

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COORDENADORIA DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(Modalidade: Licenciatura)

FELIPE RODRIGUES LIMA DA SILVA

**EFEITO DA FRAÇÃO DICLOROMETANO DAS FOLHAS DE *Dysphania*
ambrosioides (L.) Mosyakin & Clemants SOBRE INFLAMAÇÃO CRÔNICA**

SÃO LUÍS – MA

2020

FELIPE RODRIGUES LIMA DA SILVA

EFEITO DA FRAÇÃO DICLOROMETANO DAS FOLHAS DE *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants SOBRE INFLAMAÇÃO CRÔNICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Maranhão como exigência para obtenção do título de graduado em Ciências Biológicas, módulo licenciatura.

Orientador: Prof. Dr. Wanderson Silva Pereira

SÃO LUÍS - MA

2020

FELIPE RODRIGUES LIMA DA SILVA

EFEITO DA FRAÇÃO DICLOROMETANO DAS FOLHAS DE *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants SOBRE INFLAMAÇÃO CRÔNICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Maranhão como exigência para obtenção do título de graduado em Ciências Biológicas, módulo licenciatura.

Orientador: Prof. Dr. Wanderson Silva Pereira

Aprovado em: __/__/__

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a Dra. Patricia Alves Reis

Mestrando Arthur André Castro da Costa

Prof.^a Dra. Mayara Cristina Pinto da Silva

Prof. Dr. Paulo Victor Soeiro Pereira

Ficha gerada na biblioteca

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

RODRIGUES, FELIPE.

EFEITO DA FRAÇÃO DICLOROMETANO DAS FOLHAS DE *Dysphania*
ambrosioides L. Mosyakin & Clemants SOBRE INFLAMAÇÃO
CRÔNICA / FELIPE RODRIGUES. - 2021.

60 p.

Orientador(a): Wanderson Silva Pereira.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Maranhão, Google Meet, 2021.

1. Citocinas. 2. *Dysphania ambrosioides*. 3. Edema de
pata. 4. Granuloma. 5. Inflamação crônica. I. Silva
Pereira, Wanderson. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a Deus em primeiro lugar, porque dele, por meio dele e para Ele são todas as coisas. Sua criação é perfeita e ter a oportunidade de estudar a vida em todas as suas formas se tornou uma experiência incrível. Obrigado por me fazer entender, respeitar e amar a diversidade, a evolução e o tempo de todas as coisas. Deus foi essencial durante todo o processo para me ensinar que antes de ser professor, precisava eu saber o que de fato era ser aluno e filho. Hoje sei que a licenciatura é uma entrega, doação, expressão máxima de empatia pelo que acreditamos, aliás, não houve na história um professor mais exemplar que Jesus.

Quero agradecer aos meus pais que são anjos na terra. Mãe, quero lhe agradecer por sua maneira engraçada e preocupada em montar todo um suporte necessário para me auxiliar como podia durante minha graduação, obrigado por cada comida feita com carinho, por cada roupa lavada, por cada noite que eu cheguei cansado ou com dor e você me aliviou ou me medicou. Obrigado mãe, por sempre me auxiliar como podia, você nunca me deixou faltar NADA. Obrigado por estar ao meu lado nas decisões mais difíceis, e por me apoiar quando eu decidi ser um professor. Obrigado por falar de mim com orgulho sobre meu trabalho, talento e meu esforço. Foi durante a graduação que uma das coisas mais tristes da minha vida aconteceu: o infarto do meu pai! Sofri, contei com ajuda de familiares e amigos, perdi noites de sono, deixei de entregar trabalhos, atividades e fazer provas, mas agradeço a Deus porque hoje meu pai está vivo e pode presenciar esse momento tão importante pelo qual ele lutou tanto. Agradeço ao meu pai que pelas suas mãos cheias de graxa conseguiu agraciar minha vida. E que sempre correu atrás para que eu tivesse TUDO que me era necessário. Meu pai, o senhor é um dos homens mais sábios que eu conheço. Conheço muitos homens com diplomas e títulos no mundo, mas que não chegam perto da sabedoria de vida que o senhor carrega. Hoje sei que se eu sofri durante esses 5 anos, meus pais sofreram em dobro, se suei, eles suaram em dobro, e se sonhei durante esses anos, eles sonharam ao meu lado ou pensando em mim. E é por conhecer tanto meus pais e saber do seu imenso amor e esforço por mim que posso dizer que serei um grande professor, humano e responsável. Obrigado Francisco José Ribeiro da Silva e Maria Raimunda Rodrigues Lima.

Quero agradecer também às mudanças, pois cada mudança que enfrentei na vida refletem profundamente quem sou hoje. Como explicar um simples adolescente se tornando um professor tão de repente? Acertos daqui, erros dali e correções a todo momento. Eu fui durante os 5 anos de graduação um grande quebra cabeça em que cada peça representou uma pequena mudança que me construiu e completou etapa por etapa. De fato, posso afirmar que não foi fácil, pois nenhuma mudança foi confortável. Hoje escrevo esses agradecimentos com choro, me sinto vitorioso de uma forma que não sei explicar pois trabalhei fazendo massagem, sendo atendente em um sushi, fiz hambúrguer artesanal, vendi rifas, geladinho gourmet e brigadeiro para alcançar cada vez mais meus objetivos e hoje tenho a possibilidade de começar de fato minha carreira na profissão que eu escolhi para minha vida. Me sinto preparado, pois como diria Charles Darwin: “Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que melhor se adapta às mudanças.”

Quero agradecer aos meus professores, em especial ao meu orientador Wanderson, pois é graças a vocês que estou aqui hoje. Meus queridos mestres, meu sincero obrigado por TUDO. Pela paciência, pela flexibilidade de alguns, pela empatia, pelo auxílio, pela fé em mim, e pelos elogios ao final de cada aula que eu ministrava. Obrigado por tentarem me avisar como era ser um professor e os desafios que eu enfrentaria adiante, eu acredito hoje quando vocês me falavam que os planejamentos de aula tomariam minha vida, que alguns alunos se tornam filhos, que a gente se apegava a uma turma, que carregamos nossos alunos conosco e que eles se tornam parte de nós e da nossa história. Hoje entendo as dores de cabeça, rouquidão, dores nos pés e nas costas, entendo também quando me falavam que a parte emocional de ser um professor fala muito mais alto que o financeiro. Entendo quando vocês diziam que toda aula é um novo aprendizado, e que mesmo que eu tenha dado 1.000 vezes a mesma aula, ela sempre será diferente. Hoje eu sei que o reconhecimento talvez possa nunca vir, e que para algumas pessoas minha profissão é falida. Obrigado por me ensinarem a não baixar a cabeça para condições de trabalho desumanas. Obrigado por me ajudarem a entender que eu não devo pegar o macete de ser professor, mas que tenho que planejar cada aula como se fosse a primeira, e que as dúvidas e o frio na barriga são necessários e são meus aliados para me tornar cada vez melhor. Hoje tenho certeza que todo professor precisa mesmo ser um pouco surtado. Sinto o peso da responsabilidade no cuidado que preciso ter em tudo que eu falo, e na maneira que me comporto, pois sei que para alguns serei um professor, para

outros um amigo, e para alguns poucos, um pai. Já me adaptei ao fato dos meus alunos descobrirem tudo da minha vida, e à necessidade deles de saberem quem eu sou para estar ali na frente tão novo falando de ciência. Hoje entendo quando meus professores erravam em algum aspecto, obrigado por se mostrarem falhos, isso também foi um aprendizado. Hoje entendo que embora o salário não seja magnífico, eu deito a cabeça no travesseiro na sexta à noite e penso “eu sou feliz”, são nesses momentos que eu percebo que me tornei de verdade um professor. Eu poderia ter feito inúmeras faculdades, mestrados, especializações e etc., mas percebo que me torno de fato um educador quando sinto prazer no aprendizado de uma criança/adolescente. Me sinto no lugar certo, na hora certa, fazendo o que eu nasci para fazer. Hoje percebo uma matemática simples, que se não fossem os professores não chegaria a lugar algum, que ser professor é honrar a população do local onde eu vivo. Professor Wanderson, meus sinceros agradecimentos por me adotar como um filho durante essa graduação e por confiar em mim, me sinto um sortudo por ter passado pela sua orientação e por ter aprendido tanto ao seu lado.

Karen, minha irmã, é óbvio que tenho motivos para agradecer a você também, você não sabe disso, mas és um exemplo para mim. A primeira da minha casa a entrar na Universidade Federal, e que me trouxe uma responsabilidade de ser tão melhor quanto. Sempre admirei sua enorme inteligência, sempre me senti desafiado a ser tão inteligente quanto. Você é um exemplo para mim também de resiliência e força, sei que você não gostaria de ter nem metade das cicatrizes que carrega hoje, mas admiro a forma como você lida com cada uma delas e transforma luto em festa. Sempre com coragem e determinação acho incrível como você tem a capacidade de renascer e de transbordar compromisso em tudo o que faz. Obrigado.

Jimmy Edson e Camila Inês quero agradecer a amizade e ao apoio de vocês! Nem a distância e nem o tempo podem apagar os momentos que vivemos juntos, as alegrias que compartilhamos e principalmente a cumplicidade que construímos. Nunca vou me esquecer de situações onde vocês seguraram minhas mãos e me trouxeram calma, de toda ida para casa juntos, de todo riso que nos fazia aliviar a tensão, de todas as vezes que vocês olharam nos meus olhos e sabiam que eu não estava bem e me respeitaram e mudaram meu dia, de todas as vezes que me suprimam com dinheiro e medicamento quando eu não tive condições. Vocês estavam nos momentos onde o filho chora e a mãe não vê. Obrigado pelas crises de riso, pelos aniversários, pelos 5 salgados que comíamos juntos no dia de ansiedade e medo,

obrigado por me verem chorar e não perceberem um menino fraco, mas um homem que necessitava desabar naquele momento. Obrigado por entenderem minhas mudanças e por se dedicarem tanto e se preocuparem tanto com nossa amizade. Eu amo muito vocês.

Gratidão é a palavra que envolve meu coração, tenho orgulho de mim, só eu sei das dúvidas, dos medos e das superações para chegar até aqui, dos dias que eu chegava em casa e não sei de onde tirava forças para estudar toda a madrugada. Hoje sei de onde essa força vinha, da esperança de uma vida melhor e dos meus melhores amigos Valentina Abreu, Talys Veras, Armando Filho e Jorge Nael. Eu poderia dizer muitas coisas a respeito de vocês, e de como foram fundamentais na minha vida. Ver o crescimento de vocês sempre me incentivou a querer crescer também. Obrigado por tornarem tudo mais leve, pelo companheirismo sincero, pelo apoio nas minhas decisões sempre, por serem os primeiros além da minha família a demonstrar sua admiração, irmandade e amor. Eu sinto o amor de vocês por mim a km de distância em cada gesto de carinho. Eu amo imensamente vocês e o espaço que vocês preenchem no meu coração. O apoio de vocês fez toda diferença! Muito obrigado.

Essa força também veio de Clauco, meu amor. Você ficou surpreso quando descobriu que estaria nos meus agradecimentos, mas a pergunta que não quer calar é, como você não estaria se você é minha vida? Eu só tenho motivos para ser imensamente grato a Deus por ter permitido que nós dois nos encontrássemos. Muitos dos dias durante esse processo de escrita de monografia minha força veio de você, do seu olhar que me diz "eu acredito em você". Você sempre vê tanto potencial em mim e sempre me incentiva a prosseguir, você simplesmente muda meu dia com toda sua enorme demonstração de afeto, muda meu dia quando você fala que vamos conseguir juntos, muda meu dia quando você sorri para mim. Eu amo você, e agradeço profundamente por tudo que você tem feito nesse tempo em que estamos juntos, obrigado por existir, você é meu melhor presente.

Quero também tornar participantes desse lindo momento comigo, pessoas incríveis que fizeram diferença na minha vida. Meus amigos, vocês são maravilhosos, obrigado pelos conselhos, pelas conversas no whatsapp, por auxiliarem na minha saúde mental, por me apresentarem a vida por ângulos diferentes, por me acompanharem em minhas loucuras, por demonstrarem de uma forma especial preocupação e carinho. Dedico esses agradecimentos principalmente aos meus

amigos: Cinthya, que foi e é uma amiga preciosa, e que nunca mediu esforços para estar junto a mim. Clodoaldo e Amanda Cutrim, que além de serem meus santos casamenteiros, nunca encontraram dificuldades para me apoiar . A todos os meninos do grupo Revelações que além de amigos de infância, me aceitaram e apoiaram como eu sou. Paulo Almeida e Marcos Nutty, que trouxeram um brilho a mais pra minha vida e com quem eu posso contar e são fonte de inspiração. Bruna França, que se dedicou em me apoiar em tudo, emprestou o próprio notebook para que eu seguisse na construção da monografia, me gerou oportunidades de emprego e me apoiou em diversas decisões. Rayana Mota, com seu coração genial e enorme, que me ensinou a ver a vida de uma maneira delicada e amável como um bom pisciano deve ser. Agradeço a Matheus Gaiola por todo companheirismo nos dias de solidão e por me possibilitar as melhores aventuras do mundo. Obrigado a Lorena de Santana por ser uma amiga que sempre deixou abertamente seu amor e admiração por mim, por lutar pela minha vida, por chorar por mim e por sempre estar interessada em como eu estou. Por fim mas não menos importante, quero agradecer também a Thainá e Fabiano Alves, que foram pais espirituais, que me cobriram de orações e sentimentos bons, me auxiliaram no processo de descoberta e construção de qualidades e ensinamentos que carrego no peito até hoje, que ajudaram muito mais do que puderam, não somente a mim, mas também à minha família, e que sempre foram uma fonte inesgotável de conselhos sábios e apoio.

A todos, meu imenso e sincero Obrigado!

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus amados pais, Maria Raimunda Rodrigues Lima e Francisco José Ribeiro da Silva que me apoiaram e incentivaram a nunca desistir dos estudos e que se sacrificaram diariamente para realizar meus sonhos. Que me ensinaram que trabalhar no que se ama é a verdadeira realização. Por terem me mostrado que com persistência, dedicação e fé o impossível pode ser alcançado. Obrigado por seu amor incondicional.

