

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIRURGIA**

**O 1.8 CINEOL INIBE A MOTILIDADE GASTRINTESTINAL EM RATOS
ACORDADOS E ANESTESIADOS**

JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES

Fortaleza-Ce

2006

JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES

**O 1.8 CINEOL INIBE A MOTILIDADE GASTRINTESTINAL EM RATOS
ACORDADOS E ANESTESIADOS**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão Vasconcelos

Fortaleza-Ceará

2006

N425u

Neves, José Ricardo Cunha

O 1.8 Cineol Inibe a Motilidade Gastrintestinal em

Ratos Acordados e Anestesiados– Fortaleza, 2006.

114f. : il

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina

1. Motilidade Gastrointestinal 2. Gastroenterologia

3. Medicina Tradicional 4 . Anetol Tritiona

I. Título, Vasconcelos, Paulo Roberto de (Orient.)

CDD 616.33

JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES

**o 1.8 cineol inibe a motilidade gastrointestinal em ratos acordados
e anestesiados**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Cirurgia.

Aprovada em 22/12/2006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Aldo Melo Filho (ICC)

Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza(FAMED-UFC)

Prof. Dr. Paulo Leitão de Vasconcelos (Orientador)

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese de mestrado aos meus pais Neves e Ceça por terem me educado e me colocado no caminho da perseverança, honestidade e trabalho, a Sâmea minha esposa e companheira na longa jornada, nas horas de tristeza, horas de alegria e aos meus três filhos Marco, Rafa e Rico jóias preciosas de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Armênio Aguiar dos Santos exemplo de dedicação a ciência médica, que me acolheu e me mostrou a arte da fisiologia humana.

Ao professor Jose Ronaldo Vasconcelos da Graça , o meu carinho e respeito, sem o seu conhecimento em fisiologia, a sua dedicação, esforço e trabalho jamais eu teria conseguido concluir esta tese de mestrado meu obrigado especial.

Ao professor Miguel Ângelo, por sua inestimável contribuição como orientador e revisor desta dissertação.

Ao professor Pedro Magalhães por sua ajuda em me fornecer seus trabalhos sobre o uso do cineol *in vitro* na musculatura gastrintestinal.

Ao professor Jose Henrique Leal Cardoso por doar e fornecer o óleo bruto do cróton nepetaefolius o OECN e o óleo refinado o 1.8 cineol para que pudéssemos realizar os experimentos .

Ao Professor Paulo Roberto Leitão Vasconcelos coordenador da pos graduação em cirurgia e orientador desta dissertação.

A todos os colegas do laboratório escola pelo apoio e cooperação na realização dos experimentos e trabalhos para conclusão deste estudo, aos alunos de graduação e iniciação científica Gislano, Geraldo, Palheta, Rocino, Filipe Lino.

Ao técnico de laboratório Haroldo Pinheiro que prontamente atendeu as necessidades do laboratório escola nos materiais e animais usados nas pesquisas .

As agências de fomento a pesquisa (FUNCAP) e a UNIMED-Sobral na pessoa do presidente Antonio de Pádua Neves , pelo apoio financeiro.

A minha família, pais, esposa, filhos, irmãos, tios, primos, sobrinhos que são a energia para a conquista de meus sonhos.

“Na convivência democrática, a razão e a força não são argumentos para obrigar e sim instrumentos de ação na realização de um propósito comum que não é outro senão a convivência democrática”

Humberto Maturana

RESUMO

O 1.8 CINEOL RATOS ACORDADOS E ANESTESIADOS INIBE A MOTILIDADE GASTRINTESTINAL EM RATOS ACORDADOS E ANESTESIADOS

Estudar o efeito do OEEN e do 1.8 cineol, componentes do *Cróton nepetaefolius*, planta do Nordeste usada na medicina popular para distúrbios do trato gastrointestinal (TGI), sobre o comportamento motor do TGI de ratos Wistar. Para tanto, foram utilizados 121 animais machos, pesando entre 200 a 350g, distribuídos nos dois seguintes grupos de estudo: i) esvaziamento gástrico (EG), trânsito gastrointestinal (GI) de líquido e pressão arterial (PA) em ratos acordados, ii) complacência gástrica, PA, pressão venosa central (PVC) e frequência cardíaca (FC) de ratos anestesiados. Foram avaliados, em 106 ratos acordados sob jejum e livre acesso à água por 24h, o efeito da injeção (0,2mL; e.v.) de OEEN (3µg/Kg) e do 1.8 cineol (1, 3, 10 e 30µg/Kg) ou veículo (salina 0,9%) sobre o EG e o trânsito GI de líquido, bem como sobre a PA. Mediante gavagem, 1,5mL da refeição-teste (vermelho de fenol - 0,5mg/mL em glicose a 5%) foi injetada no estômago. Depois de 10min, foram sacrificados os animais e, após laparotomia, obstruímos o piloro, o cárdia e o íleo terminal. Removeu-se e dividiu-se o TGI em: estômago e segmentos consecutivos do intestino delgado (40% iniciais; 30% mediais e 30% terminais). A retenção fracional de vermelho fenol em cada segmento, medida por espectrofotometria à 560nm, permitiu o cálculo do EG e trânsito GI. Em um grupo separado de animais, a PA foi monitorada continuamente por meio de um sistema digital de aquisição de dados durante 20min antes e 30min após o tratamento com 1.8 cineol ou diluente. Comparado ao grupo controle, observou-se aumento da retenção gástrica ($p < 0,05$) de $43,9 \pm 3,4\%$ (grupo controle salina) para $54,9 \pm 4,7$; $61,3 \pm 3,3$; $56,2 \pm 1,7$ e $55,8 \pm 2,1\%$ nos animais tratados com 1.8 cineol nas doses de 1, 3, 10 e 30 µg/Kg, respectivamente sacrificados 10 min após a gavagem. Observou-se também diminuição significativa do trânsito gastrointestinal neste grupo de animais. O 1.8 cineol induziu diminuição ($p < 0,05$) da PA em relação ao período basal (de $124 \pm 5,2$ para $119 \pm 5,2$; $100,2 \pm 4,3$; $99,8 \pm 0,5$ e $88,6 \pm 2,7$ mmHg) nas doses de 1, 3, 10 e 30 µg/Kg. Este efeito foi fugaz para a dose de 1 e 3 µg/Kg em relação ao período basal. Entretanto, nas doses de 10 e 30 µg/Kg, os animais

