

Dados do Projeto de Pesquisa	
Título do Projeto de Pesquisa:	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DA LECTINA EXTRAÍDA DAS SEMENTES DE <i>Dioclea violacea</i> (DVL)
Grande área/área segundo o CNPq (https://goo.gl/JB3tAs):	Ciências Biológicas II /Farmacologia / Neuropsicofarmacologia
Grupo de Pesquisa vinculado ao projeto:	Neurociências e Neuroproteção
Linha de pesquisa do grupo de pesquisa vinculado ao projeto:	Ação neuroprotetora de produtos naturais e plantas medicinais/componentes bioativos
Categoria do projeto:	() projeto em andamento, já cadastrado na PRPI () projeto não iniciado, mas aprovado previamente (X) projeto novo, ainda não avaliado
Palavras-chave:	<i>Dioclea violácea</i> , inflamação, nocicepção.

1. INTRODUÇÃO

A inflamação é uma resposta homeostática dos tecidos vascularizados para a remoção de agentes lesivos e restauração das funções normais, sendo parte fundamental da tentativa de reparação celular e tecidual. Doenças e lesões no sistema nervoso podem causar dor neuropática, bem como modificar a mediação nervosa do processo inflamatório. A dor é integrante dos primeiros quatro sinais clássicos da inflamação juntamente com rubor, tumor e calor. A dor é a percepção desagradável de uma sensação nociceptiva, consiste numa sucessão de eventos que levam a um estado de hiperatividade defensiva. A dor pode ocorrer sem o vínculo restrito com estímulo reconhecidamente nocivo ou doloroso, assim como ocorrer quadro inflamatório sem o vínculo restrito com a presença de agentes lesivos e a necessidade de removê-los. Os mediadores químicos envolvidos na fisiopatologia da dor neuropática e da inflamação modulam o quadro de ambas. (De Oliveira Júnior; Portella Junior; Cohen, 2016).

De acordo com o tempo de resolução a inflamação pode ser aguda ou crônica. As respostas inflamatórias agudas caracterizam-se por alterações vasculares, resultando no acúmulo de fluidos e células polimorfonucleares no local da lesão. Bem como podem ser sistêmicas e incluir hipertermia, leucocitose, catabolismo proteico e síntese hepática de proteínas plasmáticas como a proteína C-reativa. Na inflamação crônica são característicos o infiltrado celular - linfocítico e macrofágico, e a ocorrência simultânea de lesão e reparação. (De Oliveira Júnior; Portella Junior; Cohen, 2016).

A inflamação neurogênica é induzida, em geral, pela excitação excessiva dos nervos sensoriais primários, Seguida pela liberação de neuropeptídeos, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina. (CGRP) e substância P, a partir de suas terminações periféricas. Os neuropeptídeos liberados podem causar ou promover eventos inflamatórios, incluindo vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. (Sekiguchi; Tsubota; Kawabata, 2018)

Os canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCCs), receptor de potencial transiente vanilóide tipo 1 (TRPV1) e receptor de potencial transiente Ankyrin-1 (TRPA1), participam da excitação excessiva dos aferentes primários responsável pela inflamação neurogênica. Sabe-se que a enxaqueca envolve inflamação neurogênica, isto é, a liberação excessiva de neuropeptídeos; em particular, o CGRP, dos terminais periféricos dos nervos trigêmeos, é um componente crítico na patogênese da enxaqueca. Os canais de cálcio dependentes de voltagem (VGCCs) são classificados em canais ativados por alta voltagem (HVA) e canais ativados por baixa voltagem consistindo em Cav3.1–3.3, conhecido como T (“*transiente*”) - tipo VGCC. Há evidências de que certos tipos de canais HVA estão envolvidos na inflamação neurogênica e na dor inflamatória, de acordo com relatos indicando a eficácia terapêutica dos gabapentinóides, ligantes para a Subunidade $\alpha 2\delta$ do HVA, no tratamento não apenas da dor neuropática, mas também inflamatória. (Sekiguchi; Tsubota; Kawabata, 2018)