EPÍGRAFE

“Não sei se a vida é curta ou longa para nós, mas sei que nada do que vivemos tem sentido se não tocarmos o coração das pessoas. Muitas vezes basta ser colo que acolhe, braço que envolve, palavra que conforta, silêncio que respeita, alegria que contagia, lágrima que corre, olhar que acaricia e amor que promove. Isso não é coisa de outro mundo, é o que dá sentido à vida, é o que faz com que ela não seja nem curta e nem longa demais, mas que seja intensa, verdadeira e pura enquanto durar. Feliz é aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina!” - Cora Coralina

EFEITO DA FRAÇÃO DICLOROMETANO DAS FOLHAS DE *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants SOBRE INFLAMAÇÃO CRÔNICA

Felipe Rodrigues Lima da Silva [felipe.rodrigues_01@hotmail.com]

Departamento de Biologia

Universidade Federal do Maranhão

Av. dos Portugueses 1966 Bacanga, São Luís, Maranhão, Brasil

Prof. Dr. Wanderson Silva Pereira [prof.mscwandersonpereira@yahoo.com.br]

Departamento de Biologia

Universidade Federal do Maranhão

Av. dos Portugueses 1966 Bacanga, São Luís, Maranhão, Brasil

RESUMO

O processo inflamatório é necessário para que o corpo alcance homeostasia em caso de alguma infecção ou dano tecidual, onde células como neutrófilos, macrófagos ou linfócitos, além de substâncias solúveis e componentes vasculares participam deste processo para combater o agente causador da inflamação, além de reparar o tecido. Diversos processos bioquímicos também participam do processo inflamatório, como por exemplo, o sistema complemento e a coagulação sanguínea. As principais características de uma inflamação são dor, calor, rubor, edema e prejuízo funcional, e a mesma é classificada em inflamação aguda ou crônica. As doenças inflamatórias afetam diretamente a qualidade de vida das pessoas nesta condição, isso porque ao passar do tempo, esta pessoa vai se tornando incapacitada e limitada. Em busca de novas formas de tratamento para doenças, pois os medicamentos sintéticos possuem efeitos colaterais, o vasto conhecimento e utilização das plantas medicinais têm tido cada vez mais destaque e sido enfoque de inúmeras pesquisas. O Brasil possui uma grande variedade de plantas com um grande potencial medicinal, dentre elas destaca-se *Dysphania ambrosioides* (Amaranthaceae), que possui entre seus principais efeitos ser antitumoral, imunomoduladora e anti-inflamatória. Neste trabalho, para simular a inflamação, foram usados 2 modelos diferentes, sendo eles o modelo de edema de pata, que simula uma inflamação aguda com pico na 3ª hora, onde os animais foram anestesiados e 50 µL de carragenina foi aplicado na região subplantar da pata traseira esquerda dos camundongos 1h após o tratamento oral com 100 µL da fração diclorometano nas doses 0,5, 1 ou 5 mg/kg, e medidos a cada hora durante 4h após a injeção com utilização de pletismômetro, e o modelo de indução de granuloma por corpo estranho, onde a indução aconteceu pela implantação no dorso do animal. Eles foram tratados via oral com 100 µL da fração nas doses de 0,5, 1 ou 5 mg/kg durante 17 dias, simulando uma inflamação crônica. No 18º dia os animais foram eutanasiados e os órgãos linfóides foram retirados e pesados (peso úmido e seco) para avaliação da celularidade, os camundongos da linhagem swiss foram doados pelo biotério da Universidade Federal do Maranhão. Os animais tratados com a fração diclorometano nas doses de 0,5 e 5 mg/kg apresentaram melhores resultados quanto a inibição do edema de pata. No entanto, o tratamento com a fração diclorometano não apresentou efeito quanto a inibição do granuloma, sendo essa não responsividade evidenciada na dose de 0,5mg/kg. Nos resultados obtidos através do tratamento com diferentes concentrações da fração diclorometano foi possível perceber que o tratamento teve ação mais acentuada na fase aguda da inflamação e não demonstrou resultados satisfatórios diante da fase

crônica, tendo portanto, apenas ação antiedematogênica. Os dados apresentados ressaltam a necessidade da procura por tratamentos mais efetivos, principalmente com outras doses dessa fração, além de agregar valores à pesquisa com fitoterápicos.

Palavras chave: Inflamação crônica; *Dysphania ambrosioides*; Edema de pata; Granuloma; Citocinas;

ABSTRACT

EFFECT OF THE DICHLOROMETHANE FRACTION OF THE LEAVES OF *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants ON CHRONIC INFLAMMATION **Abstract**

The inflammatory process is necessary for the body to reach homeostasis in case of any infection or tissue damage, where cells such as neutrophils, macrophages or lymphocytes, also, soluble substances and vascular components participate in this process to combat the inflammatory causative agent, besides repairing the tissue. Several biochemical processes are also involved in the inflammatory process, for example, the complement system and blood coagulation. The main characteristics of an inflammation are pain, heat, redness, edema and functional impairment, and it is classified as acute or chronic inflammation. Inflammatory diseases directly affect the quality of life of people with this condition, because over time, this person becomes disabled and limited. In search of new forms of treatment for diseases, since synthetic drugs have side effects, the vast knowledge and the use of medicinal plants has received more emphasis and has been the focus of several studies. Brazil has a wide variety of plants with great medicinal potential, among them, *Dysphania ambrosioides* (Amaranthaceae) stands out, which has among its main effects the anti-tumor, immunomodulatory and anti-inflammatory effect. In this study, to simulate the inflammation, 2 different models were used, namely the paw edema model, which simulates an acute inflammation with a peak in the 3rd hour, where the animals were anesthetized and 50 µL of carrageenan were applied to the subtalar region of the paw left rear view of mice 1h after oral treatment with 100 µL of the dichloromethane fraction at doses 0.5, 1 or 5 mg/kg, and measured every hour for 4 hours after injection using a plethysmometer, and the granuloma induction model foreign body, where the induction occurred by implantation on the animal's back. They were treated orally with 100 µL of the fraction at doses of 0.5, 1 or 5 mg / kg for 17 days, simulating chronic inflammation. On the 18th day, the animals were euthanized and the lymphoid organs were removed and weighed (wet and dry weight) to assess cellularity, the Swiss lineage mice were donated by the vivarium of the Federal University of Maranhão. The animals treated with the dichloromethane fraction at doses of 0.5 and 5 mg/kg showed better results regarding the inhibition of paw edema. However, treatment with the dichloromethane fraction had no effect on inhibition of granuloma, and this non-responsiveness was evidenced at the dose of 0.5mg/kg. In the results obtained through the treatment with different concentrations of the dichloromethane fraction, it was possible to perceive that the treatment had a more accentuated action in the acute phase of inflammation and did not demonstrate satisfactory results compared to the chronic phase, therefore, having only antiedematogenic action. The data presented show the need to seek more effective treatments, especially with other doses of this fraction, in order to adding value to research with herbal medicines.

Keywords: Chronic inflammation; *Dysphania ambrosioides*; Paw edema; Granuloma; Cytokines;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efeito do tratamento com a fração diclorometano sobre edema de pata induzido por carragenina 1%.....	30
Figura 2. Índice de edema de pata na 3ª hora dos grupos de tratamento com a fração diclorometano	31
Figura 3. Efeito do tratamento da fração diclorometano sobre a formação de granuloma	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeito do tratamento da fração diclorometano sobre a celularidade e o peso dos órgãos linfoides	32
Tabela 2. Efeitos do tratamento oral com a fração diclorometano sobre a produção e liberação de citocinas	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Δ – Delta

μL – Microlitro.

AA – Ácido araquidônico.

AINEs - Anti-inflamatórios não esteroides.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

EBH – Extrato Bruto Hidroalcolico.

COX-1 - Cicloxigenase-1.

COX-2 - Cicloxigenase-2.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

IL – Interleucina.

IM – Intramuscular.

INF γ – Interferon gama.

LIF – Laboratório de Imunofisiologia.

kg – Quilograma.

mg – Miligrama.

NK – *Natural Killer* – Assassinas naturais

NO – Óxido Nítrico.

OECD - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAF - *Platelet-activating factor* – Fator de ativação plaquetária.

PBS - *Phosphate buffered saline* – Tampão fosfato-salino.

PF- Peso Final.

PGs – Prostaglandinas.

PI- Peso Inicial.

ROS – Espécies reativas de oxigênio.

TGF- β - *Transforming growth factor beta* - Fator de transformação do crescimento beta.

TNF- α - *Tumor necrosis factor alfa* - Fator de necrose tumoral alfa.

TXs – Tromboxanas.

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	26
	2.1 Objetivo Geral	26
	2.2 Objetivos Específicos	26
3	METODOLOGIA	27
	3.1 Tipo de Estudo e Aspectos Éticos	27
	3.2. Animais	27
	3.3 Fracionamento do extrato	27
	3.4. Tratamento dos animais	28
	3.5. Edema de pata	28
	3.6. Granuloma	28
	3.7. Órgãos linfoides e número de células	29
	3.8. Dosagem de citocinas	29
	3.9. Estatística	29
4	RESULTADOS	30
	4.1. Efeito da fração diclorometano sobre o edema de pata	30
	4.2. Efeito da fração diclorometano sobre o granuloma	31
	4.3. Efeito da fração diclorometano sobre os órgãos linfoides	32
	4.4. Efeito da fração diclorometano sobre a produção de citocinas	33
5	DISCUSSÃO	34
6	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

A resposta inflamatória consiste em um importante evento das imunidades inata e adaptativa, nos quais células e mediadores colaboram para neutralizar e eliminar o estímulo prejudicial, permitindo assim, a manutenção da homeostase e possibilidade do início do processo de cicatrização (MEDZHITOV, 2010; DHINGRA, 2015;). Ao ocorrer um dano tecidual, injúria ou infecção, o processo inflamatório é o passo inicial para o retorno do equilíbrio (homeostase) no organismo, sendo uma resposta não específica que tem por finalidade remover o estímulo que deu início a inflamação, induzindo a reparação local, tendo como principais sinais o rubor, calor, edema e a dor, conhecidos também como os sinais cardinais descritos por Cornelius Celsus no primeiro século d.C., o quinto sinal da inflamação é o prejuízo funcional, relatado por Rudolf Virchow no século XIX (ROCK e KONO, 2008; CRUVINEL *et al.*, 2010; NETEA *et al.*, 2017; VARELA *et al.*, 2018).

A vermelhidão (hiperemia) / calor e o inchaço ocorrem devido ao aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular, respectivamente. A dor é provocada pela sensibilização dos nervos aferentes primários, enquanto, que a perda de função é, provavelmente, consequência do somatório de vários fatores, especialmente do edema e da dor (MONTENEGRO *et al.*, 2019). A inflamação é um processo defensor do organismo que executa sua ação protetora neutralizando, diluindo ou destruindo os agentes nocivos, podendo ter repercussões locais, como por exemplo numa tendinite ou foliculite, ou passar completamente despercebidas como microtraumatismos de pele ou mucosa, como também podem atingir um grau sistêmico em condições onde a capacidade homeostática local é superada, ou pela grandeza do estímulo agressor, ou até mesmo pela insuficiência dos mecanismos reguladores (ASHLEY *et al.*, 2012).

Em uma resposta inflamatória estão envolvidas muitas substâncias solúveis, além de componentes celulares e vasculares que participam de diversos processos bioquímicos, auxiliando com o estabelecimento, a progressão e a resolução, como por exemplo, o sistema complemento, a coagulação sanguínea e citocinas como TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10, TGF- β que desempenham seu papel e são degradadas (CRUVINEL *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2017). A inflamação pode ser desencadeada por agentes físicos, biológicos ou químicos, que provocam distúrbios na membrana celular, ocasionando a ativação de fosfolipase A2 (uma enzima que degrada os fosfolípidos

presentes na membrana), que produz ácido araquidônico e o libera juntamente com seus metabólicos, PAF-acéter e enzimas lisossômicas. O metabolismo do AA dá origem a uma gama de substâncias biologicamente ativas, que são importantes na fisiopatologia da inflamação, como prostaglandinas (PGs) e tromboxanas (TXs) (MOORE *et al.*, 1974; LEME e SCHAPOVAL, 1975; BRODY, 1997; CONTRAN *et al.*, 1997; RANG *et al.*, 2001). A inflamação também é desencadeada por fatores endógenos, sintetizados por células, como resultado de lesão tecidual, morte celular, necrose ou metabolismo celular deficiente (CARLBERG *et al.*, 2016).

O processo inflamatório ocorre em diversas etapas para que haja o maior recrutamento de populações celulares diferentes, que tenham capacidade para eliminar o agente que desencadeou o processo, e que possam auxiliar também no processo de reparo do tecido lesionado. Por exemplo, no processo inflamatório agudo uma gama de tipos celulares participa do processo de combate ao agente causal sendo as primeiras a chegar no foco da inflamação os neutrófilos e logo após os macrófagos teciduais (GOMES-LEAL, 2002; ABBAS, 2012;). Conforme Dekker e Segal (2000), no início da inflamação os neutrófilos que estão circulando no sangue estimulados por mediadores inflamatórios que foram liberados no local da lesão, se aproximam próximo a parede vascular ocupando uma posição mais periférica. Logo após, se aderem ao endotélio e atravessam a parede do vaso, processo este conhecido como diapedese, migrando em direção ao foco da inflamação por um processo de quimiotaxia, na intenção de restabelecer o tecido que foi lesionado e eliminar o agente causador da inflamação.

A migração de leucócitos das vênulas para o estágio inicial do tecido inflamado, uma maior permeabilidade capilar devido à diminuição das células endoteliais que envolvem os vasos (o que permite que moléculas maiores saiam dos capilares), e o suprimento de sangue para o local que foi lesionado, são os 3 fatores principais da resposta tecidual de inflamação (MALE *et al.*, 2014). De acordo com Chao, (2015), é importante frisar que uma resposta inflamatória adequada e regulada é essencial para uma função imunológica de caráter saudável. Segundo Kishore *et al.*, (2019), os mecanismos anti-inflamatórios não são isentos de falhas, inúmeras doenças são causadas pela desregulação na resposta inflamatória. Entender os mecanismos envolvidos através de modelos de inflamação é o passo primordial para a busca de tratamentos que auxiliem na resposta anti-inflamatória, verificando os eventos envolvidos (YATOO *et al.*, 2018).

Didaticamente, a resposta inflamatória é dividida em duas fases, sendo elas, a aguda e a crônica. A primeira fase (aguda) é caracterizada por acúmulo de fluídos e células, como, por exemplo, neutrófilos além de proteínas plasmáticas que agem de maneira ordenada ativando vias de sinalização (MORTAZ *et al.*, 2018). A fase de Inflamação aguda, segundo Cruvinel *et al.*, (2010), possui curta duração, início rápido e é relativamente uniforme. Em geral, a imunidade inata inicia a inflamação aguda em poucos minutos, e com o estímulo removido, a resposta inflamatória resolve a situação em poucas horas ou no máximo em 3 dias (FRANCESCHI e CAMPISI, 2014). Durante a inflamação aguda é predominante também a presença de macrófagos que são componentes da resposta imune inata. Segundo Abrahamsohn, (2008), os macrófagos têm função primária de fagocitose de partículas como por exemplo restos celulares, micro-organismos e partículas inertes. São células provenientes da diferenciação de um tipo de leucócito denominado monócito nos tecidos.

Além de fagocitar, os macrófagos produzem e secretam um grande número de moléculas como as espécies reativas de oxigênio (ROS) e óxido nítrico (NO), gás solúvel em lipídeos e água com função citostática e citotóxica, desencadeando a resposta imunológica, causando a morte dos micro-organismos. Também liberam citocinas que atraem mais leucócitos para o foco da inflamação, aumentando a reação inflamatória, além de facilitar a passagem de inúmeras proteínas plasmáticas. Os macrófagos quando ativados são responsáveis pela produção de fatores de crescimento para fibroblastos e células endoteliais que irão em sequência participar do remodelamento dos tecidos lesionados após as infecções ou injúrias (ABBAS, 2008; 2012). Se a inflamação persistir, pode ocasionar efeitos negativos no tecido afetado, progredindo para o processo inflamatório crônico, onde ocorre degeneração tecidual e fibrose.