não apresentaram recuperação da PA. O tratamento com OECN aumentou significativamente a retenção gástrica ($53,1 \pm 2,4$ vs $43,9 \pm 3,4$) enquanto diminui o trânsito gastrintestinal quando comparamos aos animais que receberam tratamento com salina. O pré-tratamento cirúrgico por vagotomia subdiafragmática, mas não a esplancnotomia, inibiu os efeitos do 1.8 cineol sobre os EG e trânsito gastrintestinal de líquidos. Os estudos de complacência gástrica foram conduzidos em 15 ratos anestesiados, sob jejum de 24h. As variações do volume gástrico (VG), foram medidas por pletismografia, enquanto a PA, FC e PVC foram monitoradas continuamente por um sistema digital de aquisição de dados. Observou-se diminuição do VG, o qual foi significativo aos 30, 40, 50 e 60min após o tratamento com 1.8 cineol ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$) quando comparado ao período basal ($2,0 \pm 0,1$; $1,9 \pm 0,1$; $1,8 \pm 0,1$ e $1,7 \pm 0,1\text{mL}$, vs $2,1 \pm 0,2\text{mL}$ – $p < 0,05$). A PA apresentou queda significativa após a administração de 1.8 cineol ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$), mantendo-se assim durante os 60min de monitoração ($87,9 \pm 7,7$; $87,6 \pm 7,1$; $87,9 \pm 6,4$; $87,8 \pm 5,7$; $86,0 \pm 5,5$ e $87,7 \pm 6,0\text{mmHg}$, respectivamente vs $94,4 \pm 6,2$; mmHg), bem como a FC ($366,3 \pm 13,4$; $361,7 \pm 11,5$; $357,3 \pm 10,4$; $353,0 \pm 10,4$; $348,3 \pm 11,1$ e $350,4 \pm 13,7\text{bpm}$ respectivamente vs $395,2 \pm 11,1\text{bpm}$). Já a PVC não sofreu variações significativas durante o tratamento. Em conclusão o OECN e o 1.8 cineol diminuem a motilidade gastrintestinal, retardando o EG e o trânsito GI de líquido em ratos acordados; diminui a complacência gástrica em ratos anestesiados além de apresentar efeitos hipotensor e bradicárdico; provavelmente por ação direta sobre a musculatura lisa gastrintestinal e vascular e modulação do sistema nervoso parassimpático.

Palavra Chave: Medicina Tradicional

ABSTRACT

It was studied the effect of EOCN and 1,8 cineol, components of the *Croton nepetaefolius* - plant of North-East of Brasil, used in the popular medicine for riots of the gastrointestinal sistem - on the motor behavior of the gut of Wistar rats. We used 121 male animals, weighing 200-350g, distributed in the two following groups of study: effect of the OECN and the 1,8 cineol on: i) the gastric emptying (GE), the gastrointestinal (GI) transit of liquid and the arterial pressure (AP) in awake rats and ii) the gastric compliance, the AP, the central venous pressure (CVP) and the cardiac frequency (FC) of anaesthetized rats. It was evaluated, in 106 awake rats under starvation for 24h with free access to water, the effect of injection (0,2mL; i.v.) of OECN (3 μ g/Kg) or 1,8 cineol (1, 3, 10 and 30 μ g/Kg) or vehicle (saline 0.9%) on GE and GI transit of liquid, as well as on AP. A test meal (1,5mL of phenol red - 0,5mg/mL in glucose 5%) was injected in the stomach by gavagem. After 10min, it was sacrificed the animals and obstruct the pyloro, cardia and terminal íleo. It was removed and divide the gut in: stomach and consecutive segments of small intestine (40% proximal; medial 30% and 30% distal). After homogenization of these visceral portions, it was determined the absorbance of the samples at 560nm. The fracional dye retention in each segment allowed the calculation of the GE and GI transit. In a separate group of animals, the AP was monitored continuously by digital system of acquisition data during 20min before and 30min after the treatment with 1.8 cineol or diluente. Treatment with 1,8 cineol (3 μ g/Kg) was evaluated also in animals after sacrifice 20 or 30min after gavagem. Compared with control, the gastric retention increase ($p < 0,05$) of 43,9 \pm 3,4% for 54,9 \pm 4,7; 61,3 \pm 3,3; 56,2 \pm 1,7 and 55.8 \pm 2.1% in the treated (1.8 cineol 1, 3, 10 and 30 μ g/Kg, respectively) animals, sacrificed 10 min after gavage. It was also observed significant reduction on the GI transit in this group. The 1,8 cineol (1, 3, 10 and 30 μ g/Kg) induced reduction ($p < 0,05$) of the AP (of 124 \pm 5,2 for 119 \pm 5,2; 100,2 \pm 4,3; 99,8 \pm 0,5 and 88,6 \pm 2,7mmHg, respectively). This effect was, however, fugaz, for dose 1 and 3 μ g/Kg, however the doses of 10 and 30 μ g/Kg, the animals had not presented recovery of the AP. Treatment with EOCN also increases gastric retention (53,1 \pm 2,4 versus 43,9 \pm 3,4, $p < 0,05$) while reduces GI

transit. The surgical pre-treatment by sub-diaphragmatic vagotomy, but not its splancnotomy, inhibited the 1,8 cineol effect on the GE and GI transit of liquid. ii) The effect of 1.8 cineol (1 or 3 μ g/Kg) on gastric compliance had been lead in 15 anaesthetized rats, under jejuna of 24h. The variations of the gastric volume (GV), had been measured by plethysmography, while the AP, FC and CVP had been monitored continuously by a digital system of data acquisition. We observe reduction of the GV ($p < 0.05$), which was significant on 30, 40, 50 and 60min after treatment (2,0 \pm 0,1; 1,9 \pm 0,1; 1,8 \pm 0,1 and 1,7 \pm 0,1mL, versus 2,1 \pm 0,2mL) 1 or 3 μ g/Kg of 1.8 cineole. The AP presented significant fall after the administration of 1.8 cineol, remaining thus during 60min of monitorization (87,9 \pm 7,7; 87,6 \pm 7,1; 87,9 \pm 6,4; 87,8 \pm 5,7; 86,0 \pm 5,5 and 87,7 \pm 6,0mmHg, respectively versus 94,4 \pm 6,2; mmHg), as well as the FC (366,3 \pm 13,4; 361,7 \pm 11,5; 357,3 \pm 10,4; 353,0 \pm 10,4; 348,3 \pm 11,1 and 350,4 \pm 13,7bpm, respectively versus 395,2 \pm 11,1bpm). The CVP did not suffer significant variations after treatment. In summary, it was observed the OECS and the 1,8 cineol treatments diminish the gut motility, delaying the GE and GI transit of liquid in awake rats; it reduces the gastric complaciance in anaesthetized rats besides presenting effect hipotensor and bradycardic; probably for direct action on the gastrointestinal and vascular smooth muscel and moduling the parassimpatic nervous system.

LISTA DE ABREVIATURAS

- % - Percentual
 - ~ - Aproximadamente
 - ® - Marca Registrada
 - °C – Grau Celsius
 - AMP – Adenilato Monofosfato
 - bpm – batimentos por minuto
 - cm – Centímetro
 - cmH₂O – Centímetro de Água
 - Cols. – Colaboradores
 - d - dia
 - DE – Diâmetro Externo
 - D– Diâmetro Interno
 - e.v. – Endovenoso
 - EG – Esvaziamento Gástrico
 - EPM – Erro Padrão da Média
 - et al. – e colaboradores
 - FDE – fosfodiesterase
 - g- Grama
 - GI – Gastrintestinal
 - GMP – Guanilato Monofosfato
 - h - hora
 - I.P. – Intraperitoneal
 - ISO – “International Standard Organization”
 - Kg – Quilograma
 - L – Litro
 - L-NAME – L-nitro-arginina-metil-éster
 - M – Molar
 - mg – Miligrama
 - min - minuto
 - mL – Mililitro
 - mmHg – Milímetros de Mercúrio
 - n – número de observações
 - NaCl – Cloreto de Sódio
 - NANC – Não adrenérgico Não Colinérgico
 - NaOH – Hidróxido de Sódio
 - nm – Nanômetro
 - NO – Óxido Nítrico
 - OECN – Óleo Essencial do *Croton nepetaefolius*
 - p – Intervalo de Significância
 - PA – Pressão Arterial
 - PE – Polietileno
 - pH – Potencial de Hidrogênio
 - PVC – Pressão Venosa Central
 - rpm – Rotação Por Minuto
 - s - segundo
 - TGI – Trato Gastrintestinal
 - TI – Trânsito Intestinal
 - U – Unidade Internacional
 - UFC – Universidade Federal do Ceará
 - VG - Volume Gástrico
 - vs – versus
 - wt:vol – Peso:Volume
-

