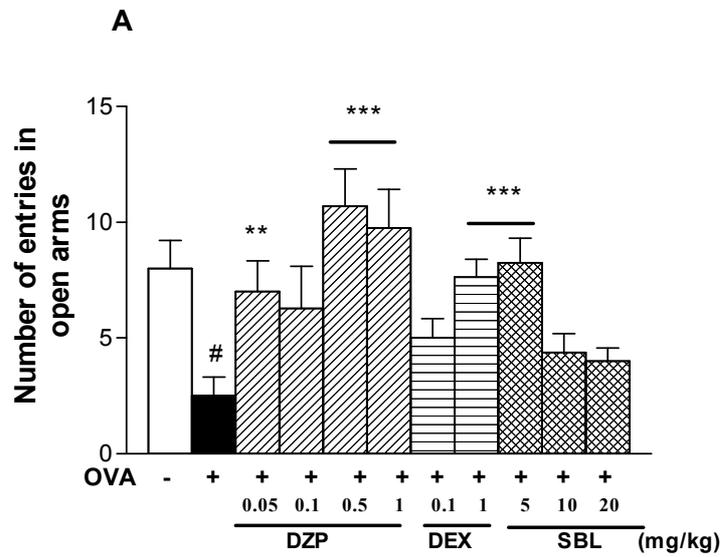


Fig. 2

- Franco et al. 2006.



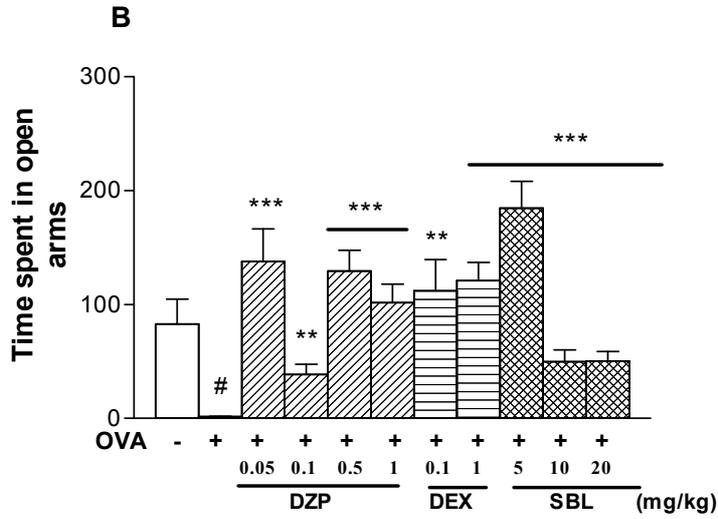


Table 1. Effect of DZP or SBL in OVA-specific IgE production.

GROUP	OVA	PCA	The
Saline	-	-	IgE
OVA	+	365.4 ± 48.1	titers
DZP (1 mg/kg)	+	14.4 ± 5.1 ***	were
SBL (20 mg/kg)	+	256.0 ± 57.2	meas
DEX (1 mg/kg)	+	26.8 ± 25.4 *	ured
			by
			the
			cutan
			eous
			anap

ylaxis passive reaction (PCA). Values are the mean ± S.E.M. * p<0.05; **p<0.01; *** p<0.001 as compared with OVA group (unpaired Student's t test). (-) not detected.

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](#)