A inflamação crônica por sua vez, possui duração longa e inclui a participação de linfócitos e também o crescimento de fibroblastos para regeneração celular. A mesma é o resultado da persistência do fator etiológico como, por exemplo, um corpo estranho, uma reação de hipersensibilidade, veneno, um agente infeccioso como vírus, bactérias, vermes, protozoários, fungos, ou parasitas, restos de microrganismos ou produtos de metabolismo, lesão por calor, radiação ou trauma (ROBBINS *et al*, 1991; PAUL, 1993; ASHLEY; WEIL; NELSON, 2012). É geralmente assintomática, sendo uma continuação da resposta inflamatória aguda, passando por alterações qualitativas que são determinadas por mudanças gradativas nos componentes solúveis e

celulares que entram no tecido (RUH *et al.*, 2013). A inflamação crônica é reconhecida por não apresentar um padrão, ou seja, varia de acordo com os tipos de mediadores celulares e humorais envolvidos (TASAKA, 2006). O grau e a duração da resposta variam, e isso influencia o resultado final. Existem grandes benefícios em aumentar a resposta inflamatória, mas também há consequências negativas, incluindo a ativação de uma resposta fibrótica, que é definida pelo acúmulo excessivo de tecidos conjuntivos e colágenos que podem debilitar a função do tecido e, em alguns casos, levar à perda de funcionalidade dos órgãos envolvidos (EMING, WYNN & MARTIN, 2011).

As doenças inflamatórias crônicas são causa de grande repercussão negativa sobre a qualidade de vida dos que as possuem, isso porque elas estão diretamente ligadas à dor e à destruição tecidual que ao decorrer do tempo tornam o paciente incapacitado e limitado. De acordo com Nagayoshi *et al.*, (2018) as doenças inflamatórias por serem incapacitantes, atrapalham a vida profissional e social do indivíduo, isso porque afetam conseqüentemente a qualidade de vida e a saúde mental. Segundo Vallerand *et al.*, (2019), pessoas com inflamações crônicas possuem maiores chances de desenvolver a Desordem Depressiva Maior (DDM) conhecida também como depressão. Além da vida social destas pessoas desaparecer aos poucos, problemas inflamatórios crônicos podem gerar também um impacto econômico e não somente para a saúde do paciente (Laurindo *et al.*, 2004). Logo, fármacos utilizados no tratamento de doenças que geram processos inflamatórios são largamente empregados na prática clínica cotidiana (BATISTA *et al.*, 2012).

Alguns dos sintomas mais frequentes de inflamações crônicas incluem rigidez articular, movimentação restrita, dor na região afetada, edema e em alguns casos, crepitação (LI *et al.*, 2016). Idade, traumas, gênero, doenças metabólicas, obesidade, doenças endócrinas, sobrecargas articulares, além de fatores genéticos são os principais fatores de risco associados às doenças inflamatórias crônicas (ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS, 2008; PORTAL SAÚDE, 2011). De acordo com o IBGE, (2008), no Brasil, o número de indivíduos da população com mais de 60 anos é cerca de 19 milhões, estima-se que esse número irá saltar para mais de 64 milhões em 2050. Esses dados são extremamente preocupantes levando em consideração que as doenças inflamatórias crônicas afetam boa parte da população da terceira idade e geram grande incapacidade nos indivíduos nesta condição, onde os mesmos pela facilidade e disponibilidade, optam pelo tratamento com medicamentos anti-

inflamatórios que possivelmente trazem efeitos colaterais (LE LETK *et al.*, 2012).

Anti-inflamatório é o agente que reduz ou previne um ou mais componentes da reação inflamatória. Fundamentalmente, o controle farmacológico da inflamação pode ser exercido atuando antagonizando a liberação de mediadores inflamatórios responsáveis pelo desencadeamento ou amplificação da reação inflamatória ou operando diretamente sobre as células inflamatórias. As intervenções a processos inflamatórios crônicos atualmente são feitas com o uso de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINE's). Segundo Schallemer e Pletsch (2014), como por exemplo, Diclofenaco, Ibuprofeno, Aspirina, dentre outros, tornaram-se drogas de consumo de maior escala em todo o mundo, porém foi confirmado após algum tempo de consumo pela população que as AINE'S possuem efeitos colaterais (MARNETT, 2009). Essa classe de fármacos inibe a enzima COX, que bloqueia a biossíntese de prostaglandinas e tromboxanos, produtos do metabolismo do AA (BRUNTON *et al.*, 2012; TARP *et al.*, 2012). Atualmente são descritas três isoformas da enzima COX: COX-1 e COX-2, bem descritas na literatura, e COX-3 que pouco foi explorado (BRUNTON *et al.*, 2006).

A isoforma COX-1, encontrada em vários tecidos, é uma enzima constitutiva, desempenhando função ao promover homeostasia vascular além de secreção gástrica. Por outro lado, a COX-2 é uma enzima induzida na inflamação por citocinas IL -1, IL-2 e TNF além de outros mediadores inflamatórios, influenciando os eventos vasculares. Alguns anti-inflamatórios inibem diretamente a cicloxigenase-1 (COX-1), que se expressa durante a inflamação implicando no impedimento da reação inflamatória e da síntese de prostaglandinas (FERREIRA, 2002 ; SOSTRES *et al.*, 2010). Quando esses medicamentos não são eficazes, os indivíduos com processos inflamatórios crônicos que tiveram uma má resposta terapêutica partem para outra linha de medicamentos que são inibidores específicos de cicloxigenase-2 (COX-2), como Meloxicam e opióides fortes como Tramadol, morfina, metadona, oxicodona e fentalina no combate as dores intensas (COIMBRA, 2002; WILDER-SMITH,2005).

Os fármacos sintéticos possuem inúmeros efeitos colaterais já reconhecidos, levando a comunidade científica a buscar em espécies vegetais já utilizadas na prática popular um possível potencial para se tornar fonte terapêutica (DA SILVA *et al.*, 2015). Por milênios, a natureza é uma fonte de produtos que podem auxiliar na saúde humana. Inúmeros documentários nas variadas sociedades humanas registram a utilização de plantas para o tratamento de patologias. No Brasil, a difusão dessa

prática pode ser respaldada pela grande biodiversidade e riqueza de espécies medicinais existentes na flora local (AZAB; NASSAR; AZAB, 2016;) A criação de novos medicamentos a partir de plantas é uma nova vertente que tem sido adotada, pois há um vasto registro histórico do uso de plantas medicinais para o tratamento de diversas doenças. Índícios revelam a utilização dessas plantas antes de 4.000 a.C. (DUARTE, 2006). Temos como relatos mais antigos sobre plantas medicinais escrituras em papiros pelas civilizações da Mesopotâmia e do Egito (LEITE, 2009). Na Grécia, “o pai da medicina” Hipócrates, fazia seus medicamentos a partir da natureza, estabelecendo tratamentos à base de plantas (ELDIN e DUNFORD, 2001). Na china, o imperador ShenNung escreveu o primeiro manuscrito de uso de plantas como remédios, o “Pen T’são” (A Grande Fitoterapia), onde são citadas pelo menos 360 espécies utilizadas na medicina alopata (ALONSO, 1998). Em nosso país, o conhecimento sobre as plantas medicinais iniciou-se através da cultura indígena (MARTINS *et al.*, 2000).

Utilizando o princípio ativo das plantas e estudando as plantas medicinais e suas respectivas aplicações na cura de doenças, a fitoterapia (fito = vegetal, terapia = tratamento) se tornou um eficaz método usado no tratamento de diversas enfermidades (ALMEIDA *et al.*, 2009). Os medicamentos à base de plantas podem ser utilizados, como extrato bruto ou como compostos puros isolados para o tratamento de várias doenças. A terapêutica convencional atualmente disponível contém princípios ativos que visam um caminho específico, porém as drogas à base de plantas atuam de maneira mais abrangente. Tais drogas são compostas por múltiplos constituintes ativos que podem agir sinergicamente, seguindo caminhos celulares complexos (KUMAR *et al.*, 2013).

Segundo Sousa *et al.*, (2012), o grande potencial das plantas medicinais no tratamento de doenças deriva da vasta diversidade de metabólitos secundários, além da complexidade da produção dos mesmos. Os metabólitos secundários são produtos de mecanismos adaptativos de defesa das plantas contra animais e micro-organismos. É necessário que se tenha a utilização adequada do que será usado da planta para a obtenção de um melhor proveito dos princípios ativos dos vegetais, isso porque deve-se ter conhecimento sobre os princípios ativos que uma determinada planta tem e para qual tipo de patologia a mesma será recomendada. Sendo consumido em proporções adequadas, com um preparo e uso de maneira correta, os efeitos adversos do uso de fitoterápicos são poucos (ARNOUS *et al.*, 2005). É de grande importância

certificar-se da toxicidade dos vegetais que são utilizados na medicina popular, pois as toxinas de espécies vegetais são consideradas um problema sério de saúde pública (Silva *et al.*, 2015). Toxicidade pode ser considerado a capacidade de uma substância química ser nociva em uma determinada concentração e tempo de exposição para um determinado organismo vivo (RAND e PETROCELLI, 1985). Segundo Mariz, (2008), é importante estudar esta propriedade, pois qualquer substância dependendo da dose, frequência da exposição ou situação fisiológica do organismo, pode ser tóxica. Para conhecer os riscos que as substâncias apresentam, determinando condições seguras de uso, testes toxicológicos são realizados em protocolos padronizados por agências reguladoras nacionais e internacionais. Embora essas plantas medicinais façam parte de uma cultura milenar, o indiscriminado uso pode ser extremamente prejudicial para o organismo. Além da toxidez, outros problemas como os efeitos adversos dos fito medicamentos, adulterações e as interações com outras drogas (ação sinérgica) comumente acontecem (SILVA *et al.*, 2015).

Com cerca de 60.000 espécies vegetais superiores catalogadas, o Brasil possui a maior diversidade vegetal do mundo, embora apenas 8% dessas espécies tenham sido estudadas para pesquisas de compostos bioativos e apenas 1.100 analisadas em suas propriedades medicinais. Logo, podemos concluir que toda essa potencialidade se encontra longe de esgotar-se (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Na biodiversidade brasileira existe um grande potencial para o desenvolvimento de produtos de origem natural e inovadores. Dentre as inúmeras plantas medicinais destaca-se *Dysphania ambrosioides* que de acordo com Trópicos Garden (2017) antes era denominada *Chenopodium ambrosioides* L. É considerada uma planta cosmopolita embora seja originária da América Central e do Sul, podendo ser cultivada em várias partes do mundo ou ser encontrada na forma silvestre na Europa, Ásia, Índia e Chin (CHEVALLIER, 1996). A mesma é conhecida também como “ambrósia do México”, “chá formiga”, “chá das lombrigas”, “chá das bichas”, “quenopódio”, “lombrigueira”, “paico, pazote” ou “epazote”, “erva de Santa Maria” ou “Mastruz”, pertencendo à família Amaranthaceae (SENNA, 2015), é uma erva perene, herbácea, ereta, peluda e possui um odor característico forte e pouco agradável, podendo alcançar até 1m de altura, possui flores pequenas de coloração verde clara, verde amarelada ou vermelha que se inserem nas folhas superiores. Os frutos são verdes acastanhados originando uma única semente preta, a qual é utilizada para a

reprodução da planta. Floresce anualmente entre os meses de abril e dezembro (LORENZI e MATOS, 2008), sendo considerada uma das principais plantas empregadas em larga escala na medicina popular, principalmente para contusões, luxações, feridas, pneumonias, gripes e hematomas (equimoses) (LORENZI e MATOS, 2002; PRAJAPATI, 2003).

O mastruz (*D. ambrosioides*) é considerado uma das 71 plantas de interesse ao SUS-RENISUS segundo a Relação Nacional de Plantas Medicinais (BRASIL, 2009). Por conta da fácil obtenção e por fazer parte de um contexto cultural de tradições que são passadas adiante em uma comunidade, o uso popular de plantas medicinais representa uma opção para os primeiros cuidados de saúde por pessoas carentes (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005). Dados epidemiológicos e experimentais têm mostrado que *Dysphania ambrosioides* apresenta potencial frente a diversas enfermidades, principalmente frente a inflamações crônicas e persistentes, que são doenças de grande impacto na saúde pública, alguns estudos demonstram que o sumo das folhas do mastruz misturado ao leite e bebido diariamente de manhã ajuda no tratamento de problemas pulmonares em que se inclui até mesmo a tuberculose por exemplo (DUARTE FR, 1998; BRITO *et al.*, 2007).

Essa espécie vegetal pode também sobretudo influenciar direta ou indiretamente sobre células participantes das respostas imunológicas, agindo sobre mecanismos que são capazes de ativar ou inibir eventos envolvidos com a inflamação. Apresenta diversas propriedades farmacológicas, dentre elas, destaca-se na área da saúde, a capacidade de aceleração na reparação óssea e o seu efeito anti-inflamatório (MORAES, 1996; RIBEIRO *et al.*, 2004; SÉRVIO *et al.*, 2011; TRIVELLATO *et al.*, 2013), e cicatrizante (PINHEIRO NETO *et al.*, 2005). Tanto as folhas, quanto raízes e inflorescências da planta são utilizadas para tratamento na forma de infusões, ou de maneira tópica, macerando as folhas para serem usadas como analgésico, anti-protozoário e antitumoral (NASCIMENTO *et al.*, 2006; SILVA e NEPOMUCENO, 2007; DA SILVA *et al.*, 2015). É sabido que esta espécie tem grande potencial imunomodulador (CRUZ *et al.*, 2007), e atua também na diminuição da nocicepção (GRASSI, 2011). Além disso possui atividades biológicas destacáveis como efeito leishmanicida (BEZERRA *et al.*, 2006; PATRÍCIO *et al.*, 2008; MONZOTE, 2014) larvicida (MORSY *et al.*, 1998), bactericida (LALL e MEYER, 1999; BORBA 2004), antidiabético (SONG *et al.*, 2011), antioxidante (SANTIAGO *et al.*, 2016) nematocida (INSUNZA *et al.*, 2001) fungicida (VIEIRA, 1992; DELESPAUL *et al.*, 2000; KUMAR *et*

al., 2007; CHU *et al.*, 2011; JARDIM *et al.*, 2008), moluscicida (HMAMOUCI *et al.*, 2000), anti-helmíntico (MACDONALD *et al.*, 2004; LORENZI e MATOS, 2008), sobre o desenvolvimento de osteoartrite (CALADO *et al.*, 2015), anti-artrite (PEREIRA *et al.*, 2018), expectorante (AGRA *et al.*, 2008) no tratamento de hemorroidas (MASUCCI, 1992; SHINWARI e KHAN, 2000), sobre distúrbios intestinais e afecções pulmonares (CHEVALLIER, 1996), tratamentos de gripe (SÁ, 2013) no tratamento de úlceras leishmanióticas (FRANÇA *et al.*, 1996; MOREIRA *et al.*, 2002) contusões e equimoses (LORENZI e MATOS, 2002), inseticida e/ou repelente (PIO CORREA, 1984; TAPONDJOU *et al.*, 2002; TAVARES e VENDRAMIM, 2005; MONZOTE *et al.*, 2007; WOHLBERG e SILVA, 2009; BARBOSA *et al.*, 2011; CAETANO *et al.*, 2011), no combate de verminoses (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; CARVALHO *et al.*, 2005; LIMA *et al.*, 2014), tônico (MENDES e CARLINI, 2007), estomática, antirreumática (LORENZI e MATOS, 2008), além de possuir ação alelopática (OSORNIO *et al.*, 1996).