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1.1 – Delineamento experimental do protocolo utilizado para construção da curva dose-resposta 1.8 cineol (1, 3, 10 e 30µg/Kg – e.v.) ou do diluente (salina 0,9% - e.v.) sobre a taxa de EG e trânsito GI de líquido em ratos acordados.....	33
Figura 3.1.2 – Delineamento experimental do protocolo utilizado para construção da curva de esvaziamento gástrico após a administração e.v. de 1.8 cineol (3µg/Kg) ou do diluente (salina 0,9%) em ratos acordados.....	34
Figura 3.1.3 – Delineamento experimental do protocolo utilizado para estudo do efeito do OEEN (3µg/Kg – e.v.) ou do diluente (salina 0,9% - e.v.) sobre a taxa de EG e trânsito GI de líquido em ratos acordados.....	35
Figura 3.1.4 – Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito do 1.8 cineol (3µg/Kg) ou salina 0,9% sobre o volume gástrico de ratos acordados estudados 24h após esplanctomia.	36
Figura 3.1.5 – Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito do 1.8 cineol (3µg/Kg) ou salina 0,9% sobre o volume gástrico de ratos acordados estudados 24h após vagotomia subdiafrágica.....	37
Figura 3.1.6 – Pressão arterial média e retenção gástrica fracional da refeição teste em ratos acordados tratados com 1.8 cineol ou salina, sacrificados 10min pós-prandial.....	38
Figura 3.1.7 – Recuperação fracional do corante no estômago e intestino delgado (porções proximal, medial e distal) de ratos tratados com 1.8 cineol ou salina e estudados aos 10 min pós-prandiais.....	40

Figura 3.1.8 – Retenção gástrica fracional da refeição teste em ratos acordados tratados com 1.8 cineol ou salina, sacrificados aos 10, 20 ou 30min pós-prandial.....	41
Figura 3.1.9 – Recuperação fracional do corante no estômago e intestino delgado (porções proximal, medial e distal) de ratos tratados com 1.8 cineol ou salina e estudados aos 10, 20 ou 30min pós-prandiais.....	42
Figura 3.1.10 – Recuperação fracional do corante no estômago e intestino delgado (porções proximal, medial e distal) de ratos tratados com OECN ou salina e estudados aos 10min pós-prandiais.....	44
Figura 3.1.11 - Efeito do pré-tratamento cirúrgico (esplancnotomia ou vagotomia subdiafragmática) sobre a pressão arterial média (PA, em mmHg) e o volume gástrico (VG, em mL) em ratos anestesiados e tratados com sildenafil.....	45
Figura 3.2.1 – Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito do sildenafil ou veículo sobre o VG, PA, PVC e FC de ratos anestesiados.....	49
Figura 3.2.2. Efeitos do 1.8 cineol sobre a pressão arterial (PA, em mmHg), a pressão venosa central (PVC, em CmH ₂ O), frequência cardíaca (FC, em bpm) e volume gástrico (VG, em mL) de ratos anestesiados.....	50
Figura 3.2.3. Efeitos do 1.8 cineol sobre a pressão arterial (PA, em mmHg), a pressão venosa central (PVC, em CmH ₂ O), frequência cardíaca (FC, em bpm) e volume gástrico (VG, em mL) de ratos anestesiados.....	51
Figura 3.2.4. Efeitos do 1.8 cineol sobre a pressão arterial (PA, em mmHg), a pressão venosa central (PVC, em CmH ₂ O), frequência cardíaca (FC, em bpm) e volume gástrico (VG, em mL) de ratos anestesiados.....	52

LISTA DE APÊNDICE

APÊNDICE 1 - Dados de retenção fracional de corante por segmento do TGI e pressão arterial dos animais acordados

APÊNDICE 2 - Dados volume gástrico, pressão arterial (PA), pressão venosa central (PVC) e frequência cardíaca (FC) dos animais anestesiados

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – 1.8 cineole decreases gastric compliance in anesthetized rats. José Ricardo Cunha Neves, Gislano Heverton Soares de Lira, Rocino Marinho de Oliveira Neto, José Ronaldo Vasconcelos da Graça, Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, Miguel Ângelo Nobre e Souza, Pedro Jorge Caldas Magalhães, Francisco Hélio Rola, Armênio Aguiar dos Santos. Acta Cirúrgica Brasileira. (Aceito para Publicação)

SUMÁRIO

Resumo	
Abstract	
Lista de abreviações	
Lista de figura	
Lista de apêndices	
Lista de anexos	
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Definições básicas sobre óleos essenciais.....	19
1.2. Propriedades dos óleos essenciais.....	20
1.3. Óleo essencial do <i>Croton nepetaefolius</i>	22
1.3.1. Ações farmacológicas do óleo essencial do <i>Croton nepetaefolius</i>	23
2- OBJETIVOS.....	25
3 – MATERIAIS, MÉTODOS E RESULTADOS.....	26
3.1. Estudo I - Efeito do 1.8 cineol e do OECN sobre o esvaziamento gástrico e sobre o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados	27
3.1.1. Procedimentos cirúrgicos.....	27
3.1.1.1. Canulação dos vasos cervicais.....	27
3.1.1.2. Vagotomia subdiafragmática	28
3.1.1.3. Esplancnotomia.....	28
3.1.2. Determinação da taxa de esvaziamento gástrico (EG) e do trânsito gastrintestinal (GI).....	28
3.1.2.1. - Determinação do EG e do trânsito GI.....	30
3.1.3. – Monitoração dos parâmetros hemodinâmicos.....	30
3.1.4. Protocolos Experimentais.....	30
3.1.4.1. Curva dose-resposta do 1.8 cineol sobre o EG e trânsito GI.....	30
3.1.4.2. Curva de esvaziamento gástrico.....	31
3.1.4.3. Ação do OECN sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal.....	32
3.1.5. Participação de vias regulatórias do fenômeno.....	33
3.1.5.1. Esplancnotomia.....	33
3.1.5.2. Vagotomia subdiafragmática.....	34

3.1.5 - Análise estatística.....	35
2.1.6 – Resultados de EG e trânsito GI.....	36
3.2. Estudo II - Efeito do 1.8 cineol e do OECN sobre a complacência gástrica de ratos anestesiados.....	36
3.2.1. Procedimentos cirúrgicos.....	36
3.2.2. Medida do volume gástrico (VG).....	36
3.2.3. Monitoração dos parâmetros hemodinâmicos.....	37
3.2.4. Protocolos experimentais.....	37
3.2.4.1. Efeito do 1.8 cineol sobre o VG, PA, PVC e FC.....	37
3.2.5 - Avaliação experimental.....	37
3.2.6 - Análise estatística.....	38
3.2.7 – Resultados de complacência gástrica	38
3- DISCUSSÃO.....	50.
4 - CONCLUSÕES.....	56.
5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
6. APÊNDICES	64.
7. ANEXOS	76.