A função da resposta inflamatória na geração de dor não é limitada apenas a efeitos produzidos pela migração de leucócitos. As citocinas pró-inflamatórias participam do processo nócico podem ter origem em células imunológicas, neuronais e gliais (microglia e astrócitos), tanto no sistema nervoso periférico quanto no central, e essas moléculas podem desencadear efeitos em curto e longo prazo, com eventual hiperexcitabilidade crônica e alterações na expressão fenotípica dos nociceptores, processamento anormal dos sinais nócicos e exacerbação dos processos de dor. Esses efeitos são causados diretamente pelas citocinas ou por mediadores formados sob seu controle. (De Oliveira *et al.*, 2011)

O aumento das doenças crônicas e degenerativas contribuem para o aparecimento de dores e limitações funcionais. A dor crônica é condição prevalente em idosos com repercussão na qualidade de vida dessa população. Estudos revelam que a dor é uma das queixas mais comuns de idosos em consultas médicas ambulatoriais e que 25% a 50% dos idosos em geral sofrem de dor crônica e esses números podem chegar a 80% em idosos institucionalizados. De acordo com a International Association for the Study of Pain (IASP), dor é uma sensação ou experiência emocional desagradável, associada com dano tecidual real ou potencial, podendo ser aguda (duração inferior a 12 semanas) ou crônica (duração superior a 12 semanas), e apresenta mecanismos fisiopatológicos diversos. Suas consequências são multidimensionais, alterando variáveis fisiológicas, psicológicas, funcionais e sociais do indivíduo. (Olivência *et al.*, 2018).

O tratamento da dor crônica é baseado na Escada Analgésica da Organização Mundial de Saúde (OMS). O tratamento da dor de baixa intensidade tipicamente envolve a administração de um analgésico não opioide e um anti-inflamatório não esteroide (primeiro degrau). Para dor de moderada intensidade, indica-se um analgésico associado a um opioide fraco (segundo degrau). Para pacientes com dor severa (terceiro degrau), indica-se opioides fortes como a morfina e oxicodona. Paralelamente às classes medicamentosas mencionadas anteriormente, a OMS traz ainda drogas adjuvantes como os antidepressivos e anticonvulsivantes, que podem ser associadas a qualquer degrau ou utilizadas isoladamente para o melhor manejo da dor (Olivência *et al.*, 2018).

Dessa forma, a busca por tratamentos eficazes para dor e menores efeitos indesejáveis frente ao tratamento farmacológico, ainda é uma questão desafiadora. O uso de métodos adjuvantes no tratamento da dor, como as terapias complementares são cultuadas ao longo das décadas por distintas culturas e apoiadas pela OMS, incentivando novas estratégias e políticas públicas de saúde, que incluam as práticas

complementares no modelo nacional de saúde, visando à assistência integral ao indivíduo. Entre as terapias complementares estão às plantas medicinais e os produtos naturais, que revelam efeitos biológicos em geral, como o analgésico, ampliando as formas de terapêutica para diversas doenças (Haefner et al, 2012). Bem como são fontes de princípios ativos para produção de novos fármacos.

A família de lectinas de leguminosas é a família mais estudada de lectinas de plantas, em particular a subtribo de Diocleinae, por apresentar alto grau de similaridade estrutural, mas atividades biológicas variáveis, decorrentes de pequenas diferenças que podem ser analisadas em estudos de suas estruturas. (Barroso-Neto *et al.*, 2016). Lectinas de leguminosas são caracterizadas por uma alta identidade na sequência de aminoácidos e as diferenças pontuais nas sequências, como um único aminoácido ou uma conformação alternativa, representam mudanças nas atividades biológicas. (Bezerra *et al.*, 2013).