Na composição química desse vegetal podemos perceber uma média de 60% de (Z)-ascaridol, 18% de (E)-ascaridol e 3% de carvacrol. Em concentrações menores se fazem presentes no óleo essencial da planta p-cimeno, α -terpineol, álcool benzílico, p-mentha-1,3,8-trieno, piperitone, p-cimen-8-ol, α -terpineno, acetato de (Z)-carvil, acetato de (E) piperitol e p-cresol (OLIVEIRA *et al.*, 2015). O extrato bruto hidroalcoólico (EBH) de *D. ambrosioides* de acordo com Neiva (2011), possui inúmeros constituintes químicos dentre os quais podemos citar por exemplo: alcaloides, saponinas, flavonoides, taninos condensados, esteroides, triterpenoides, ácidos orgânicos e compostos fenólicos. Podemos dar um enfoque maior para os flavonoides que são encontrados em grande escala nas frutas, folhas, chás e vinhos, sendo um grupo de metabólitos secundários mais abundante encontrado nas plantas (SILVA, 2015). É necessário ressaltar que mesmo com todos os benefícios já comprovados da *D. ambrosioides*, essa planta apresenta também certa toxicidade quando é usada em doses que ultrapassam de 10 a 100 vezes a dose determinada como terapêutica, trazendo modificações para o organismo como a alteração de células. Quando administrado via oral em doses inferiores a 50mg/kg do peso do animal, o EBH de *D. ambrosioides* apresenta efeito anti-inflamatório frente a processos agudos e crônicos não apresentando nesta dose toxicidade nas células dos rins e do fígado (PEREIRA *et al.*, 2010)

Pereira *et al.*, (2018) demonstrou que o kaempferol e quercetina são flavonoides que se apresentam em maior quantidade no EBH do mastruz. A

quercentina em modelo experimental de inflamação crônica reduziu a gravidade da inflamação, protegeu a cartilagem sinovial e os danos ósseos. Essa regressão inflamatória está possivelmente associada a diminuição na produção de citocinas, incluindo a TNF- α , INF- γ e IL-6 (HALEAGRAHARA *et al.*, 2017; GARDI, 2015). Já o kaempferol é descrito como amenizador da severidade de inflamação crônica e antiosteoclastogênico (LEE, 2009).

Embora a literatura mostre muitos dados no que diz respeito aos extratos das folhas de mastruz, ainda são poucos os estudos com frações. Pelo fato da *D. ambrosioides* ser uma importante espécie vegetal utilizada na medicina popular, derivada da grande diversidade que há no Brasil, e por esta possuir diversas atividades biológicas comprovadas como, por exemplo, o efeito anti-inflamatório, torna-se de grande importância o estudo voltado a pesquisas com as frações derivadas do EBH das folhas de *D. ambrosioides*, já que os resultados até então obtidos são baseados em óleos essenciais ou extratos brutos ou estudos realizados com a fração diclorometano em outras espécies vegetais (DAMTE *et al.*, 2011; GONZÁLEZ-CHÁVEZ *et al.*, 2017; IWAMOTO *et al.*, 2015; MARZOCCO *et al.*, 2017). O uso de frações do EBH ainda permanece sob investigação, em particular a fração diclorometano.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito anti-inflamatório da fração diclorometano do extrato bruto hidroalcoólico das folhas de *Dysphania ambrosioides*.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito do tratamento oral com a fração diclorometano sobre modelos de inflamação em camundongos, determinando sua ação sobre:

- Desenvolvimento de edema de pata induzida por carragenina (inflamação aguda);
- Desenvolvimento de granuloma induzido por corpo estranho (inflamação crônica);
- Parâmetros imunológicos (número de células totais do baço, linfonodos e medula óssea);
- Balanço de citocinas presentes no soro sanguíneo.

3. METODOLOGIA

3.1 Tipo de Estudo e Aspectos Éticos

Este estudo experimental foi realizado *in vivo* no laboratório de Imunofisiologia (LIF), localizado no campus do Bacanga da Universidade Federal do Maranhão. Para isso, foi submetido à análise e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal do Maranhão, sob o protocolo de número 23115.005293/2015-14.

3.2. Animais

Foram utilizados camundongos adultos da linhagem Swiss com idade entre 3 e 6 meses, com peso corporal entre 20 e 25g, doados pelo biotério da Universidade Federal do Maranhão. Os animais foram mantidos há uma temperatura média de 27°C, acondicionados em laboratório com ciclos normais de 12h claro/escuro, com livre acesso à água e ração.

3.3 Fracionamento do extrato

As folhas de *D. ambrosioides* L. (Amaranthaceae) foram coletadas no Herbário Paz e Harmonia e identificadas no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão com exsicata de número 0998. O material colhido foi seco a temperatura ambiente de 37°C por tempo necessário e depois as folhas foram pulverizadas. A extração foi feita por maceração utilizando-se o pó em 1L de etanol 70% e agitado de 8 em 8 horas. Após 24h, o macerado foi filtrado e novamente será acrescido 1L de etanol 70%, o procedimento de maceração será repetido quatro vezes. O último filtrado será levado a um rotaevaporador sob pressão reduzida para a concentração do extrato. Finalmente, o extrato será seco. Para a utilização em animais o extrato bruto hidroalcoólico (EBH) foi sempre diluída em PBS 1x. O EBH seco foi fracionado em funil de separação com adição de 400 mL de metanol e hexano até a fase hexânica apresentar-se incolor, resultando na fração hexânica. A fase hidroalcoólica resultante do processo anterior foi, então, particionada com diclorometano de separação até que a fase diclorometano se apresentasse incolor, dando origem a fração diclorometano. Em seguida, procedeu-se a partição da fase hidroalcoólica remanescente com acetato de etila em funil de separação, até que a fase acetato de etila se apresentasse incolor,

resultando na fração acetato de etila. Por fim, a fase hidroalcoólica remanescente foi utilizada para a obtenção da fração butanólica usando como solvente o butanol. Posteriormente, as frações foram concentradas em evaporador rotativo. As frações secas foram pesadas e foi feito o cálculo do rendimento final. As frações foram armazenadas em recipientes de vidro estéreis a 4°C até o momento de uso (Andrade *et al.*, 2005). Neste estudo foi usado apenas a fração diclorometano que foi armazenada em recipiente de vidro estéril a 4°C até o momento de uso. As demais frações foram armazenadas para outros fins (Andrade *et al.*, 2005).

3.4. Tratamento dos animais

O tratamento dos animais foi realizado via oral diariamente com volume de 100 µL da fração, de acordo com grupo pertencente (controle negativo, controle positivo, DCM 5, DCM 1, DCM 0,5). No grupo controle negativo foi administrado Água destilada; o grupo controle positivo foi tratado com indometacina ou dexametasona; os grupos DCM 5, DCM 1, DCM 0,5 foram tratados com fração diclorometano nas respectivas doses de 5 mg/kg, 1 mg/kg e 0,5 mg/kg.

3.5. Edema de pata

Os animais foram previamente anestesiados para indução do edema de pata segundo Winter *et al.* (1962). Foi induzido 50 µL de carragenina na região subplantar da pata traseira esquerda dos camundongos 1h após o tratamento oral com 100 µL da fração (0,5, 1 ou 5 mg/kg) ou de indometacina (10 mg/kg). O grupo controle recebeu somente 100 µL de água destilada. Durante um período de 4h da injeção da carragenina ocorreu a medição do edema de hora em hora com utilização de pletismômetro. Os dados foram expressos em percentagens depois de calcular o índice de edema.

3.6. Granuloma

O método de granuloma de corpo estranho segundo Swingle e Shideman (1972) com algumas modificações foi utilizado para indução da inflamação crônica. Os animais foram anestesiados com uma solução de (2: 1 v / v) de 2% de xilazina (Rompum®, 20 mg / kg) e 5% de cloridrato de cetamina (Vetanarcol®, 25 mg / kg) por via intramuscular (im) e então uma pequena incisão foi feita na região dorsal para introdução de um pellet de algodão esterilizado previamente pesado. Os animais

foram tratados oralmente com 100 μ L da fração diclorometano, dexametasona (2 mg/kg) ou água destilada durante 17 dias consecutivos. No 18º dia após o implante, os algodões foram cirurgicamente removidos e pesados para obtenção do peso úmido. Posteriormente, os algodões foram secados a uma temperatura de 37°C por 48h e novamente pesados, dessa vez para obtenção do peso seco. O peso granuloma foi calculado utilizando a seguinte fórmula: peso granuloma (úmido ou seco) = PF - PI, onde PF é o peso final e PI é o peso inicial do pellet de algodão.

3.7. Órgãos linfoides e número de células

Após os tratamentos os animais foram eutanasiados e os órgãos linfoides (baço, linfonodo inguinal e medula óssea) foram cirurgicamente retirados para pesagem e avaliação da celularidade. As células foram contadas utilizando microscópio óptico e hemocítômetro.

3.8 Dosagem de citocinas

No momento da eutanásia, os animais foram anestesiados e o soro sanguíneo foi removido para a dosagem de citocinas. A técnica usada foi “Cytometric beads array” CBA (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) seguindo as orientações do fabricante. Em uma placa de cultura de 96 poços, 25 μ L da amostra padrão fornecida pelo fabricante ou do soro dos animais foram colocados em respectivos poços e, em seguida, 25 μ L do mix de esferas recobertas com anticorpos específicos e 25 μ L de anticorpo conjugado a ficoeritrina (PE). A placa foi incubada à temperatura ambiente por 3 horas protegida da luz. Após o período de incubação, as amostras foram ressuspensas com 100 μ L do tampão de lavagem e centrifugada à 200 g por 5 minutos. O sobrenadante foi então descartado e os conjugados foram ressuspensas em 120 μ L de solução tampão para leitura no citômetro de fluxo FACScalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

3.9. Estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (S.E.M). A análise estatística foi feita por ANOVA seguida do teste Dunnet ou teste t de Student, sendo o nível de significância $<0,05$.

3 RESULTADOS

4.1. Efeito da fração diclorometano sobre o edema de pata

O tratamento com 100 μ L por via oral da fração diclorometano nas doses de 5 mg/kg e 0,5 mg/kg apresentaram melhores resultados quanto a inibição do desenvolvimento do edema de pata às 3 horas, após indução, em comparação com o grupo controle. O grupo DCM 1 também mostrou redução do edema somente às 3 horas, porém, menor que os grupo DCM 5 e DCM 0.5 (Figuras 1 e 2).

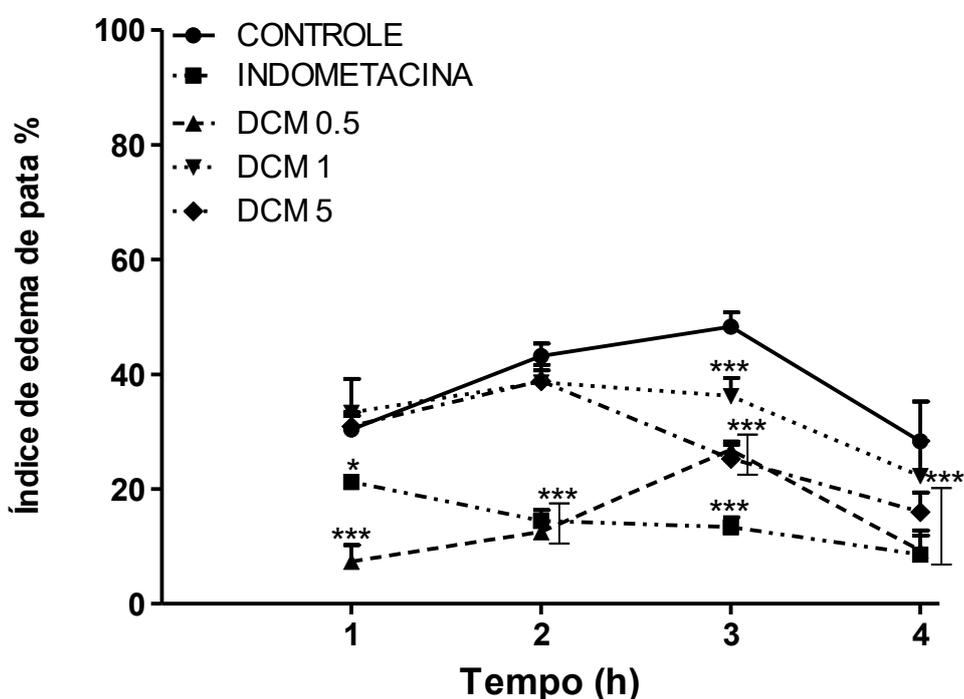


Figura 1. Efeito do tratamento com a fração diclorometano no edema de pata induzido por carragenina. Animais foram tratados com 100 μ L por via oral nas doses de 5 mg/kg (DCM 5), 1 mg/kg (DCM 1) e 0,5 (DCM 0.5) mg/kg 1 hora antes da indução do edema. As patas foram medidas com pletismômetro nos tempos 0, 1, 2, 3 e 4 horas após a indução. Os dados representam a média \pm erro padrão da média de 5 animais/grupo. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ e *** $p \leq 0.001$ em relação ao controle.

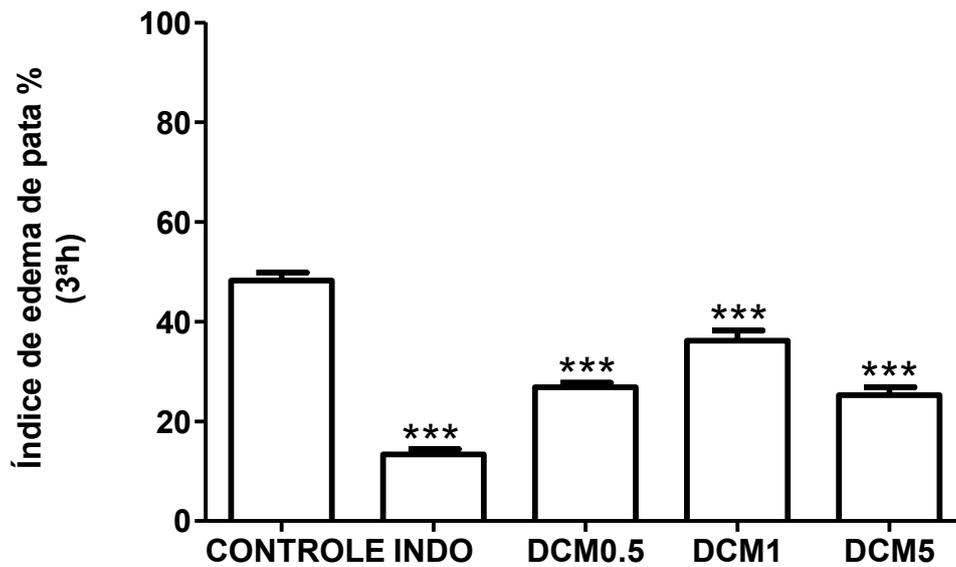
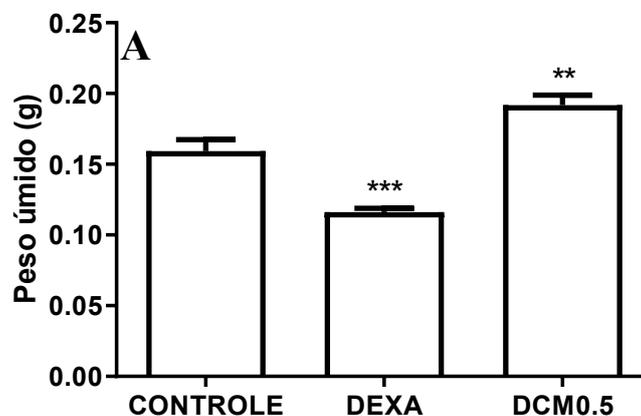


Figura 2. Índice de edema de pata na 3ª hora dos grupos de tratamento com a fração diclorometano. Animais foram tratados com 100 µL por via oral nas doses de 5 mg/kg (DCM 5), 1 mg/kg (DCM 1) e 0,5 (DCM 0.5) mg/kg 1 hora antes da indução do edema. O índice foi avaliado com base na 3ª hora após indução, as patas foram medidas com pletismômetro. Os dados representam a média ± erro padrão da média de 5 animais/grupo. ***p ≤ 0.001 em relação ao controle.