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre óleos essenciais de plantas data desde alguns séculos antes da era cristã. As referências históricas, de obtenção e utilização de óleos estão ligadas, originalmente, aos países orientais, com destaque para o Egito, Iraque, Japão, China e Índia (Lavabre, 1993)

A evolução de conhecimentos técnicos sobre os óleos essenciais deu-se em meados do século XVIII, quando se iniciaram os estudos das suas características químicas. Atualmente é bastante grande o número de plantas cujos óleos essenciais exibem impacto econômico. Tal ocorrência vai desde plantas rasteiras, como é o caso da hortelã e dos crótons, até plantas de porte arbóreo, como é o caso do eucalipto. (Craveiro *et al.*, 1981)

O interesse do homem pelos óleos essenciais está baseado na possibilidade da obtenção de compostos aromáticos, os quais fazem parte de nosso dia a dia, seja na área da cosmética, seja na área médica. Muitos desses compostos são atualmente obtidos sinteticamente, por razões econômicas e por dificuldades na continuidade da obtenção das plantas produtoras, bem como pelo interesse na obtenção de novos componentes aromáticos. Contudo, a busca pelo naturalismo tem feito crescer a demanda por produtos obtidos diretamente das plantas. Além do mais, os aromas sintéticos não conseguem reproduzir a perfeição dos aromas naturais (Craveiro *et al.*, 1981).

1.1. Definições básicas sobre óleos essenciais

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou simplesmente essências, são definidos pela “International Standard Organization” (ISO) como produtos obtidos de partes das plantas, através da destilação por arraste com vapor d’água, ou como produtos obtidos da expressão dos pericarpos de frutos cítricos. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (Magalhães, 1997)

As denominações dadas a estes óleos dependem de suas características físico-químicas. São considerados óleos por serem, geralmente, líquidos de

aparência oleosa à temperatura ambiente; por apresentarem volatilidade, recebendo ainda o nome de óleos voláteis; e são chamados de essências, devido ao aroma agradável e intenso da maioria de seus representantes. A denominação óleos etéreos se deve ao fato dos mesmos serem solúveis em solventes orgânicos apolares, como éter (Matos e Matos, 1989; Lavabre, 1993).

Outras características que podem ser identificadas nos óleos essenciais são:

- Sabor: geralmente acre (ácido) e picante;
- Cor: quando recentemente extraídos, os óleos são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados; pouco são aqueles que apresentam cor, como o óleo volátil de camomila, que tem coloração azulada;
- Estabilidade: normalmente os óleos essenciais são instáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidade e metais;
- A maioria dos óleos essenciais possui alto índice de refração e são opticamente ativos, propriedades estas usadas na sua identificação e controle da qualidade.

1.2. Propriedades dos óleos essenciais

Dentre os agentes terapêuticos provenientes de plantas, com uso medicinal popular e científico, destacam-se os óleos essenciais. Esses óleos, também conhecidos como essências, são princípios ativos oleosos e voláteis, responsáveis pelo aroma característico das chamadas plantas aromáticas (produtoras de óleos essenciais), muitos deles inclusive possuindo propriedades ativas em sistemas biológicos, o que os tornam portanto, de interesse científico.

Constituem-se em complexas misturas de componentes classificados quimicamente em diversos grupos (terpenos, fenóis, etc) e, geralmente, é possível atribuir a um ou mais constituintes as ações dos óleos essenciais sobre estes sistemas. Apresentam uma grande importância econômica e são largamente utilizados na indústria com os mais diversos fins como aromatizantes, repelentes de insetos, em perfumaria, na composição de desinfetantes e

cosméticos, na preparação de alimentos e licores (Freise, 1935; Jacobs, 1948; Craveiro *et al.*, 1977).

Na medicina popular são utilizados, na forma de chás e infusatos, como sedativos, estomáquicos, antiespasmódicos, antidiarréicos, antiparasitários, antimicrobianos, analgésicos, diuréticos e hipotensores, antimaláricos, anti-hemorroidários, anti-sifilíticos e no tratamento de rinite alérgica (Freise, 1935; Mendonça *et al.*, 1991; Klayman, 1985).

O estudo dos efeitos dos óleos essenciais de plantas comumente encontradas em nossa região sobre tecidos animais e, particularmente, sobre as células musculares tem se tornado rotineiro nos últimos anos e têm demonstrado atividades farmacológicas coerentes com a sua utilização na medicina popular (Leal-Cardoso e Fonteles, 1999). Neste sentido, o óleo essencial de *Croton zehntneri*, espécie mais conhecida como "canela-de-cunhã", mostrou-se possuidor de interessantes propriedades farmacológicas sobre o músculo esquelético e sobre o músculo liso intestinal.

O óleo essencial do *Croton zehntneri* e seus principais constituintes anetol e estragol inibiram as contrações induzidas tanto pela estimulação elétrica direta no nervo como pela acetilcolina, enquanto potencializam as contrações produzidas pela cafeína (Albuquerque *et al.*, 1995).

No músculo liso os efeitos do estragol são predominantemente antiespasmódicos. Por outro lado o estragol, em concentrações maiores que 10µg/ml, também produz contrações rítmicas em íleo e aumenta a amplitude e a freqüência das contrações espontâneas da bexiga de cobaio sugerindo que este óleo essencial pode exercer efeitos modulatórios diferenciais na contratilidade de vários músculos lisos.

Outro óleo essencial farmacologicamente ativo em células musculares lisas e esqueléticas é o da *Mentha x villosa*, conhecida popularmente como "hortelã-rasteira", que recentemente teve descrita uma atividade hipotensora (Lahlou *et al.*, 2001). Em músculo sartório de sapo este óleo essencial também apresenta uma atividade inibitória sobre contrações induzidas por soluções contendo 80mM de K⁺ e potencializa as contrações induzidas pela cafeína. Por outro lado, em concentrações maiores que 1mg/mL produz contrações que são bloqueadas pela procaína.

O principal constituinte do hidrolato obtido na extração do óleo essencial da *M. Villosa*, o óxido de piperitenona, também se mostrou ativo sobre diversas preparações biológicas inclusive sobre o músculo liso intestinal de cobaio com efeitos antiespasmódicos. O óleo essencial da *Alpinia speciosa*, planta conhecida popularmente como "colônia" apresentou efeito relaxante e antiespasmódico sobre preparações intestinais de íleo de rato (Bezerra *et al.*, 2000).

1.3. Óleo essencial do *Croton nepetaefolius*

Croton nepetaefolius Baill é a denominação científica de um tipo de arbusto comum no Nordeste brasileiro popularmente conhecido como marmeleiro sabiá.

É um exemplar da família Euphorbiaceae e do gênero *Croton*, um dos mais bem representados na flora nordestina, encontrado nos cerrados, matas litorâneas e principalmente nas caatingas (Ducke, 1959).

De acordo com citações populares, as plantas representantes deste gênero, nativas da região Nordeste do Brasil, podem ser agrupadas em quatro categorias distintas, três delas com características bem definidas. O quarto grupo que apresenta características mais difusas, é constituída pelas outras espécies do gênero *Croton*.

O *Cróton nepetaefolius*, como o nome popular indica é uma das espécies pertencente à categoria dos marmeleiros que, assim como outras plantas deste gênero, é produtor de óleo essencial com aroma agradável e característico.

Tem-se feito a identificação destes constituintes através de técnicas como a cromatografia gasosa e a espectrometria de massa em amostras de óleo extraídas por arraste de vapor d'água. A constituição química do óleo essencial do *Croton nepetaefolius* como documentada pelo Departamento de Química Orgânica da UFC depende de vários fatores inclusive da época da colheita do ano e da região geográfica onde a planta é colhida. Seus principais constituintes são: 1,8-cineol (conhecido também como eucaliptal), metil-eugenol, terpineol B-cariofileno e xantoxilina, entre outros de menor importância na sua contribuição percentual (Magalhães, 1997).