As lectinas são proteínas de origem não imunológica, capazes de reconhecer e ligar-se especificamente e reversivelmente a carboidratos de superfícies celulares sem alterar a sua estrutura química. Embora o domínio de reconhecimento de carboidratos (CRD) seja o local representativo das lectinas, as lectinas apresentam uma variedade de locais de ligação. As lectinas de leguminosas têm a capacidade de reconhecer ligandos, distintos dos seus carboidratos específicos, que incluem hormônios, ácidos nucleicos e aminoácidos não protéicos (Barroso-Neto *et al.*, 2016). Devido à capacidade de interagir com glicanos celulares, essa classe de proteínas apresentam diversas atividades biológicas tais como, atividade anti-inflamatória, antinociceptiva, antidepressiva e anti-isquêmica.

Estudo mostrou que a lectina de *Dioclea violacea* (DVL) melhora o estresse oxidativo e a disfunção renal no modelo experimental de isquemia/reperfusão (I/R) renal bilateral aguda. O pré-tratamento com DVL (1 ml/kg, i.v.) resultou em diminuição da atividade de mieloperoxidase (MPO), do estresse oxidativo e da apoptose nos ratos submetidos à I/R, demonstrando um efeito protetor renal (Freitas *et al.*, 2015)

As lectinas de Diocleinae administradas em camundongos inibiram as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. A *Canavalia grandiflora* (ConGf, 1, 10 e 100 mg/Kg, v.o.) mostrou uma porcentagem de antinocicepção de 61% e a *Dioclea violacea* (DVL, 100 mg/Kg, v.o.) de 20%. (Holanda *et al.*, 2009).

No sistema nervoso central, as lectinas podem modular diversos aspectos da comunicação celular. A ação da administração intracerebroventricular das lectinas isoladas das sementes *Canavalia brasiliensis* (ConBr, 1-10 µg/local, i.c.v) produziu uma diminuição no tempo de imobilidade no teste do nado forçado em camundongos e não demonstrou alteração da atividade locomotora no teste de campo aberto. A ConBr (0,1 µg/local, i.c.v.) provocou uma potencialização da ação da fluoxetina, inibidor seletivo da recaptação de serotonina (5-HT). O efeito anti-imobilidade provocado por ConBr (10 µg/site, i.c.v.) foi prevenida pelo pré-tratamento de camundongos com pindolol (32 mg/kg, β-antagonista), NAN-190 (0,5 mg/kg, antagonista do receptor 5-HT1A), ketanserina (5 mg/kg, antagonista do receptor 5-HT2A/2C), sulpirida (50 mg/kg, antagonista do receptor D2), ioimbina (1 mg/kg, α2-antagonista), mas não com SCH 23390 (0,05 mg / kg, antagonista do receptor D1) ou prazosina (1 mg/kg, α1-antagonista). Estes resultados indicam que o efeito anti-depressivo de ConBr no teste do nado forçado depende da sua interação com os sistemas serotoninérgicos (via 5-HT1A e 5-HT2), noradrenérgicos (via α2-adrenoceptores) e dopaminérgicos (via receptores D2). (Barauna et al, 2006).

O efeito neuroprotetor da lectina purificada das sementes de *Canavalia brasiliensis* (*ConBr*) foi testado no modelo de culturas de hipocampo de rato exposto à privação de oxigênio e glicose. Os autores sugerem que uma ação neuroprotetora envolva uma inibição de canais de cálcio tipo L (Rieger et al, 2016). Noutro estudo, demonstrou-se que *Canavalia brasiliensis* (*ConBr*) (10µg/sítio, i.c.v), administradas 15 minutos antes do ácido quinolínico (AQ, 36,8 nmol / site, i.c.v.), agonista de receptores NMDA, reduziu as crises tônico-clônicas induzidas pelo AQ, com percentual de proteção de 58%, diminuiu a severidade das convulsões, mas não alterou a latência nem a duração crise convulsiva. Sugere que a lectina *ConBr* pode exercer uma ação moduladora sobre os receptores NMDA. (Russi et al, 2012).

Por tais ações de lectinas de leguminosas em particular, acreditamos no potencial anti-inflamatório e antinociceptivo de lectina extraída das sementes de *Dioclea violacea*, sendo necessários estudos para melhor compreender os mecanismos de ação da lectina.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial anti-inflamatório e antinociceptivo da lectina extraída das sementes de *Dioclea violácea* (DVL).