4.2. Efeito da fração diclorometano sobre o granuloma

O tratamento com 100 µL por via oral da fração diclorometano na dose de 0,5 mg/kg (DCM 0.5) apresentou aumento apenas no peso úmido do granuloma quando comparado ao grupo controle, diferentemente ao observado no grupo Dexa que conseguiu diminuir tanto o peso úmido quanto o peso seco (Figura 3A e B).



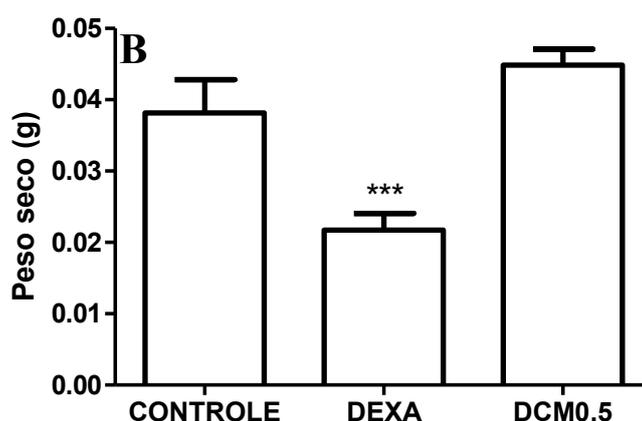


Figura 3. Efeito do tratamento da fração diclorometano sobre a formação de granuloma. Animais foram tratados com 100 μ L por via oral na dose de 0,5 mg/kg. Após 17 dias de tratamento foram sacrificados e as pelotas de algodão foram retiradas e pesadas para obtenção do peso úmido (A) e do peso seco (B). Os dados representam a média \pm erro padrão da média de cinco animais/grupo. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ e *** $p \leq 0.001$ em relação ao controle.

4.3. Efeito da fração diclorometano sobre os órgãos linfoides

A análise dos órgãos linfoides (Tabela 1) mostrou que os animais tratados com a fração diclorometano na dose de 0,5 mg/kg apresentaram aumento no peso do baço. No entanto, o peso do linfonodo inguinal não sofreu aumento em relação ao controle. Já a análise da celularidade dos animais tratados com a fração DCM 0.5 revelou um número de células do baço e do linfonodo inguinal menor que o grupo controle. O número de células da medula aumento de forma significativa em relação ao grupo controle.

Tabela 1. Efeito do tratamento da fração diclorometano sobre a celularidade e o peso dos órgãos linfoides.

Parâmetros analisados	Grupos		
	CONTROLE	DEXA	DCM 0.5
Peso			
Varição Ponderal (%)	12,48 \pm 2,08	- 7,14 \pm 2,43***	12,99 \pm 2,47
Baço (g)	0,1357 \pm 0,009	0,0676 \pm 0,001*	0,1472 \pm 0,013***
Linfonodo Inguinal (g)	0,0061 \pm 0,0005	0,0027 \pm	0,0048 \pm 0,0004

0,003***			
Número de Células Totais			
Baço (x10⁷)	20,37 ± 0,63	5,38 ± 1,20***	16,55 ± 1,12*
Linfonodo Inguinal (x10⁶)	17,40 ± 3,45	26,67 ± 2,70	13,85 ± 2,26
Medula Óssea (x10⁶)	4,49 ± 0,17	5,27 ± 0,26*	6,20 ± 0,24***

Animais foram tratados com 100µL por via oral na dose de 0,5 mg/kg. Após os tratamentos os animais foram eutanasiados e os órgãos linfoides foram retirados para pesagem e avaliação da celularidade. *p ≤ 0.05, **p ≤ 0.01 e ***p ≤ 0.001 em relação ao controle.

4.4. Efeito da fração diclorometano sobre a produção de citocinas

O tratamento com a fração diclorometano na dose de 0,5 mg/kg não mostrou diferença quanto a produção de IL-2. IL-4 apresentou um leve aumento de produção, enquanto IL-6 e TNF-α pareceram estarem inibidas, porém ainda nada significativo. Houve um acentuado aumento na produção de IFN-γ no grupo tratado com a fração diclorometano, assim como que IL-10 e IL-17, porém de forma significativa no grupo DCM 0.5 (Tabela 2).

Tabela 2. Efeitos do tratamento oral com a fração diclorometano sobre a produção e liberação de citocinas.

Citocinas (pg/mL)	Grupos		
	CONTROLE	DEXA	DCM 0.5
IL-2	0,01 ± 0,006	0,40 ± 0,266	0,04 ± 0,031
IL-4	0,03 ± 0,019	0,45 ± 0,244	0,11 ± 0,073
IL-10	0,00 ± 0,00	3,093 ± 2,025	10,84 ± 4,17*
IL-6	22,12 ± 6,35	25,79 ± 6,65	17,28 ± 2,87
IL-17	0,347 ± 0,227	0,52 ± 0,189	1,98 ± 0,401**
INF-γ	0,617 ± 0,237	0,542 ± 0,161	1,198 ± 0,614
TNF-α	12,31 ± 4,82	7,70 ± 2,93	5,57 ± 2,33

Animais foram tratados, via oral, com 5mg/kg por 17 dias. No 18º dia foi obtido soro dos animais para a determinação da liberação de citocinas IL-4, IL-6, IL-17, TNF-α, IFN-γ, IL-2 e IL-10. Os dados representam a média ± erro padrão da média de 5 animais/grupo em relação ao grupo controle. *p ≤ 0.05, **p ≤ 0.01 e ***p ≤ 0.001 em relação ao controle.

5. DISCUSSÃO

A fração diclorometano das folhas de *D. ambrosioides* foi utilizada no tratamento da inflamação por via oral em três doses diferentes, sendo elas 5mg/kg, 1mg/kg ou 0,5 mg/kg e os mecanismos que estão envolvidos nesse processo foram desenvolvidos em modelo que simula uma inflamação, primariamente aguda, o modelo de edema de pata induzido por carragenina (WINTER *et al.*, 1962), para determinação de dose bioativa. Segundo Coelho (2004), sobre inflamação, o líquido que se acumula no espaço intersticial é denominado edema e para que o mesmo ocorra, os mecanismos que controlam o volume do líquido neste espaço devem ser quebrados. Este modelo reproduz a fase inicial do processo inflamatório (fase aguda), revelando o desenvolvimento do edema, uma exacerbação da sensibilidade à dor (Hiperalgisia), além de vermelhidão da pele devido à vasodilatação dos capilares cutâneos (Eritema) (MCCARSON, 2015). Esse procedimento apresenta duas fases principais. Sendo a primeira caracterizada pela liberação de histamina, leucotrieno, cinina e ciclooxigenase, após administração pela carragenina, e a segunda fase e mais tardia, relacionada a produção de prostaglandinas, bradicinina e infiltração principalmente de neutrófilos (VINEGAR *et al.*, 1987). Após a indução, de acordo com Sartori (2003), mediado por prostaglandinas, o processo inflamatório no modelo de edema de pata desencadeado por carragenina apresenta o pico máximo de inflamação entre a segunda ou quarta hora após a aplicação.

Podemos perceber nesta investigação que as doses de 5 e 0,5 mg/kg apresentaram efeito anti-edematogênico mais significativo, embora todas as doses tenham mostrado redução do edema. Este dado sugere que a fração diclorometano inibiu a síntese ou a ação de um ou mais mediadores responsáveis pela formação do edema. Esse efeito pode estar relacionado aos metabólitos secundários, que são constituintes químicos que fazem parte da composição da planta e que podem interferir diretamente na via COX que é responsável pela produção de eicosanoides. Os Eicosanoides são mediadores inflamatórios como por exemplo, as prostaglandinas e tromboxanos. Os mesmos são resultado da transformação de ácido araquidônico pelas enzimas da via ciclo-oxigenase influenciada por certos estímulos inflamatórios, ocorrendo por meio de uma cascata bioquímica. Logo, é notório perceber que a via COX é um importante alvo clínico do processo inflamatório. A redução do edema é um passo necessário para o entendimento da reversão da inflamação pelo produto

testado, já que o tumor é um dos sinais cardinais em comum entre todas as inflamações (CLARIA, 2003; KHANAPURE *et al.*, 2007). Ao inibir as isoenzimas e os eicosanóides, a regulação normal dos órgãos é afetada, induzindo alterações funcionais. Devido à alta prevalência do uso de AINE, são evidenciadas disfunções cerebrovasculares, renais, hepáticas, cardiovasculares e trombóticas, gastrintestinais, gestacionais e fetais. Os agentes pró-inflamatórios como as histaminas, além das prostaglandinas já citadas, são responsáveis pelos sinais clínicos no sítio da injeção. Essa ferramenta revela-se como um método excelente para o entendimento do funcionamento da inflamação, percebendo os mediadores responsáveis e auxiliando na busca de agentes anti-inflamatórios (MORRIS, 2003; VAZQUEZ *et al.*, 2015).

Este modelo de inflamação já foi utilizado em outros trabalhos da literatura de modo semelhante, mas com extratos brutos de outras espécies vegetais como o trabalho de Melo (2009) com as sementes de *Cratylia mollis* ou o trabalho de Sartori *et al* (2003) com *Calendula officinalis* L. e *Matricaria recutita* L. Temos também trabalhos com *Vernonia scorpioides (lam) Persons* realizado por Dreux *et al.*, (2018), *Eclipta alba* por Santos *et al.*, (2017) que possuem constituintes químicos semelhantes aos da *D. ambrosioides* como alcaloides, saponinas, flavonoides e triterpenoides e obtiveram um efeito anti-edematogênico. Há descrito estudos com óleos essenciais, como por exemplo o óleo da casca de *Duguetia lanceolata* e também com folhas *Piper glabratum* com os mesmos resultados (SOUSA *et al.*, 2004; BRANQUINHO; 2016; IWAMOTO *et al.*, 2015). É relatado a presença no óleo essencial terpenos, de acordo com Jardim *et al.* (2008), o que lhe confere efeito anti-inflamatório e analgésico (IBIRONKE e AJIBOYE, 2007). Em alguns estudos com a fração diclorometano no modelo experimental de edema de pata em outras espécies vegetais como *Trifolium pratense* L e *Punica granatum*, é notório perceber que a fração diclorometano afeta diretamente na inibição da via ciclo-oxigenase revelando um efeito antitumoral (MORAES, *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2014). Os dados mostrados aqui nesta investigação também estão de acordo com outros estudos com *D. ambrosioides* no quesito efeito anti-edematogênico. (IBIRONKE; AJIBOYE, 2007; PEREIRA, 2009; 2014; TRIVELLATOGRASSI *et al.*, 2013). E diante do exposto, a dose de 0,5 mg/kg por apresentar mesmo efeito observado com a dose de 5 mg/kg foi escolhida como dose alvo de investigação nos demais testes de investigação.

Desta forma, neste estudo foi utilizado o modelo inflamatório de característica

crônica, modelo de granuloma por corpo estranho, que é um clássico modelo que simula uma inflamação, tendo por duração sete dias ou mais (SWINGLE; SHIDEMAN, 1972). O granuloma se caracteriza pelo conjunto de células inflamatórias, principalmente macrófagos e linfócitos em resposta a mediadores químicos, que por conta da resposta persistente da inflamação formam um tecido que cercam o corpo estranho, estas células acabam por formar uma camada fibrosa isolante (SHAH; PRITT; ALEXANDER, 2017; CHENSUE *et al.*, 1995; KUNKEL *et al.*, 1996). Segundo Batista *et al.*, (2012), o modelo de indução de granuloma por corpo estranho possibilita a análise de fatores importantes nas várias fases da inflamação como, por exemplo, o aumento da vasodilatação e permeabilidade vascular, e a participação celular.

Ocorrendo nas 3 primeiras horas após a indução da inflamação por corpo estranho, Swingle, Shidman (1972) descreveram que neste modelo há uma marca inicial da inflamação, denominado fase transudativa, caracterizada pelo extravasamento do líquido dos vasos do entorno do implante de algodão, sendo uma fase passiva. Partindo deste ponto até o terceiro dia, o exsudado inflamatório que é rico em proteínas e poucas células (principalmente neutrófilos) começam a ser produzidos, e no quarto ao sexto dia em diante acontece a implantação na superfície do implante do tecido granulomatoso que é rico em células inflamatórias, esta é denominada a fase proliferativa. Com a persistência do corpo estranho acontece a consolidação do granuloma que ao final do experimento o tecido pode ser avaliado através do peso das pelotas de algodão (HICKS, 1969; HISAMUDDIN *et al.*, 2019).

O peso seco tem por finalidade mensurar o peso de células que migraram para o foco da inflamação, enquanto que o peso úmido dos implantes revela o peso do infiltrado celular com os fluídos que durante o processo inflamatório foram transferidos ao algodão. O delta entre os dois pesos (úmido + seco) é uma medida de análise muito importante para a avaliação do edema e também da permeabilidade vascular (SWINGLE; SHIDEMAN, 1972). Podemos observar no que diz respeito ao peso das células presentes no granuloma em comparação ao grupo controle que depois do 17º dia de tratamento oral na dose de 0,5 mg/kg da fração diclorometano, não houveram mudanças no peso das células em relação ao grupo controle. Esse efeito difere dos resultados Ibronke e Ajiboye (2007) e Grassi *et al.*, (2003) que usaram o modelo de granuloma por corpo estranho com *Chenopodium ambrosioides* e obtiveram um efeito anti-inflamatório crônico, porém em doses bem maiores e de extratos brutos. Assim como a uma análise semelhante feita com a dose de 5 mg/kg do EBH de *D.*

ambrosioides realizado por Pereira (2009), que demonstrou efeito inibitório na formação do granuloma. Esses resultados podem estar relacionados com a presença de flavonoides e terpenos no extrato, mas que na dose de 0,5 mg/kg a concentração desses constituintes não foram suficientes para inibir tão quanto ao observado na literatura para extratos brutos. Logo, podemos afirmar que a dose utilizada não conseguiu inibir o desenvolvimento do granuloma nos animais testados, mas é necessário pautar que a escolha da dose de 0,5 mg/kg para o tratamento dos animais deve-se ao fato de que as práticas recomendadas para estudos de plantas medicinais, alinhada com as diretrizes da Organização Mundial da Saúde sobre pesquisas com produtos naturais, devem ser feitas com doses moderadas por medidas de segurança.