1.3.1. Ações farmacológicas do óleo essencial do *Croton nepetaefolius*

Algumas ações farmacológicas do óleo essencial do *Croton nepetaefolius* (aqui denominado simplesmente de OECN) têm sido demonstradas nos últimos anos. Recentemente, descreveu algumas características farmacológicas deste óleo essencial.

Administrado por via oral em cobaias, o OECN apresentou uma DL50 acima de 3g/Kg de peso corporal, caracterizando sua baixa toxicidade aguda. Além disso, em cobaias, por esta mesma via de administração, o OECN apresentou uma atividade antiedematogênica nos modelos de edema de pata induzidos por dextrana, histamina e carragenina, em doses relativamente baixas (10 a 300mg/Kg). Já em doses de 30 a 300mg/kg o OECN exibe atividade analgésica em modelos de nocicepção induzida por ácido acético, formalina e estímulo térmico.

Na medicina popular, a planta é utilizada para distúrbios gastrintestinais. Em preparações com o músculo liso intestinal *in vitro de cobaia* o OECN demonstrou propriedades miorelaxantes (Magalhães, 1997 e Magalhães *et al.*, 1998).

Em camundongos, a administração intragástrica de OECN (10 a 100mg/Kg) aumentou o tempo de trânsito gastrintestinal de uma refeição líquida contendo marcador de carvão depositado no estômago (Magalhães, 1997). Este mesmo efeito também foi observado em animais que tiveram o trânsito gastrintestinal acelerado pelo tratamento prévio com o óleo de rícino (Magalhães, 1997 e 1998).

Em preparações isoladas o OECN diminuiu o tônus basal e reduz a amplitude das contrações espontâneas de segmentos de íleo bem como dos esfíncteres gastro-esofágico, pilórico e íleo-cecal de cobaias, as CE50 situaram-se em uma faixa de concentração de 0,9 a 16 e 8 a 150 µg/mL, respectivamente. Em íleo, o OECN e seus constituintes cineol, metil-eugenol e terpineol produzem diminuição do tônus basal com valores de CE50 correspondente a 16, 322, 9 e 71 µg/ml, respectivamente além de bloquear as contrações induzidas por soluções contendo 60mM de K⁺ sob CI50 de 18, 419, 12 e 95 µg/ml, respectivamente (Magalhães *et al.*, 1998).

Estes dados demonstram que o OECN possui propriedades miorelaxantes e antiespasmódicas *in vivo* e *in vitro*, o que é consistente com o uso de preparações da planta na medicina popular como um antiespasmódico intestinal (Dantas, 1979; Craveiro *et al.*, 1980).

Alguns dos principais constituintes do OECN possuem atividades farmacológicas diversas e não menos interessantes. O 1,8-cineol, também conhecido como eucaliptal, é um terpeno encontrado no óleo essencial de muitas outras plantas como o eucalipto e o araçá. Tradicionalmente é utilizado pela indústria farmacêutica por suas propriedades descongestionantes e antitussígenas ao reduzir os danos gástricos induzidos por etanol e inibir o volume e a acidez do suco gástrico em ratos (Santos e Rao, 2001).

Também foram relatados efeitos inibitórios do cineol sobre edema de pata induzido pela carragenina, sobre a nocicepção induzida pela formalina e ácido acético e apresentou efeitos depressores do sistema nervoso central (Santos e Rao, 2000). O terpineol, por outro lado, apresentou atividade anestésica local em nervo ciático (Moreira *et al.*, 2001) e em preparações frênico/diafragma de rato assim como no teste de reflexo da conjuntiva de coelho (Ghelardini *et al.*, 2001).

Baseados nestes trabalhos resolveu-se então estudar as ações da injeção e.v do 1.8 cineol e o óleo bruto (OECN), sobre a motilidade gastrintestinal, bem as repercussões hemodinâmicas desta administração.

2- OBJETIVOS

- 1-Estudar o efeito do 1.8 cineol e do OECN sobre o esvaziamento gástrico e sobre o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados.
 - 2-Estudar o efeito do 1,8 cineol sobre a complacência gástrica de ratos anestesiados.
 - 3-Estudar o efeito do 1.8 cineol sobre a pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e a pressão venosa central (PVC), em ratos acordados e anestesiados.
 - 4-Investigar a possível participação do nervo vago e dos nervos esplâncnicos, nos efeitos do 1.8 cineol, sobre o esvaziamento gástrico e o transito gastrointestinal em ratos acordados.
-

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar machos (n=121) pesando entre 180-350g, provenientes do Biotério Central da UFC. Todo o manuseio e os procedimentos aqui descritos foram conduzidos de acordo com as normas do colégio brasileiro de experimentação animal após aprovação pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da UFC.

Para facilitar o entendimento do leitor, apresentamos o trabalho em dois (02) grupos de estudos, a saber:

- 1) Efeito do 1.8 cineol e do OEEN sobre o esvaziamento gástrico e sobre o trânsito gastrintestinal de líquido em ratos acordados;
- 2) Efeito do 1.8 cineol e do OEEN sobre a complacência gástrica de ratos anestesiados;

O 1.8 cineol e o OEEN foram gentilmente cedidos pelo Laboratório do Prof. Henrique Cardoso. As demais drogas e reagentes utilizadas neste estudo foram adquiridas junto a Sigma™, com recursos oriundos do CNPq, da CAPES e da FUNCAP.

3.1. Estudo I - Efeito do 1.8 cineol e do OECN sobre o esvaziamento gástrico e sobre o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados

3.1.1. Procedimentos cirúrgicos

3.1.1.1. Canulação dos vasos cervicais

Neste estudo utilizaram-se 106 ratos Wistar machos pesando entre 180 a 220g. Após anestesia com éter, os animais foram submetidos à tricotomia nas regiões cervical anterior e posterior, segmento que corresponde da terceira a sétima vértebra cervical.

Foi realizada então, cervicotomia transversa de 03 cm de extensão na região clavicular, seguida de dissecação por planos e divulsão dos músculos esternocleidomastoideo e esternoiideo esquerdos. A seguir, expõe-se a artéria carótida comum esquerda e veia jugular externa direita. Estes vasos foram reparados de modo a permitir a inserção de cânulas de polietileno, cheias de solução salina heparinizada (1000U/ml). A artéria carótida, foi canulada com um PE50 e se prestou à monitorização da pressão arterial, já a veia jugular foi canulada com um PE 90 e se prestou à administração de drogas ou diluente bem como se prestou à monitoração da pressão venosa central.

A extremidade livre destas cânulas, ocluídas por mandril, foram guiadas através do subcutâneo por um trocáter até a região interescapular, e ali fixadas com fio nylon 4-0.

3.1.1.2. Vagotomia subdiafragmática

Um grupo a parte de ratos foi submetido a laparotomia mediana, 72 horas antes dos estudos. Após a abertura do peritônio manipulou-se cuidadosamente o esôfago distal, o qual foi reparado para a execução de laqueadura dos nervos vagos anterior e posterior na região da cárdia, esta região foi ainda cauterizada quimicamente com álcool a 100%. Realizou-se a revisão da hemostasia, com posterior síntese por planos, segundo a técnica descrita por Tache (1987).

Outro grupo de ratos de mesmo número do anterior foi submetido à laparotomia, abertura da cavidade abdominal por planos, isolado o esôfago abdominal, visualizado os nervos vagos anterior e posterior e em seguida não realizamos laqueadura dos nervos vagos e procedemos ao fechamento da cavidade por planos, este foi chamado de grupo controle (falsa vagotomia).