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade antinociceptiva da *Dioclea violácea* (DVL) através dos testes de indução da nocicepção pela formalina, contorções abdominais induzidas por ácido acético, peritonite induzida pela carragenina e efeitos analgésicos opióides pelo teste da placa quente;
- Investigar os mecanismos de ações antinociceptiva e antiinflamatória da *Dioclea violácea* (DVL) por meio do teste da formalina através da associação da DVL com drogas que agem no sistema opióide (antagonista naloxona), com inibidor não seletivo de COX (indometacina) e com inibidor de citocina como TNF- α (pentoxifilina).

3. METODOLOGIA

3.1 Animais

O protocolo experimental será encaminhado a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina do Cariri / Universidade Federal do Ceará. Todos os esforços serão feitos para minimizar o sofrimento dos animais segundo critérios da *Internacional Ethical Guidelines*. (CIOMS/OMS, 1985). Para a realização do estudo, serão utilizados camundongos machos adultos Swiss e ratos Wistar provenientes do Biotério de Experimentação Animal da Faculdade de Medicina do Cariri – BIOE-XA/FAMED. Os animais serão aclimatados no Laboratório de Pesquisa em Neurociências e Neuroproteção - LAPENN, mantidos em temperatura ambiente controlada (21 a

23°C), alternância do ciclo claro/escuro de 12 horas, tendo livre acesso à água e ração, um dia antes dos testes.

3.2 Purificação da lectina de *Dioclea violacea* (DVL)

Espécie: *Dioclea violacea*

Extração: Extraído das sementes

Peso Molecular: $\pm 25,5$ kDa (monômero)

Especificidade da lectina: Manose e glicose

Solubilidade: Solúvel em NaCl 0,15 M ou 0,9%

As sementes de *Dioclea violacea* serão descascadas e submetidas à maceração até se obter um pó fino na forma de farinha, apropriada para o processo de extração protéica. Será utilizada a cromatografia de afinidade em matriz de Sephadex G-75 onde a concentração de proteínas nas frações coletadas será monitorada por absorbância em comprimento de onda de 280 nm. Previamente, a farinha será submetida à extração protéica na proporção de 1:10 (m/v) em solução de NaCl 0,15 M por 4 horas. O extrato será aplicado à coluna previamente equilibrada com solução de NaCl 0,15 M contendo CaCl_2 5 mM e MnCl_2 5 mM. A fração não retida será eluída com a mesma solução de equilíbrio e a fração retida será eluída com NaCl 0,15 M e glicose 0,1 M. A fração retida, referente à lectina, será dialisada exaustivamente contra água destilada e liofilizada para posterior diluição e uso.

3.3 Drogas e reagentes

- Sulfato de morfina pentaidratada (Dimorf®, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Solução Injetável 0,2 mg/ml) administrado na dose de 4 mg / kg, (ip).
- Indometacina (INDOCID®, Aspen Pharma Indústria Farmacêutica Ltda, cápsulas 25 mg,) administrado na dose de 10 mg/Kg (ip).
- Fosfato dissódico de dexametasona (Corticoidex, Novafarma Indústria Farmacêutica Ltda, Solução injetável 4mg/mL) administrado na dose de 1 mg/kg (ip).
- Pentoxifilina (Pentoxifilina 400mg, Genérico EMS, Comprimidos revestidos de liberação prolongada) administrado nas doses de 0,5 e 0.1 mg/Kg (vo)
- Cloridrato de Naloxona (Narcan®, Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda, Solução injetável 0,4 mg/ml) administrado na dose de 1 mg/kg (sc).
- Ácido acético (Glacial, 99,7% PA, 0,1N, Dinâmica) a 1% diluído em salina (0,1 mL/10g)
- Carragenina lambda tipo IV (λ -carrageenan, plant mucopolysaccharide, Sigma Chemical Co., USA) a 1% (ip)
- Formalina a 1% v/v (Formaldeído PA /Aldeído Fórmico/ Formol, H_2CO , teor 36,5 – 38%, Dinâmica) para injeção de 40 μl intraplantar.