Os estudos pré-clínicos de toxicidade de produtos candidatos a fitoterápicos são regulamentados pela Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Essas organizações estabelecem diretrizes para estudos toxicológicos (OECDa, 2008; OECDb, 2008; ANVISA, 2013), além disso se tem uma densidade maior na fração de determinados constituintes químicos com efeito anti-inflamatório. Também foi investigado nesse estudo o efeito da fração diclorometano sobre os órgãos linfoides retirando – os e analisando parâmetros como viabilidade de células, peso e dosagem de citocinas por meio da obtenção do soro. Diversos trabalhos na literatura demonstram que a inflamação, por ser um mecanismo patofisiológico, tem relação direta com o aumento do peso do baço (MCKENZIE *et al.*, 2018). Neste trabalho embora o peso do linfonodo inguinal tenha permanecido inalterado, na dose de 0,5 mg/kg os animais tratados com a fração diclorometano apresentaram aumento no peso do baço, que pode ser justificado pelo aumento de atividades imunológicas em decorrência do processo granulomatoso. Essa constatação corrobora com os dados já apresentados e fortalece a ideia de que a dose de 0,5 mg/kg com a fração diclorometano no tratamento dos animais não teve efeito inibitório do granuloma.

No que diz respeito ao número de células é importante frisar que em um processo inflamatório há a estimulação do aumento da atividade hematopoiética, que nada mais é do que novos componentes celulares da linhagem mielóide e linfóide sendo produzidos (MIRANTES; PASSEGUÉ; PIETRAS, 2014; TAKIZAWA; MANZ, 2017). Quando verificado o número de células neste presente trabalho é notório perceber uma grande quantidade de células da medula óssea, um indicativo que houve aumento no processo de hematopoese. Era esperado um aumento significativo

no número de células do baço e do linfonodo, porém quando analisados em contraste com o aumento da atividade hematopoiética, percebe-se uma baixa quantidade de células nos órgãos analisados. No trabalho de Cruz et al., (2007) com EBH de *D. ambrosioides* via intraperitoneal em ratos demonstra que houve aumento do número de células nas cavidades peritoneal, baço e linfonodos. A estimulação que a fração tem sobre o aumento na produção de células da medula óssea é um indicativo de que de fato ocorreu uma inflamação pois a mesma é um processo que estimula o aumento da atividade hematopoiética, o baixo número de células no baço e linfonodo representa um ponto divergente, que poderia ser explicado por exemplo pelo não aumento da atividade dos macrófagos, o que elevaria a capacidade fagocitária e produção de óxido nítrico, além do não recrutamento celular para os órgãos linfoides secundários, o que poderia gerar atividade antitumoral como no trabalho de Cruz et al.; (2007). Logo, acredita-se que a fração diclorometano não possui efeito sistêmico.

Na tentativa de conter ou eliminar o corpo estranho, células como neutrófilos e macrófagos são recrutados para o sítio da inflamação através de mediadores químicos como por exemplo as citocinas (MCINNES, 2017; TURNER *et al.*, 2014). Citocinas são proteínas solúveis, de baixo peso molecular, secretadas pelos leucócitos e outras células do organismo, principalmente em resposta a estímulos antigênicos, que atuam como mensageiros do sistema imune. As mesmas são responsáveis por controlar diversos aspectos da resposta imunológica, isso porque possuem ação pleiotrópica, participando desde o desenvolvimento celular até a produção de outras citocinas. As citocinas podem receber denominações específicas que se referem ao tipo celular que predominantemente as sintetizam e aos seus mecanismos de ação como por exemplo as citocinas com função de controlar o tráfego basal e inflamatório de leucócitos por meio de quimiotaxia são chamadas de quimiocinas, ou seja, citocinas quimiotáticas. Existem inúmeras citocinas que estão envolvidas no processo inflamatório, como por exemplo IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α e IFN- γ (O'SHEA; GADINA; SIEGEL, 2019).

Quando analisadas as citocinas deste experimento foi possível perceber que houve um aumento de IFN- γ , IL-10 e IL-17 no grupo tratado com a fração diclorometano. Por outro lado, no que diz respeito a um outro grupo de citocinas que possui diversas funções dentro da resposta imune, como por exemplo IL-2, IL-4, IL-6 e TNF- α não houveram alterações. Essas proteínas são majoritariamente expressadas por células T e macrófagos e tem entre as funções exercidas o auxílio

na ativação, diferenciação e proliferação de outras células do sistema imune como as células B, fagócitos e células T auxiliares, (MCINNES, 2017; TURNER *et al.*, 2014). Esses resultados nos levam a acreditar que possivelmente os constituintes químicos da planta atuem em alvos específicos da via inflamatória. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos como no de Trivellato-grassi *et al.* (2013), onde percebe-se a inibição de TNF- α pelo extrato de *D. ambrosioides*. Segundo Pereira (2009; 2014) o EBH do mastruz inibe a produção de citocinas com perfil pró-inflamatório, como TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, as mesmas citocinas inalteradas em nossa pesquisa. Citocinas que agem em outros leucócitos são denominadas interleucinas (IL). As IL estão envolvidas na resposta e na apresentação de antígenos, principalmente pelos linfócitos T auxiliares. Citocinas IL-2 participam da estimulação do crescimento e a proliferação de linfócitos-T e células-B, além de induzir a produção de outras citocinas, como, por exemplo, IFN γ que participam na ativação de monócitos, neutrófilos e células matadoras naturais contribuindo para a geração e a propagação de respostas imunológicas específicas do antígeno. Citocinas IL-4 atuam sobre macrófagos ativados, reduzindo os efeitos das citocinas IL-1, FNT α , IL-6 e IL-8, e inibindo a produção de radicais livres de oxigênio, já as citocinas IL-6 são pró-inflamatórias e promovem maturação e ativação de neutrófilos, maturação de macrófagos e diferenciação/manutenção de linfócitos-T citotóxicos e células matadoras naturais além de também exercer propriedades anti-inflamatórias durante a lesão (CURFS *et al.*, 1997; LIN *et al.*, 2000; RAEBURN *et al.*, 2002; SOMMER *et al.*, 2010).

Em contrapartida, embora parte dos mediadores pró-inflamatórios tenha sido inibido no tratamento com a fração diclorometano, importantes citocinas como IL-17 e IFN- γ tiveram seus níveis elevados, o que nos coloca em um paradoxo, uma vez que outros trabalhos já descritos na literatura comprovaram que *D. ambrosioides* tem ação inibitória das duas citocinas (BRUIN; VOERMANS; NOLTE, 2014; KUWABARA *et al.*, 2017; MIOSSEC; KORN; KUCHROO, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2005; PEREIRA, 2009; 2014) O IFN- γ é uma citocina secretada por células T ativadas e células NK que estimulam genes, empregando moléculas de sinalização e atuam em quase todos os tipos de células e por meio de suas ações celulares podem ser eficazes na inibição e progressão de tumores e na indução de sua regressão. Suas funções podem explicar o aumento da citocina IFN- γ diante do granuloma por corpo estranho neste experimento, uma vez que outros trabalhos usavam uma dose maior, logo, é possível

que a dose 0,5 mg/kg não tenha efeito inibitório sobre essa citocina em específico. Além das funções citadas, a mesma regula positivamente uma variedade de parâmetros pró-inflamatórios tais como interleucina (IL) -12, IL-15 e TNF α . (WIDOWATI *et al.*, 2016)

Analisando especificamente a citocina IL-10, um importante mediador do perfil anti-inflamatório, que age em sinergia com outras citocinas de células T auxiliares evitando uma expressão exagerada de citocinas pró-inflamatórias, pode-se perceber que os valores estão de acordo em comparação com dados de pesquisas prévias. (COUPER; BLOUNT; RILEY, 2008). Embora exista a possibilidade da fração diclorometano induzir uma elevação no número de citocinas IL-10, tendo em vista a gama de eventos em que essa citocina é participante, torna incerto o efeito da fração sobre essa citocina em específico (PEREIRA, 2009). Já a IL-17 é uma glicoproteína pró-inflamatória, que leva à formação de IL-6, que tem por finalidade maturação, ativação, diferenciação/manutenção de uma gama de células. Além disso, citocinas IL-17 levam a formação da molécula de adesão intercelular em fibroblastos humanos (ZHANG *et al.*, 2007).

Como já descrito, *D. ambrosioides* possui inúmeros constituintes químicos que podem atuar como indutores da resposta inflamatória como saponinas (KOKANOVA-NEDIALKOVA *et al.*, 2009), flavonoides (SÁ *et al.*, 2015), e monoterpenos como ascaridol, α -terpineno e p-cimeno. (MONZOTE *et al.*, 2011; PAVELA *et al.*, 2017; SÁ *et al.*, 2015). O ascaridol possui propriedade antiparasitária, antimalárica, antifúngica, hipotensora, relaxante muscular, estimulante respiratório, depressora cardíaca, antibacteriana, analgésica e anti-tumoral, o que pode reforçar o efeito antiedematogênico no modelo de inflamação aguda, que pode ser confirmado por Effort *et al.*, (2002) que em análises *in vitro* conseguiu evidenciar que o ascaridol apresenta atividade anti-tumoral. Extratos metanólicos das folhas de *C. ambrosioides* L. administrados via oral em ratos evidenciaram diminuição do edema de pata mostrando que o ascaridol presente na planta possui a capacidade de reduzir estados inflamatórios (IBIRONKE e AJIBOYE, 2007).

Diante dos dados encontrados acreditamos que a ação anti-inflamatória dessa planta é resultado da funcionalidade dos constituintes químicos da mesma.

6. CONCLUSÃO

Podemos concluir através dos resultados aqui apresentados que a fração diclorometano em relação a inflamação aguda e crônica tem uma ação mais acentuada na fase aguda, já que diante da fase crônica os resultados não foram satisfatórios em relação a menor dose apresentada, sendo assim antiedematogênica. Então, na busca de tratamentos mais efetivos julgamos de extrema importância a realização de novas pesquisas que tenham por finalidade testar outras doses da fração. Este trabalho agregou valores ao campo de estudos dos produtos naturais e auxiliou na validação do uso popular dessa espécie.

REFERÊNCIAS

ABBAS A. K.; LICHTMAN A.H; PILLAI S. **Imunologia celular e molecular**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia Celular e Molecular** Rio de Janeiro: Elsevier, 7ª edição, 2012.

ABRAHAMSOHN, Paulo Alexandre. **Módulo 4 - Tecido Conjuntivo - Células Residentes: macrófago**. 2008. Disponível em <<http://www.icb.usp.br/mol/4-17macrofago1.html>>. Acesso em 11/11/2020

AGRA, M. F. *et al.* Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, n. 3, p.472-508. 2008.

ALMEIDA, R. O.; KRYCHAK-FURTADO, S.; RICHTER, E. M.; OLIVEIRA, C. N. G.; CERDEIRO, A. P. S.; SCHAFHAUSER, E. 2009. **Avaliação da Atividade Anti-helmíntica do *Chenopodium ambrosioides* contra *Trichostrongylideos* de Ruminantes**. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 4 (2): 1507- 1510.

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina - bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires, Argentina: ISIS Ediciones S. R. L.: 350-354 p. 1998.

ANDRADE, C. A. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don Leguminosae-Mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 13-15, 2005

ANVISA. **Guia para condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. Brasília 2013.

ARNOUS, A. H., SANTOS, A. S., BEINNER, R. P. C. **Plantas medicinais de uso caseiro-conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário**. *Revista espaço para a Saúde*, v. 6, n. 2, p. 1-6, 2005.

ASHLEY, N. T.; WEIL, Z. M.; NELSON, R. J. Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation. **Annual Review Of Ecology, Evolution, And Systematics**. v. 43, n. 1, p.385-406. 2012.

AZAB, A.; NASSAR, A.; AZAB, A. Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. **Molecules**. v. 21, n. 10, p.1-19. 2016.

BARBOSA, Flávia Silva et al. Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 37-43, 2011.

BATISTA, Valbert Alves et al. **EFEITO DO TRATAMENTO COM NIMESULIDA SOBRE A INFLAMAÇÃO GRANULOMATOSA EM CAMUNDONGOS**. Revista de Ciências da Saúde, 2012.

BEZERRA, J. L., COSTA, G. C., LOPES, T. C., CARVALHO, I. C. D. S., PATRÍCIO, F. J., SOUSA, S. M., AMARAL, F. M. M., REBELO, J. M. M., GUERRA, R. N. M., RIBEIRO, M. N. S., NASCIMENTO, F. R. F. **Avaliação da atividade leishmanicida in vitro de plantas medicinais**. Rev. Brasil. Farmacog. 16: 631-637, 2006.

BORBA, H. R. et al. Ação anti-helmíntica de plantas XIV Avaliação da atividade de extratos aquosos de *Chenopodium ambrosioides* L.(Erva-de-Santa-Maria) em camundongos naturalmente infectados com *Syphacia obvelata* e *Aspicularis tetraptera*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet**, v. 13, n. 4, p. 133-136, 2004.

BRANQUINHO, Lidiane Schultz et al. **Avaliação da toxicidade e da atividade anti inflamatória do óleo essencial das folhas de *Piper glabratum* em camundongos**. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006

BRASIL, RENISUS. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. **portal. saúde. gov. br/portal/arquivos/pdf/RENISUS**, 2009.

BRITO, Marcus Vinicius Henriques; CARVALHO, Daniel da Silva; ALBUQUERQUE, Ana M. Morais. Efeito do extrato de mastruz em culturas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Paraense de Medicina**, v. 21, n. 1, p. 21-25, 2007.

BRODY TM. “Inflamação”. In: *Farmacologia Humana: da Molecular à Clínica*, 2ª Ed., Guanabara Koogan, 1997.

BRUIN, A. M.; VOERMANS, C.; NOLTE, M. A. Impact of interferon- γ on hematopoiesis. **Blood**. v. 124, n. 16, p.2479-2486. 2014.

BRUNTON, Laurence L.; LAZO, John S .; PARKER, Keith L. Goodman e Gilman. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11ª ed. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill Suteramericana do Brasil, 2006.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman-12**. AMGH Editora, 2012.

CAETANO, J. M.; MELO, P. C.; LIMA JÚNIOR, A. F.; DEVILLA, I. A. 2011. **Avaliação da eficiência dos extratos de *Chenopodium ambrosioides* (L.), *Sesamum indicum* (L.) e *Capsicum sp.* (L.) no controle do *Sitophilus sp.* em grãos de arroz orgânico armazenado**. Anais do IX Seminário de Iniciação Científica, VI Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação e Semana Nacional de Ciência e Tecnologia, 1-5.

CALADO G. P, LOPES AJO, JUNIOR LMC, LIMA FCA, SILVA LAS, PEREIRA WS, AMARAL FMM, GARCIA JBS, CARTÁGENES MSS, NASCIMENTO FRF. ***Chenopodium ambrosioides* L. Reduces Synovial Inflammation and Pain in Experimental Osteoarthritis**. Plos One, [s.l.], v. 10, n. 11, p.1-20, 2 nov.. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0141886>. 2015

CARLBERG, C.; ULVEN, S.M.; MOLNÁR, F. **Chronic inflammation and metabolic stress nutrigenomics**. Springer, Heidelberg, pp 121–137, 2016

CARVALHO, L. M.; CARNELOSSI, M. A. G. Efeitos alelopáticos do extrato aquoso de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) na germinação do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 7, n. 2, p. 92-95, 2005.

CHAO, W. W.; CHUNG, Y. C.; SHIH, I. P.; WANG, H. Y.; CHOU, S. T.; HSU, C. K. **Red Bean Extract Inhibits Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and H₂O₂-Induced Oxidative Stress in RAW 264.7 Macrophages**. *Journal of Medicinal Food*. p. 1–7, 2015.