3.1.1.3. Esplacnotomia

Um grupo de ratos foi submetido à tricotomia da região abdominal, seguida de assepsia e anti-sepsia com Povidine® (PVPI). Mediante laparotomia e inserção de uma compressa para rebater as alças intestinais, abordaram-se os nervos esplâncnicos, após visualização destes na região do tronco celíaco, que é o primeiro ramo abdominal da aorta. Então, seccionou-se o gânglio celíaco seguido da secção dos nervos esplâncnicos. A seguir a foi área cauterizada com álcool a 100%, este procedimento aconteceu 72 horas antes dos estudos de esvaziamento gástrico, segundo a técnica descrita por Tache (1987).

3.1.2. Determinação da taxa de esvaziamento gástrico (EG) e do trânsito gastrointestinal (GI)

3.1.2.1. - Determinação do EG e do trânsito GI.

Para a determinação do EG e do trânsito GI utilizou-se uma técnica descrita inicialmente por Reynell e Spray (1956) e extensivamente utilizada em nosso laboratório, com as devidas adaptações (Rego *et al.*, 1998; Gondim *et al.*, 1999; Camurça *et al.*, 2004).

Inicialmente, os animais receberam mediante gavagem 1,5mL da refeição teste, contendo um marcador não absorvível (vermelho de fenol - 0,5mg/mL em glicose a 5%). Decorridos 10, 20 ou 30min após a administração da refeição, os animais foram, então, sacrificados, por deslocamento cervical. Mediante laparotomia mediana, o estômago e o intestino delgado foram expostos e, em seguida, obstruídos ao nível do piloro, do cárdia e do íleo terminal.

Posteriormente, removeu-se todo o trato gastrointestinal (TGI), desde o esôfago até o reto. O TGI foi estendido sobre uma prancha graduada em centímetros e dividido em 4 segmentos consecutivos: estômago; os 40% proximais do intestino delgado; os 30% mediais do intestino delgado e os 30% distais do intestino delgado.

A seguir, cada segmento foi imerso num cilindro graduado para determinação do volume destes segmentos. Em seguida, foram triturados e homogeneizados com 100mL de NaOH 0,1N por meio de um liquidificador de mão (Black and Decker®) durante 30s.

A suspensão foi deixada em repouso durante 20min à temperatura ambiente. Em seguida retiramos do sobrenadante uma alíquota de 10mL que foi centrifugada durante 10min a 2800rpm. Após esse procedimento, uma amostra de 5mL do sobrenadante foi retirada e adicionado 0,5mL de ácido tricloro-acético (20% *wt:vol*), sendo o produto centrifugado a 2800rpm por mais 20min. No final, foram retirados 3mL do novo sobrenadante e adicionados 4mL de NaOH 0,5N de modo a revelar o corante. Determinou-se a absorbância da amostra a 560nm utilizando o espectrofotômetro Spectrum®.

A quantidade de vermelho fenol recuperada em cada segmento foi calculada conforme a equação ($m=C \times \text{volume}$). E a percentagem de retenção de vermelho fenol em cada segmento (x) expressa de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Retenção no segmento X} = \frac{\text{Quantidade de VF recuperado no segmento X}}{\Sigma \text{ da quantidade de VF recuperada nos segmentos do TGI}}$$

Σ – Somatório; VF – Vermelho de fenol

A recuperação fracional do corante nos quatro segmentos do TGI permitiu-nos estimar a progressão do marcador ao longo do TGI, que identificamos como índice do trânsito GI. No caso em particular do estômago, a recuperação fracional do corante neste segmento serviu como índice de retenção gástrica.

3.1.3. – Monitoração dos parâmetros hemodinâmicos

Em um grupo separado de animais (n=8) monitorizaram-se a pressão arterial (PA), a frequência cardíaca (FC) e a pressão venosa central (PVC). Com esse propósito, as cânulas da artéria carótida e da veia jugular foram conectadas a transdutores de pressão acoplados a um sistema de aquisição de dados biológicos (Power-Lab ADInstruments®) registrados em micro-computador. Já os valores da FC foram derivados diretamente dos registros de PA.

Todos os parâmetros hemodinâmicos foram obtidos continuamente por até 60min, ou seja nos 20min iniciais do período basal, nos 10min posteriores ao tratamento com 1.8 cineol ou OECN ou mesmo o diluente, bem como durante os 10, 20 ou 30min do período pós-prandial, imediatamente anterior ao sacrifício dos animais.

3.1.4. Protocolos Experimentais

3.1.4.1. Curva dose resposta do 1.8 cineol sobre o EG e trânsito GI (n=62)

Um grupo de ratos foi submetido à canulação da artéria carótida e da veia jugular e permanecem em jejum por 24 horas antes do experimento, mas teve livre acesso à água. Monitorizaram-se a PA, a FC e a PVC por 30min.

A seguir, administrou-se e.v. 1.8 cineol nas doses de 1, 3, 10 ou 30 μ g/kg, após 10 min os animais foram gavados, através de sonda orogástrica, com 1,5mL da refeição teste marcada com vermelho fenol.

Decorridos 10min da gavagem, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e então se procedeu laparotomia para retirada do estômago e intestinos e a realização do estudo do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrintestinal pelo método descrito acima.

Um grupo de ratos foi submetido aos mesmos procedimentos, os quais sofreram apenas administração de salina e.v., constituindo o grupo controle (Figura 3.1.1).

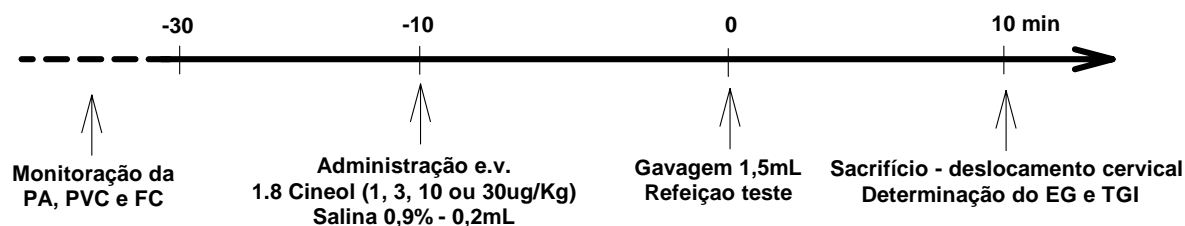


Figura 3.1.1 – Delineamento experimental do protocolo utilizado para construção da curva dose-resposta 1.8 cineol (1, 3, 10 e 30 μ g/Kg – e.v.) ou do diluente (salina 0,9% - e.v.) sobre a taxa de EG e trânsito GI de líquido em ratos acordados.

3.1.4.2. Curva de esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal (n=42)

Outro grupo de animais foi submetido à canulação da artéria carótida e da veia jugular, mantidos em jejum por 24 horas, mas com livre acesso à água. Tiveram a PA, a FC e a PVC monitoradas por 30min.

A seguir, administrou-se e.v. 1.8 cineol na dose de 3 μ g/kg, após 10 min os animais foram gavados, através de sonda orogástrica, com 1,5mL da refeição teste marcada com vermelho fenol.

Decorridos 10, 20 ou 30min da gavagem, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e então se procedeu laparotomia para retirada do estômago e intestinos e a realização do estudo do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrintestinal pelo método descrito acima.