3.4 Protocolo experimental

3.4.1 Teste da Formalina

Camundongos albinos - Swiss Webster (*Mus musculus*), machos adultos (20-25 g) serão usados para o teste da nocicepção induzida por formalina. Nesse experimento, serão injetadas 40 µl formalina a 1% (v/v, intraplantar) na pata traseira direita dos animais e o tempo (em segundos) gasto pelo animal lambendo a pata será medido durante 5 minutos desde o início do teste (1ª fase, neurogênica) e 20 min depois (2ª fase, inflamatória), por 5 minutos cada tempo. Os animais serão divididos em cinco grupos (n=6 a 8 animais por grupo). Aos controles será administrada salina (0.1 mL/10g, i.p.). A morfina (4 mg/kg, i.p.) será usada como a droga de referência (controle positivo). Os animais serão pré-tratados com salina, morfina ou DVL nas doses 1, 5 e 10 mg/kg (ip) 30 minutos antes da injeção de formalina.

O teste da formalina consiste na aplicação de um estímulo químico (formaldeído a 1%) para indução da nocicepção em camundongos. O teste permite avaliar a resposta do animal a uma dor moderada e contínua causada pelo dano tecidual, bem como o papel de sistemas endógenos de regulação da dor. A formalina injetada na pata do animal induz um efeito antinociceptivo bifásico. A primeira fase, ou fase neurogênica, deve-se a uma irritação direta das fibras C sensoriais e liberam alguns neurotransmissores ou mediadores, como a substância P. A segunda fase, ou fase inflamatória é caracterizada pela liberação de vários mediadores inflamatórios, como a serotonina, histamina, bradicinina e prostaglandinas. As drogas de ação central podem inibir ambas as fases, como os narcóticos (morfina, por exemplo), enquanto que as drogas de ação periférica, como os antiinflamatórios não esteroidais (aspirina, por exemplo) e corticosteróides, inibem somente a segunda fase.

Para se verificar o envolvimento do sistema opióide no efeito antiinflamatório/antinociceptivo da *Dioclea violácea* (DVL) será utilizada a naloxona, antagonista seletivo do receptor opióide, administrado 15 minutos da DVL ou da morfina.

3.4.2 Contorções abdominais induzidas por ácido acético (*Writhing Test*)

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, apesar de pouco específico, é usado para detectar tanto analgesia periférica como central. A administração intraperitoneal de ácido acético provoca um comportamento estereotipado em camundongos, caracterizada por contorções abdominais entre outros efeitos. Para a realização do teste serão usados camundongos Swiss (20-25g), os quais serão divididos em cinco grupos (n=8) e tratados com indometacina (10mg/kg), salina e DVL nas doses 1, 5 e 10 mg/kg (ip). Trinta minutos após os tratamentos, os animais serão injetados, pela via intraperitoneal com ácido acético 1% diluído em salina (0,1 mL/10g) e contado o número de contorções a cada 5 minutos, durante 30 minutos, relacionando graficamente as médias das contorções acumuladas em função do tempo (KOSTER *et al.*, 1959).

3.4.3 Peritonite induzida pela carragenina

A peritonite induzida em ratos pela injeção de carragenina (i.p.) é um modelo de inflamação aguda, amplamente utilizada na pesquisa de drogas antiinflamatórias. A injeção intraperitoneal de carragenina induz a migração de leucócitos para o local, cuja quantificação permite avaliar a influencia de drogas no desenvolvimento deste parâmetro da resposta inflamatória, sendo particularmente sensível a antiinflamatórios

esteróideais. Além disso, a presença de vários mediadores inflamatórios pode ser avaliada e dosada no exsudato inflamatório obtido.