CHEN, L. *et al.* Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget**. v. 9, n. 6, p.7204-7218. 2017.

CHENSUE, S.W , WARMINGTON, K.S., RUTH, J.H. et al. **Cytokine function during mycobacterial and schistosomal antigen-induced pulmonary granuloma formation**. Local and regional participation of IFN-gamma, IL-10, and TNF. *J Immunol* 154:5969–5976, 1995.

CHEVALLIER, A. **The encyclopedia of medicinal plants**. New York: A D K Publishing Book, 1996.

CHU, Sha Sha; FENG HU, Jin; LIU, Zhi Long. Composição do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* chinês e atividade inseticida contra o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*. **Pest Management Science** , v. 67, n. 6, pág. 714-718, 2011.

CLARIA, J. Cyclooxygenase-2 Biology. **Current Pharmaceutical Design**. v. 9, n. 27, p.2177-2190. 2003.

COELHO, Eduardo Barbosa. Mecanismos de formação de edemas. **Medicina (Ribeirão Preto. Online)**, v. 37, n. 3/4, p. 189-198, 2004.

CONTRAN Ramzi S, KUMAR Vinay, ROBBINS Stanley L, SCHOEN Frederickk. **Robbins patologia estrutural e funcional**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c1997. P.15 e 469.

COUPER, K. N.; BLOUNT, D. G.; RILEY, E. M. IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. **The Journal Of Immunology**. v. 180, n. 9, p.5771-5777. 2008

COIMBRA BI, PASTOR EH, GREVE JMD, PUCCINELI MLC, FULLER R, CAVALCANTI FS. **Brazilian consensus for the treatment of osteoarthritis**. *Rev. Bras. Reumatol*. V. 42, 2002.

CRUVINEL, W. D. M., Mesquita Júnior, D., Araújo, J. A. P., Catelan, T. T. T., Souza, A.W. S. D., Silva, N. P. D., & Andrade, L. E. C. **Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos**

da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Revista Brasileira de Reumatologia* , 2010

CRUZ, G.V.B., PEREIRA, P.V.S., PATRÍCIO, F.J., COSTA, G.C., SOUSA, S.M., FRAZÃO, J.B., ARAGÃO-FILHO, W.C., MACIEL, M.C.G., SILVA, L.A., AMARAL, F.M.M., BARROQUEIRO, E.S.B., GUERRA, R.N.M., NASCIMENTO, F.R.F., 2007. **Increase of cellular recruitment, phagocytosis ability and nitric oxide production induced by hydroalcoholic extract from *Chenopodium ambrosioides* leaves.** *Journal of Ethnopharmacology*. 111, 148-154.

CURFS JH, MEIS JF, HOOBKAMP-KORSTANJE JA – **A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers.** *Clin Microbiol Rev*, 1997;10:742-780. 05.

DA SILVA, Dimitre Luz Felipe et al. **POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DAS FOLHAS DE *Chenopodium ambrosioides* L. NO MODELO DE CISTITE HEMORRÁGICA EM CAMUNDONGOS.** *Revista de Ciências da Saúde*, v. 17, n. 1, p. 25-32, 2015.

DAMTE, D. *et al.* Anti-inflammatory Activity of Dichloromethane Extract of *Auricularia auricula-judae* in RAW264.7 Cells. **Toxicological Research**. v. 27, n. 1, p.11-14, 1. 2011.

DEKKER, L. V.; SEGAL, A. W. **Signals to move cells.** *Science*, v. 287, n. 11, p. 982-984, 2000.

DELESPAUL Q, DE BILLERBECK VG, ROQUES CG, MICHEL G. **The antifungal activity of oils as determinate by different screening methods.** *J Essent Oil Res*; (12): 256-266, 2000.

DHINGRA, Katie; BODUSZEK, Daniel; O'CONNOR, Rory C. Diferenciando tentativas de suicídio de ideadores de suicídio usando o modelo integrado Motivacional-Volitional de comportamento suicida. **Jornal de transtornos afetivos** , v. 186, p. 211-218, 2015.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica.** 2. ed. São Paulo: Editora UNESP, 604p. 2002.

DREUX, Elisa Celeste; JUNIOR, Antonio Carlos Prianti; RODRIGO ÁLVARO, B.2018

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE Vernonia scorpioides (lam) Persons EM EDEMA DE PATA EM RATOS.

DUARTE FR, **Enciclopédia de plantas brasileiras**. São Paulo : Três, 1998. v. 1.

DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, n. 7, 2006.

EFFORT, T.; OLBRICH, A.; SAUERBREY, A.; ROSS, D. D.; GEBHART, E.; NEUGEBAUER, M. **Activity of ascaridol from the anthelmintic herb Chenopodium anthelminticum L.** against sensitive and multidrug-resistant tumor cells. *Anticancer Research*. v. 22, p. 4221-4224, 2002.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia: na atenção primária à saúde**. Editora Manole Ltda, 2001.

EMING, S.A.; WYNN, T.A.; MARTIN, P. **Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration**. *Science*. 356 (6342):1026-1030, 2017. entadaphaseoloides seeds as paste and ointment. *N Am J Med Sci*. v;3(11):513-7, 2011.

FERREIRA, S. H. **Peripheral analgesic sites of action of anti-inflammatory drugs**. *International Journal of Clinical Practice*, n. 128, p. 2-10, 2002.

FRANÇA, F., LAGO, E. L., MARSDEN, P. D. **Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to Leishmania (Viannia) braziliensis in an endemic area of Bahia**. *Rev. Soc. Brasil. Med.Trop.* 29: 229-232, 1996.

FRANCESCHI, C.; CAMPISI, J. **Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases**. *J Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci* 69(Suppl 1):S4–S9, 2014

GARDEN, MOBOT-**Missouri Botanical**. Disponível em: <http://www.tropicos.org>.v. 3, 2017.

GARDI C et al. **Quercetin reduced inflammation and increased antioxidant**

defense in rat adjuvant arthritis. Arch Biochem Biophys 2015; 583: 150– 157.

GRASSI, LILIANE TRIVELLATO et al. **Chenopodium ambrosioides L. Erva de Santa Maria (amaranthaceae): estudo do potencial anti-inflamatório, antinociceptivo e cicatrizante.** 2011.

GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. M. *et al.* Anti-inflammatory activity of standardized dichloromethane extract of *Salvia connivens* on macrophages stimulated by LPS. **Pharmaceutical Biology.** v. 55, n. 1, p.1467-1472. 2017.

GOMES-LEAL, W. **Inflamação aguda, resposta Glial e degeneração axonal em um modelo de excitotoxicidade na medula espinhal.** 2002. 197 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Área de concentração em Neurociências) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2002.

HALEAGRAHARA N et al. **Therapeutic effect of quercetin in collagen-induced arthritis.** Biomed Pharmacother 2017; 90: 38–46.

HICKS, R. The evaluation of inflammation induced by material implanted subcutaneously in the rat. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology.** v. 21, n. 9, p.581-588. 1969.

HISAMUDDIN, N. *et al.* Anti-Edematogenic and Anti-Granuloma Activity of a Synthetic Curcuminoid Analog, 5-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3-hydroxy-1-(2-hydroxyphenyl)penta-2,4-dien-1-one, in Mouse Models of Inflammation. **Molecules,** v. 24, n. 14, p.1-14. 2019.

HMAMOUCHE, M., LAHLOU, M., AGOUMI, A. **Molluscicidal activity of some Moroccan medicinal plants.** Fitoter. 71: 308-314, 2000.

IBIRONKE, G. F.; AJIBOYE, K. I. Studies on the Anti-Inflammatory and Analgesic Properties of *Chenopodium Ambrosioides* Leaf Extract in Rats. **International Journal Of Pharmacology.** v. 3, n. 1, p.111-115. 2007.

INSUNZA, V., ABALLY, E., MACAYA, J. **Nematicidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of Xiphinema index.** Nematol. Medit. 29(1): 35-40, 2001.

IWAMOTO, L. H. *et al.* Anticancer and Anti-Inflammatory Activities of a Standardized Dichloromethane Extract from *Piper umbellatum* L. Leaves. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine.** v. 2015, n. 1, p.1-8. 2015.

- JARDIM, C. M. *et al.* Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal Of Chemical Ecology**. v. 34, n. 9, p.1213-1218. 2008.
- KISHORE, N. *et al.* Human disorders associated with inflammation and the evolving role of natural products to overcome. **European Journal Of Medicinal Chemistry**. v. 179, p.272-309. 2019.
- KHANAPURE, S. *et al.* Eicosanoids in Inflammation: Biosynthesis, Pharmacology, and Therapeutic Frontiers. **Current Topics In Medicinal Chemistry**. v. 7, n. 3, p.311-340. 2007.
- KOKANOVA-NEDIALKOVA, Z. *et al.* The genus *chenopodium*: Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. **Pharmacognosy Reviews**. v. 3, n. 6, p.280-306. 2009.
- KUNKEL, S. L, LUKACS, N.W., STRIETER, R. M., & CHENSUE, S.W. **Th1 and Th2 responses regulate experimental lung granuloma development**. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 13:120–128, 1996
- KUMAR, Rajesh *et al.* Avaliação do óleo de *Chenopodium ambrosioides* como potencial fonte de atividade antifúngica, antiaflatoxigênica e antioxidante. **Revista Internacional de Microbiologia de Alimentos** , v. 115, n. 2, pág. 159-164, 2007.
- KUMAR, S.; BAJWA, B.S.; KULDEEP, S., *et al.* **Antinflammatory activity of herbal plants**: a review. *Int. J. Adv. Pharm. Biol. Chem.* 2, 272-281, 2013
- KUWABARA, T. *et al.* The Role of IL-17 and Related Cytokines in Inflammatory Auto-immune Diseases. **Mediators Of Inflammation**. v. 2017, p.1-11. 2017.
- LALL N, MEYER JJM. **In vitro inhibition of drug-resistant and drug-sensitive strains of Mycobacterium tuberculosis by ethnobotanically selected South African plants**. *J Ethnopharmacol*; (66): 347-354, 1999
- LAURINDO, IMM *et al.* **Artrite reumatóide: diagnóstico e tratamento**. *Rev. Bras. Reumatol., São Paulo* , v. 44, n. 6, p. 435-442, Dec. 2004. Available from: Rodbard, C.A.; *et al.* 22 *Caderno Saúde e Desenvolvimento* | vol.5, n.8 | 2019
- LEE CH, WEN ZH, CHANG YC, HUANG SY, TANG CC, CHEN WF, HSIEH SP, HSIEH CS, JEAN YH. **Intra-articular magnesium sulfate (MgSO₄) reduces experimental osteoarthritis and nociception: association with attenuation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor subunit 1 phosphorylation and apoptosis in rat chondrocytes**. *Osteoarthritis Cartilage*, Nov; v. 17, n.11, p. 1485-1489, 2009.
- LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. Atheneu, 2009.

LE LETK, MONTEJANO et al. Health care costs in US patients with and without a diagnosis of osteoarthritis. **J Pain Res**.5:23-30,2012.

LEME JG e SCHAPOVAL EES. "Stimulations of the Hypotalamo-Pituitary-Adrenal Axis by Compounds Formed in Inflamed Tissue". In: Br. J. Farmac., 1975, Cap. 53, p.75-83.

LI X, DONG Z, ZHANG F, DONG J, ZHANG Y. **Vitamin E slows down the progression of osteoarthritis (Review)**. Experimental and therapeutic medicine 12: 18-22, 2016.

LIN E, CALVANO SE, LOWRY SF – **Inflammatory cytokines and cell response in surgery**. Surgery, 2000;127:117-126

LIMA, R.A.; PIRES, L.S.S.; VIEIRA, N.G. A educação ambiental e o uso de plantas medicinais utilizadas pela população do distrito de União Bandeirantes-Rondônia. **REGET/UFMS**, v. 18, n. 4, p. 1351-60, dez. 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F J A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2002

LORENZI, Harri e MATOS, Francisco J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas, 2 ° edição, Nova Odessa, SP:**Istituto Plantarum**,2008.

MACDONALD D. **Ascaridole less infusions of Chenopodium ambrosioides contain a nematocide that is not toxic to mammalian smooth muscle**. J Ethnopharmacol (92): 215-221, 2004.

MALE, D., BROSTOFF, J., ROTH, D. B., & ROITT, I. M. (2014). **Imunologia**. Elsevier Brasil.

MARIZ, Saulo R. et al. Avaliação histopatológica em ratos após tratamento agudo com o extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 213-216, 2008.

MARNETT, L. J. The COXIB experience: **a look in the rearview mirror**. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, v. 49, p. 265-290, 2009.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. UFV: Universidade Federal de Viçosa, 2000.

MARZOCCO, S. *et al.* Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Potential of the Root Extract and Constituents of *Doronicum austriacum*. **Molecules**. v. 22, n. 6, p.1003-1016. 2017.

MASUCCI, O. **As plantas como remédio na cura de doenças**. São Paulo: Brasileiros, 1992.

MCCARSON, K. E. Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)-Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat. **Current Protocols In Pharmacology**. p.541-549. 2015.

MCINNES, I. B. Cytokines. **Kelley And Firestein's Textbook Of Rheumatology**. v. 1, p.396-407. 2017.

MCKENZIE, C. V. *et al.* Splenomegaly: Pathophysiological bases and therapeutic options. **The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology**. v. 94, p.40-43. 2018.

MEDZHITOV, R. **Inflammation 2010**: new adventures of an old flame. Cell, v. 140, n. 6, p. 771-776, 2010.

MELO, Fabiana Bezerra de. **Atividade antiinflamatória de preparação da lectina de sementes de Cratylia mollis em camundongos**. 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

MENDES, F.R., CARLINI, E. **Brazilian plants as possible adaptogens**: an ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. J. Ethnopharmacol. 109: 493-500, 2007.

MIRANTES, C.; PASSEGUÉ, E.; PIETRAS, E. M. Pro-inflammatory cytokines: Emerging players regulating HSC function in normal and diseased hematopoiesis.

Experimental Cell Research. v. 329, n. 2, p.248-254. 2014.

MIOSSEC, P.; KORN, T.; KUCHROO, V. K. Interleukin-17 and Type 17 Helper T Cells. **New England Journal Of Medicine.** v. 361, n. 9, p.888-898. 2009.

MONTENEGRO, Diogo Teixeira. **Avaliação económica de terapias biológicas nas doenças inflamatórias do intestino.** 2019. Tese de Doutorado.

MONZOTE, Lianet et al. Atividade, toxicidade e análise da resistência do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* após administração intraperitoneal, oral e intralesional em camundongos BALB / c infectados com *Leishmania amazonensis*: um estudo preliminar. **Biomedicina e Farmacoterapia** , v. 61, n. 2-3, pág. 148-153, 2007.

MONZOTE, L. *et al.* Comparative Chemical, Cytotoxicity and Antileishmanial Properties of Essential Oils from *Chenopodium ambrosioides*. **Natural Product Communications.** v. 6, n. 2, p.281-286. 2011.

MONZOTE L, GARCÍA M, PASTOR J, GIL L, SCULL R, MAES L, et al. **Essential Oil from *Chenopodium ambrosioides* and Main Components:** Activity Against *Leishmania*, their Mitochondria and other Microorganisms. *Exp Parasitol*; (136): 20-26, 2014.