Um grupo de ratos foi submetido aos mesmos procedimentos, os quais sofreram apenas administração de salina e.v., constituindo o grupo controle (Figura 3.1.2).

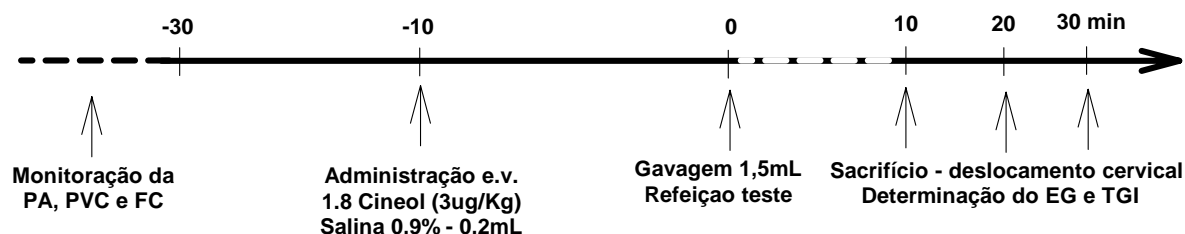


Figura 3.1.2 - Delineamento experimental do protocolo utilizado para construção da curva de esvaziamento gástrico após a administração e.v. de 1.8 cineol (3µg/Kg) ou do diluente (salina 0,9%) em ratos acordados.

3.1.4.3. Ação do OECN sobre o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal (n=15)

Outro grupo de animais foi submetido à canulação da artéria carótida e da veia jugular, mantidos em jejum por 24 horas, mas com livre acesso à água. Tiveram a PA, a FC e a PVC monitoradas por 30min.

A seguir, administrou-se e.v. OECN na dose de 3µg/kg, após 10 min os animais foram gavados, através de sonda orogástrica, com 1,5mL da refeição teste marcada com vermelho fenol.

Decorridos 10min da gavagem, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e então se procedeu laparotomia para retirada do estômago e intestinos e a realização do estudo do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrintestinal pelo método descrito acima.

Um grupo de ratos foi submetido aos mesmos procedimentos, os quais sofreram apenas administração de salina e.v., constituindo o grupo controle (Figura 3.1.3).

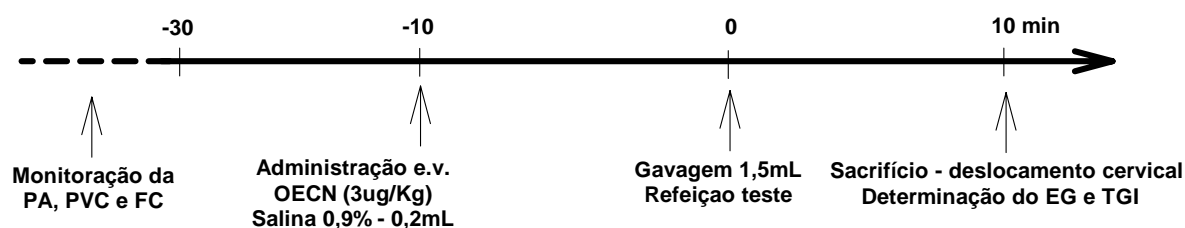


Figura 3.1.3 – Delineamento experimental do protocolo utilizado para estudo do efeito do OECN (3µg/Kg - e.v.) ou do diluente (salina 0,9% - e.v.) sobre a taxa de EG e trânsito GI de líquido em ratos acordados.

3.1.5. Participação de vias regulatórias do fenômeno.

Neste conjunto de experimentos, estudaram-se os animais submetidos aos pré-tratamentos cirúrgicos (denervação por esplancnotomia ou vagotomia subdiafragmática).

3.1.5.1. Esplancnotomia

Inicialmente, mantiveram-se os animais (n=11) desse sub-grupo em jejum, com livre acesso à água, por 16h. Sob anestesia inalatória com éter, realizou-se laparotomia mediana onde identificaram-se, com ajuda de lente de aumento de 10X, o glânglio celíaco e os nervos mesentéricos, os quais foram a seguir seccionados (Taché *et al.*, 1987), seguida de cauterização química com álcool a 100% e posterior síntese da parede abdominal. Nas 24h subsequentes, mantiveram-se os animais em caixas individuais sob jejum mas com livre acesso a solução de rehidratação oral (NaCl 3,5g, KCl 1,5g, Citrato de Sódio 2,9g e Glicose 20g/L). Doravante, o estudo do efeito do 1.8 cineol sobre o EG e trânsito GI seguiu o mesmo protocolo descrito anteriormente.

A seguir, administrou-se e.v. 1.8 cineol na dose de 3µg/kg, após 10 min os animais foram gavados, através de sonda orogástrica, com 1,5mL da refeição teste marcada com vermelho fenol. Decorridos 10min da gavagem, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e então se procedeu laparotomia para retirada do estômago e intestinos e a realização do estudo do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrintestinal pelo método descrito acima.

Um grupo de ratos foi submetido aos mesmos procedimentos, os quais sofreram apenas administração de salina e.v., constituindo o grupo controle (Figura 3.1.4).

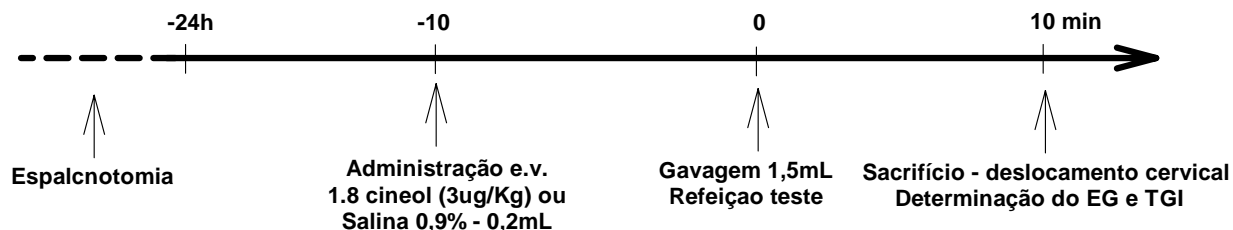


Figura 3.1.4 – Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito do 1.8 cineol (3 μ g/Kg) ou salina 0,9% sobre o EG o transito gastrointestinal de ratos acordados estudados 24h após esplancnctomia.

3.1.5.2. Vagotomia subdiafragmática

Inicialmente, mantiveram-se os animais (n=14) desse sub-grupo em jejum, com livre acesso à água, por 16h. Sob anestesia inalatória com éter, realizamos laparotomia mediana onde identificaram-se, com ajuda de lente de aumento de 10X, os troncos vagais anterior e posterior a nível do esôfago distal, os quais foram a seguir seccionados (Taché *et al.*, 1987), seguida de cauterização química com álcool a 100% e posterior síntese da parede abdominal. Nas 24h subsequentes, mantiveram-se os animais em caixas individuais sob jejum mas com livre acesso a solução de rehidratação oral (NaCl 3,5g, KCl 1,5g, Citrato de Sódio 2,9g e Glicose 20g/L). Doravante, o estudo do efeito do 1.8 cineol sobre o EG e trânsito GI seguiu o mesmo protocolo descrito anteriormente.

A seguir, administrou-se e.v. 1.8 cineol na dose de 3 μ g/kg, após 10 min os animais foram gavados, através de sonda orogástrica, com 1,5mL da refeição teste marcada com vermelho fenol. Decorridos 10min da gavagem, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e então se procedeu laparotomia para retirada do estômago e intestinos e a realização do estudo do esvaziamento gástrico e do trânsito gastrointestinal pelo método descrito acima.