Para a realização deste teste, serão utilizados ratos machos wistar adultos (180-220 g), divididos em seis grupos (n=5 animais/grupo): os grupos serão pré-tratados com água destilada (controle sem carragenina), água destilada (controle com carragenina), dexametasona (controle positivo, 1mg/Kg; i.p.), DVL nas doses de 1 mg/Kg, 5 mg/Kg e 10 mg/kg (ip). Decorridos 30 minutos, estes animais receberão 0,25mL de carragenina a 1% (ip). Depois dos tratamentos, os animais serão devolvidos às caixas e deixados com livre acesso à ração e à água durante 4 horas. Após esse tempo, será feita a eutanásia dos animais por decaptação e o exsudato peritoneal será coletado com uma pipeta Pasteur plástica através de laparoscopia abdominal. Para facilitar a coleta, todos os animais receberão uma injeção de 1 mL de salina heparinizada (10 UI/mL), massageando-se o abdômen para soltar as células aderidas. Uma amostra do lavado peritoneal será diluída 1:20 em líquido de Türk e as células serão contadas em câmara de Neubauer.

3.4.4 Placa quente

O teste da placa quente é considerado um teste adequado para medir os efeitos de analgésicos opióides, e não é sensível aos efeitos analgésicos de anti-inflamatórios não-esteróideais. Camundongos serão submetidos ao teste da placa quente, os quais serão divididos em cinco grupos (n=6 animais/grupo): controle, tratados com morfina (4mg/Kg, ip) e tratados com DVL nas doses de 1, 5 e 10 mg/Kg (ip). O tempo de reação à estimulação térmica será determinado e o “cut-off time” será de 45 segundos.

3.5 Análise Estatística:

A análise de distribuição normal dos dados será realizada para eleição do teste estatístico para análise dos resultados para constatação de hipóteses. Para comparações múltiplas será utilizada ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. As diferenças serão consideradas estatisticamente significativas em $p < 0,05$.

4. PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS, TECNOLÓGICAS OU DE INOVAÇÃO DO PROJETO.

A literatura descreve importantes efeitos anti-inflamatórios, antinociceptivo, antidepressivo e anti-isquêmico de lectinas de leguminosas, subtribo Diocleinae. Acreditamos no potencial anti-inflamatório e antinociceptivo da lectina extraída das sementes de *Dioclea violácea*, porque tais propriedades já foram descritas na literatura para lectinas muito similares a *D. violácea*. Um possível potencial anti-inflamatório periférico da *Dioclea violácea* pode exercer efeitos benéficos também em afecções do sistema nervoso central (SNC), ampliando as opções terapêuticas para a prevenção e/ou tratamento de diversas afecções do SNC. Considerando a presença de lectinas endógenas no cérebro e com base em estudos anteriores, torna-se importante determinar o possível papel das lectinas na modulação da função do sistema nervoso.

5. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO PROJETO

	2019							2020				
Atividades	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5
Revisão/atualização de literatura	X								X	X	X	
Procriação e cuidados gerais com os animais	X	X	X	X	X	X	X	X				
Teste da indução da nocicepção pela formalina		X	X	X								
Teste da formalina com DVL associadas a drogas (naloxone, indometacina e pentoxifilina)					X	X	X					
Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético								X	X	X		
Teste da peritonite induzida pela carragenina		X	X	X	X	X						
Teste da placa quente							X	X	X	X		
Análise estatística e elaboração de resumo para apresentação em congresso											X	
Produção de artigo científico												X
Relatório final												X