MORAES, E. M. **Perfil botânico, químico, farmacológico e toxicológico das plantas medicinais utilizadas no Maranhão.** Monografia de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal do Maranhão, 1996.

MORAIS, Cláudia Borges de et al. ATIVIDADES ANTI-INFLAMATÓRIA IN VIVO E IN VITRO DO EXTRATO SECO DAS FOLHAS DE TREVO-VERMELHO (*Trifolium pratense* L.). **Salão de Iniciação Científica (21.: 2009 out. 19-23: Porto Alegre, RS). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2009., 2009.**

MOREIRA, R. C., REBELO, J. M., GAMA, M. E., COSTA, J. M. **Knowledge level about of American tegumentary leishmaniasis (ATL) and use of alternative therapies in an endemic area in the Amazon Region in the State of Maranhao, Brazil.** *Cad. Saúd. Pub.* 18: 187–195, 2002.

MOORE E, TROTTIER RW Jr. **“Comparison of Various Types of Carragenin in Promoting Pedal Edema in the Rat”.** In: *Research Communications in Chemical*

Pathology and Pharmacology, 1974, 7(3):625

MORRIS, C. J. Carrageenan-Induced Paw Edema in the Rat and Mouse. **Inflammation Protocols**. p.115-122. 2003.

MORSY, T. A., SHOUKRY, A., MAZYAD, S. A. M., MAKLED, K. A. **The effect of the volatile oils of *Chenopodium ambrosioides* and *Thymus vulgaris* against the larvae of *Lucilia sericata* (Meigen)**. J. Eyp. Soc. Pharmacol. 28(2): 503-510, 1998.

MORTAZ, E. *et al.* Update on Neutrophil Function in Severe Inflammation. **Frontiers In Immunology**. v. 9, n. 2171, p.1-14. 2018.

NAGAYOSHI, Beatriz Aiko *et al.* **Rheumatoid arthritis: profile of patients and burden of caregivers**. Rev. bras. geriatr. gerontol., Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 44-52, Feb. 2018. Available from .

NASCIMENTO F. R. F.; CRUZ, G. V.; PEREIRA, P. V.; MACIEL, M. C.; SILVA, L. A.; AZEVEDO, A. P.; BARROQUEIRO, E. S.; GUERRA, R. N. **Ascitic and solid Ehrlich tumor inhibition by *Chenopodium ambrosioides* L. treatment**. Life Sciences, 78 (22): 2650–2653, 2006.

NEIVA, V. A. *et al.* **Estudos pré-clínicos de atividade giardicida de *Chenopodium ambrosioides* L. e a padronização dos extratos na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos**. Revista de Ciências da Saúde, v. 13, n. 2, 2011.

NETEA, M. G. *et al.* A guiding map for inflammation. **Nature Immunology**. v. 18, n. 8, p.826-831. 2017.

OECDa. Test No. 407: **Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents**. OECD Publishing, 2008.

OECDb. Test No. 425: **Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure**. OECD Publishing, 2008.

OLIVEIRA, L. S., MUZITANO, M. F., COUTINHO, M. A. S., DE MELO, G. O., & COSTA, S. S. (2015). **Plantas medicinais como recurso terapêutico em comunidade do entorno da reserva biológica do tinguá**, RJ, Brasil—metabólitos secundários e aspectos farmacológicos. *InterSciencePlace*, 1(17).

O'SHEA, J. J.; GADINA, M.; SIEGEL, R. M. Cytokines and Cytokine Receptors. **Clinical Immunology: Principles and Practice**. v. 5, 1323p. 2019.

OSORNIO, J. J., KUMAMOTO, J., WASSER, C. **Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L.** **Biochem. System. Ecol.** 24(3): 195-205, 1996.

PATRÍCIO FJ, COSTA GC, PEREIRA PV, ARAGÃO-FILHO WC, SOUSA SM, FRAZÃO JB, et al. **Efficacy of the intralesional treatment with *Chenopodium ambrosioides* in the murine infection by *Leishmania amazonensis*.** *J Ethnopharmacol*; (115): 313–319, 2008.

PAVELA, R. *et al.* *Clausena anisata* and *Dysphania ambrosioides* essential oils: from ethno-medicine to modern uses as effective insecticides. **Environmental Science And Pollution Research**. v. 25, n. 11, p.10493-10503. 2017.

PAUL, W. E., ed. - **Fundamental Immunology**. New York , Raven Press,1993

PEREIRA, W. S. *Chenopodium ambrosioides* L.: avaliação toxicológica e ação na resposta inflamatória. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís. 2009.

PEREIRA, W. S. et al. **Evaluation of the subchronic toxicity of oral treatment with *Chenopodium ambrosioides* in mice.** *Journal of ethnopharmacology*, v. 127, n. 3, p. 602-605, 2010

PEREIRA, Wanderson Silva. **Avaliação do efeito do extrato bruto hidroalcoólico de *Chenopodium ambrosioides* sobre o desenvolvimento da artrite experimental.** 2014. 131f. Tese em Biociências - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

PEREIRA WS, SILVA GP, VIGLIANO MV, LEAL NRF, PINTO FA, FERNANDES DC SANTOS SV, MARTINO T, NASCIMENTO JR, AZEVEDO APS, FONSECA EN, VELOZO LSM, NETO LRS, BASTOS FF, PORTARI EA, SABINO KCC, NASCIMENTO FRF, COELHO MGP. **Anti-arthritic properties of crude extract from *Chenopodium ambrosioides* L. leaves.** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70, pp. 1078–1091, 2018.

PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v. 5, 1984.

Portal da Saúde (2011) Available from: <http://www.portaldasaude.pt/portal/conteudos/enciclopedia+da+saude/doencas/doencas+reumaticas/osteoartrose.htm>.

PINHEIRO NETO, V. F., ARAÚJO, B. M. A., GUERRA, P. C., BORGES, M. O. R., BORGES, A. C. R. **Efeito do cataplasma das folhas de mastruz (*Chenopodium ambrosioides*) na reparação de tecidos moles e ósseo em rádio de coelho**. J. Brasil. Fitomed. 3: 62-66, 2005.

PRAJAPATI N, PUROHIT SS, SHARMA AK, KUMAR TA. Hand Book of Medicinal plants: **A Complete Source Book**. Jodhpur:Agrobios publishers, 2003

Projeção da população do Brasil por sexo e idade - 1980-2050. **IBGE**. Disponível em:http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao_da_populacao/2008/projecao.pdf,2008.

RAEBURN CD, SHEPPARD F, BARSNESS KA et al. – **Cytokines for surgeons**. Am J Surg, 2002;183:268-273.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**. Hemisphere, Washington, v. 42, n. 1, p. 1-28, 1985

RANG HP, RITTER JM, DALE MM. “Inflamação e Antiinflamatórios”. In: Farmacologia, 4ª Ed., Guanabara Koogan, 2001.

RIBEIRO, F.; CRAIN, P. K.; MOYLE, P. B. 2004. **Variation in condition factor and growth in young-of-year fishes in floodplain and riverine habitats of the Cosumnes River, California**. Hydrobiologia 527: 77–84.

ROBBINS, S. L., COTRAN, R. S. & KUMAR, V., eds. - **Patologia Estrurural e Funcional**, Rio de Janeiro, Guanabara koogan, 1991. p. 45-83

ROCK, K. L.; KONO, H. **The inflammatory response to cell death**. Annual Review of Pathology, v. 3, p. 99-126, 2008.

RUH, A. C. et al. **Inflamação: entre a regeneração e a cicatrização**. Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde, v. 19, n. 1, p. 11-19, 2013.

SÁ, Rafaela Damasceno. Estudo farmacognóstico de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae). 2013.

SÁ, R. D.; SOARES, L. A. L.; RANDAU, K. P. Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 36, n. 2, p.267-276. 2015.

SANTOS, Lauana Aparecida et al. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE PUNICA GRANATUM LINNAEUS CONTRA Staphylococcus aureus ISOLADOS DE MASTITE BOVINA E AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA “in vivo. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 12, n. 1, p. 775-784, 2014.

SANTOS, E. M. O. et al. **ESTUDO DA AÇÃO DO LED E DO EXTRATO HIDROALCOOLICO DE ECLIPTA ALBA EM MODELO EXPERIMENTAL DE EDEMA DE PATA, INDUZIDO PELA CARRAGENINA**. 2017

SANTIAGO, J. A. et al. Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L.: secretory structures, antibacterial and antioxidant activities. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. v. 38, n. 2, p.139-147. 2016.

SARTORI, L. R. et al. Atividade antiinflamatória do granulado de Calendula officinalis L. e Matricaria recutita L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 17-19, 2003.

SCHALLEMBERGER, J. B., & PLETSCH, M. U. (2014). **Riscos do Uso Indiscriminado de Anti-inflamatórios Não-Esteroidais (AINES)**. *Salão do Conhecimento*, 2(01).

SENNA, L. *Dysphania* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB139867>>. Acesso: 15 dezembro 2015.

SÉRVIO, E. M. L.; ARAÚJO, K. S.; NASCIMENTO, L. R. S.; COSTA, C. L. S.; MENDES, L. M. S.; FILHO, A. L. M. M.; SANTOS, Í. M. S. P. 2011. **Cicatrização de feridas com a utilização do extrato de *Chenopodium ambrosioides* (mastruz) e cobertura secundária estéril de gaze em ratos**. *ConScientiae Saúde*, 10(3): 441-448.

SHAH, K. K.; PRITT, B. S.; ALEXANDER, M. P. Histopathologic review of granulomatous inflammation. **Journal Of Clinical Tuberculosis And Other Mycobacterial Diseases**. v. 7, p.1-12. 2017.

SHINWARI, M. I.; KHAN, M. A. **Folk use of medicinal herbs of Margalla Hills National Park, Islamabad**. J. Ethnopharmacol. 69: 45 – 56, 2000

SILVA LR, MARTINS LV,CALOU LBF, MEIRELES DE DEUS MS; FERREIRA PMP,PERON AP. **Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico**. Acta Toxicol. Argent. 23 (1): 36-43, 2015.

SILVA, R. G.; NEPOMUCENO, J. C.; 2007. **Efeitos genotóxicos dos extratos aquosos da erva-desanta-maria (Chenopodium ambrosioides) em células somáticas Drosophila melanogaster**. Revista Perquirere, 4: 1-23.

SOMMER C, WHITE F - **Cytokines, Chemokines, and Pain**, em: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F et al. – Pharmacology of Pain. 1st Ed, Seattle, IASP Press, 2010;279-302.

SONG, Mi-Jang; LEE, Sun-Mee; KIM, Dong-Ku. Efeito antidiabético de Chenopodium ambrosioides. **Fitofarmacologia** , v. 1, n. 2, pág. 12-15, 2011.

SOUSA, O. V. et al. Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de cascas de Duguetia lanceolata St. Hil., Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 11-14, 2004.

SOUSA, Z. L.; OLIVEIRA F. F.; CONCEIÇÃO, A. O.; SILVA, L. A. M.; ROSSI, M. H.; SANTOS, J. S.; ANDRIOLI, J. L. **Biological activities of extracts from Chenopodium ambrosioides Lineu and Kielmeyera neglecta Saddi**. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 11: 20, 2012.

SOSTRES, C. et al. **Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract**. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, v. 24, n. 2, p. 121-132, 2010.

SWINGLE, K. F.; SHIDEMAN, F. E. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. **Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics**. v. 183, n. 1, p.226-234. 1972.

- TAKIZAWA, H.; MANZ, M. G. Impact of inflammation on early hematopoiesis and the microenvironment. **International Journal Of Hematology**. v. 106, n. 1, p.27-33. 2017.
- TAPONDJOU, LA et al. Eficácia do pó e do óleo essencial das folhas de *Chenopodium ambrosioides* como protetores de grãos pós-colheita contra besouros de seis produtos armazenados. **Jornal de pesquisa de produtos armazenados** , v. 38, n. 4, pág. 395-402, 2002.
- TARP, S. et al. **Effect of nonsteroidal antiinflammatory drugs on the C-reactive protein level in rheumatoid arthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials**. *Arthritis & Rheumatology*, v. 64, n. 11, p. 3511-3521, 2012.
- TASAKA, A.C. **Antiinflamatórios não-esteroidais**. In: SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. *Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p.256-285, 2006.
- TAVARES, Márcio AGC; VENDRAMIM, José D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots.(Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 2, p. 319-323, 2005.
- TEIXEIRA, L. K. *et al.* The role of interferon-gamma on immune and allergic responses. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 100, n. 1, p.137-144. 2005.
- The National Collaborating Centre for Chronic Conditions. Osteoarthritis: National clinical guideline for care and management in adults. **London: Royal College of Physicians**; 2008.
- TRIVELLATO-GRASSI L, MALHEIROS A, MEYRE-SILVA C, BUSS ZS, MONGUILHOTT ED, FRÖDE TS, et al. **From Popular Use to Pharmacological Validation: a Study of the Anti-Inflammatory, Anti-Nociceptive and Healing Effects of *Chenopodium ambrosioides* Extract**. *J Ethnopharmacol*; (145): 127–138, 2013.
- TURNER, M. D. *et al.* Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica Et Biophysica Acta**. v. 1843, n. 11, p.2563-2582. 2014.
- VALLERAND, Isabelle A; PATTEN, Scott B; BARNABE, Cheryl. **Depression and the risk of rheumatoid arthritis**. *Curr Opin Rheumatol*, 2019 31:279–284, 2019.

VARELA, M. L.; MOGILDEA, M.; MORENO, I.; LOPES, A. Acute Inflammation and Metabolism. **Inflammation**. v. 41, n. 4, p.1115-1127. 2018.

VAZQUEZ, E. *et al.* Systemic changes following carrageenan-induced paw inflammation in rats. **Inflammation Research**. v. 64, n. 5, p.333-342. 2015.

VEIGA JUNIOR, V. F. *et al.* **Plantas medicinais: cura segura?** Química Nova, v. 28, p. 519-528, 2005.

VIEIRA, L. S. **Fitoterapia da Amazônia**: manual de plantas medicinais. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992.

VINEGAR, R. *et al.* Caminho para a inflamação induzida por carragenina no membro posterior do rato. In: **Processo da Federação** . 1987. p. 118

WIDOWATI, Wahyu *et al.* Potencial citotóxico seletivo de IFN- γ e TNF- α em linhas celulares de câncer de mama (T47D e MCF7). **Asian Journal of Cell Biology** , n. 11, pág. 12/01/2016.

WILDER-SMITH OHG. **Opioid user in the elderly**. Eur. J. Pain. 9, p. 137 – 140, 2005.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. **Experimental Biology And Medicine**. v. 111, n. 3, p.544-547. 1962.

WOHLENBERG, Vanessa Cristiane; LOPES-DA-SILVA, Marcelo. Efeito do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) na reprodução e expectativa de vida de *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Diptera: Drosophilidae). **Bioscience Journal** , v. 25, n. 6, 2009.

YATOO, M. I. *et al.* Anti-Inflammatory Drugs and Herbs with Special Emphasis on Herbal Medicines for Countering Inflammatory Diseases and Disorders - A Review. **Recent Patents On Inflammation & Allergy Drug Discovery**. v. 12, n. 1, p.39-58. 2018.

ZHANG JM, AN J – **Cytokines, inflammation, and pain.** Int Anesthesiol Clin 2007;45:27-37.