REFERÊNCIAS

- BARAUNA et al. Antidepressant-like effect of lectin from *Canavalia brasiliensis* (ConBr) administered centrally in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 85, p. 160–169. 2006.
- BARBOSA, LF; DE MEDEIROS, MHG; AUGUSTO, O. Danos oxidativos e neurodegeneração: o quê aprendemos com animais transgênicos e nocautes? **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1352-1360. 2006.
- BARROSO-NETO et al. Structural analysis of a *Dioclea sclerocarpa* lectin: Study on the vasorelaxant properties of *Dioclea* lectins Ito L. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 82, p. 464–470. 2016.
- BEZERRA et al. Crystal structure of *Dioclea violacea* lectin and a comparative study of vasorelaxant properties with *Dioclea rostrata* lectin. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 45, p. 807–815. 2013.
- DE OLIVEIRA JÚNIOR, J.O.; PORTELLA JUNIOR, C. S. A.; COHEN, C. P. Medidores inflamatórios na dor neuropática. **Revista Dor**. v. 17, Suppl 1:S35-42, 2016.
- DE OLIVEIRA, C.M.B.; SAKATA, R. K.; ISSY, A. M.; GEROLA, L. R.; SALOMÃO, R. Citocinas e Dor. **Revista Brasileira Anestesiologia**, v. 61, n. 2, p. 255-265, 2011.
- DURUKAN A; TATLISUMAK T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 87,n. 1, p.179-197. 2007.
- FREITAS et al. *Dioclea violacea* lectin ameliorates oxidative stress and renal dysfunction in an experimental model of acute kidney injury. **Am J Transl Res**. 15;7(12):2573-88. 2015.
- HAEFFNER, R.; HECK, R.M.; CEOLIN, T.; JARDIM,V.M. DA R.; BARBIERI, R. L. Plantas medicinais utilizadas para o alívio da dor pelos agricultores ecológicos do Sul do Brasil. **Revista Eletrônica de Enfermagem** [Internet], v.14, n.3, p.596-602, 2012. Disponível em: <http://fen.ufg.br/revista/v14/n3/pdf/v14n3a16.pdf>
- HOLANDA et al. Antinociceptive Activity of Lectins from *Diocleinae* Seeds on Acetic AcidInduced Writhing Test in Mice. **Protein & Peptide Letters**, v. 16, n. 9, p. 1089, 2009.
- LEITE, HR; NUNES, APN; CORRÊA, CL. Perfil epidemiológico de pacientes acometidos por acidente vascular encefálico cadastrados na Estratégia de Saúde da Família em Diamantina, MG. **Fisioterapia e Pesquisa**. São Paulo, v.16, n.1, p.34-9. 2009.
- OKABE, N; NAKAMURA, T; TOYOSHIMA, T; MIYAMOTO, O; LU, F; ITANO, T. Eicosapentaenoic Acid Prevents Memory Impairment After Ischemia by Inhibiting

Inflammatory Response and Oxidative Damage. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**. v. 20, n. 3, p. 188-195. 2011.

OLIVÊNCIA, S. A.; BARBOSA, L. G. M.; DA CUNHA, M. R.; DA SILVA, L. J. Tratamento farmacológico da dor crônica não oncológica em idosos: Revisão integrativa. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 21, n. 3, p. 383-393, 2018.

PHAN, TG; WRIGHT, PM; MARKUS, R; HOWELLS, DW; DAVIS, SM; DONNAN, GA. Salvaging the ischaemic penumbra: More than just reperfusion? **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. Brief Review., v. 29, p. 1–10. 2002.

RUSSI et al. ConBr, a lectin from Canavalia brasiliensis seeds, protects against quinolinic acid-induced seizures in mice. **Neurochem Res**. v. 37, n. 2, p. 288-97. 2012.

SEKIGUCHI, F.; TSUBOTA, M.; KAWABATA, A. Current Topics: Ion Channels as Therapeutic Targets for the Immune, Inflammatory, and Metabolic Disorders. Review: Involvement of Voltage-Gated Calcium Channels in Inflammation and Inflammatory Pain. *Biol. Pharm. Bull.* v.41, p. 1127–1134, 2018.

SHI, M; XU, B; WANG,X; AOYAMA, K; MICHIE, SA; TAKEUCHI, T. Oxidative damages in chronic inflammation of a mouse autoimmune disease model. **Immunology Letters**. Short communication. v. 95, p. 233–236. 2004.

ULRICH, PT.; KROPPESTEDT, S; HEIMANN, A; KEMPSKI, O. Laser-Doppler Scanning of Local Cerebral Blood Flow and Reserve Capacity and Testing of Motor and Memory Functions in a Chronic 2-Vessel Occlusion Model in Rats. **Stroke**. v. 29, p. 2412-2420. 1998.

WANG, X; ELIAS K.; MICHAELIS. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. **Frontiers in Aging Neuroscience**. v. 2, n. 12, p. 1-13. Mar. 2010.