Um grupo de ratos foi submetido aos mesmos procedimentos, os quais sofreram apenas administração de salina e.v., constituindo o grupo controle (Figura 3.1.5).

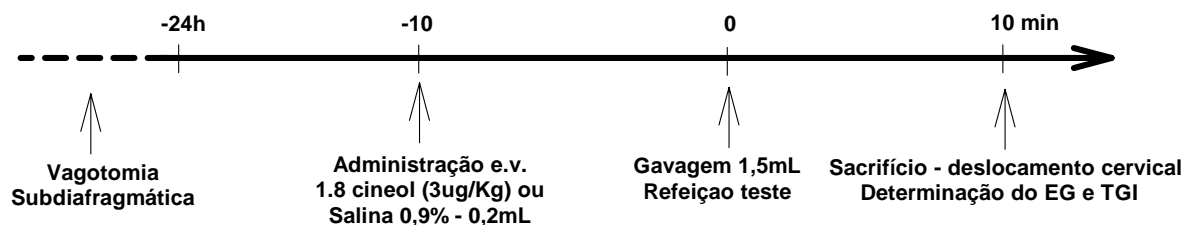


Figura 3.1.5 - Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito do 1.8 cineol (3µg/Kg) ou salina 0,9% sobre o EG e transito gastrointestinal de ratos acordados estudados 24h após vagotomia subdiafragmática.

3.1.5 - Análise estatística

Os valores relativos à retenção fracional do corante em cada segmento do TGI bem como os relativos à PA, PVC e FC, foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM).

A análise de variância “One-way ANOVA” seguida pelo teste “t” de *Student* foi usada para comparar as diferenças entre as taxas de retenção do corante nos diversos segmentos do tubo digestivo, bem como para comparar as diferenças entre a PA, PVC e FC dos diferentes grupos. Diferenças entre as médias foram tidas como significativas com valores de $p < 0,05$ (Bland, 1995).

3.2. Estudo II - Efeito do 1.8 cineol sobre a complacência gástrica de ratos anestesiados.

3.2.1. Procedimentos cirúrgicos.

Inicialmente acondicionaram-se os animais (n=15) - ratos Wistar machos pesando entre 250-300g - em gaiolas individuais e os mantivemos em jejum por 24h, mas com livre acesso a água até 2h horas antes dos experimentos.

Após anestesia com uretana (1,2g/kg, I.P.), submeteram-se os animais a traqueotomia, seguida da inserção de cânula traqueal, de modo a facilitar a ventilação espontânea. Em seguida, inserimos cânulas de polietileno (PE 50), plenas de solução salina 0,9% e heparina (500U/mL) na veia jugular e na artéria

carótida direitas. Destinamos a veia para administração de drogas ou veículo ou monitoração da PVC enquanto empregamos a artéria para registro da PA.

3.2.2. Medida do volume gástrico (VG)

Para a monitoração do volume gástrico, utilizamos o modelo pletismométrico que desenvolvemos e validamos (Graça *et al.*, 2000). Inicialmente introduzimos *per os*, com o auxílio de guia metálico, um catéter de polietileno (DE=2,0mm/DI=1,5mm) tendo na extremidade balão flácido de látex (volume ~ 4mL), o qual foi posicionado cuidadosamente no estômago proximal. Em seguida, conectamos a extremidade livre do catéter à base de um reservatório em "U" (DI= 2,5cm, capacidade máxima de 30mL). O reservatório, a sonda gástrica e o balão flácido foram então preenchidos com solução condutora padrão [45mg% de NaCl e 0,3mL% de polietilenoglicol (Imbebiente BBC Ornano®)] a 37°C.

Graças a este sistema de vasos comunicantes, variações no tônus gástrico capazes de modificar o volume líquido no balão e assim alterarem o conteúdo do reservatório, são detectadas por um sensor eletrônico de volume e registradas continuamente pelo pletismômetro (Ugo Basile®, Comerio, Itália). Dada a pressão constante do sistema, variações no tônus gástrico e por sua vez do VG, foram tidas como variações da complacência gástrica.

No início de cada experimento, o estômago foi submetido a distensão por uma pressão de 4cmH₂O mediante a elevação do nível líquido do reservatório até 4cm acima do apêndice xifóide do animal. A seguir, permitiu-se o livre equilíbrio das pressões no interior do sistema sendo anotado o volume resultante do reservatório, doravante chamado de VG inicial (em ml). As variações subseqüentes foram monitoradas continuamente, as quais acrescidas do valor do VG inicial e anotados manualmente a cada 30s foram expressas em mL.

3.2.3. Monitoração dos parâmetros hemodinâmicos

As monitorações da PA, PVC e da FC foram obtidas pela conexão das cânulas areterial e venosa a transdutores de pressão, os quais estiveram acoplados a um sistema de aquisição de sinais biológicos (PowerLab- A

DIInstrumesnts®) com registro contínuo em microcomputador ao longo de todo o período experimental

3.2.4. Protocolos experimentais

Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram mantidos em repouso por 30min para a estabilização das parâmetros hemodinâmicas. Todos os animais foram monitorados por um período total de pelo menos 60min, sendo os 20min iniciais de monitoração considerados como período Basal. A seguir, os animais foram distribuídos em um dos protocolos experimentais seguintes:

3.2.4.1. Efeito do 1.8 cineol sobre o VG, PA, PVC e FC

Após o período basal, os animais receberam injeção e.v. de 1.8 cineol (1 ou 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ - $n=11$) ou veículo (salina 0,9% - $n=5$). Os valores de VG, PA, PVC e FC obtidos nos 60min finais foram agrupados em 6 (seis) intervalos iguais e consecutivos de 10min (Figura 3.2.1).

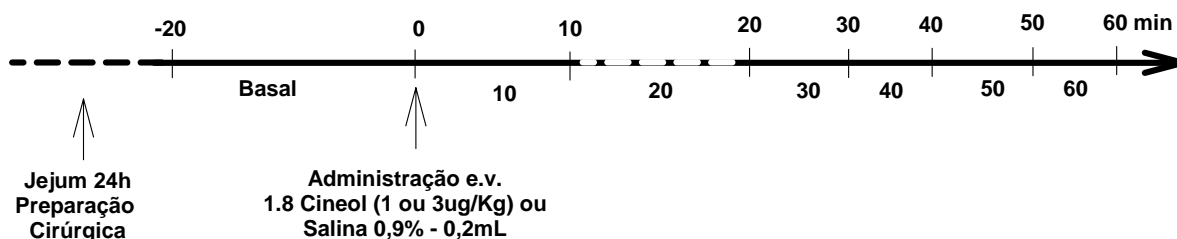


Figura 3.2.1 – Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito do sildenafil ou veículo sobre o VG, PA, PVC e FC de ratos anestesiados.

3.2.5 - Avaliação experimental

Ao final de cada experimento, todos os animais sofreram, ainda em plano anestésico, laparotomia mediana para inspeção do posicionamento do balão, sendo a seguir sacrificados por injeção e.v. de solução concentrada de KCl. Descartamos os dados obtidos de animais com localização anômala do balão.

3.2.6 - Análise estatística

Os valores individuais do VG e da PA dos diversos grupos experimentais estão expressos no texto na forma de média \pm EPM. A análise de variância (“One way – ANOVA”) seguida do teste ‘t’ de Student foi usada para comparar as diferenças entre as médias dos diversos períodos experimentais, bem como entre os grupos estudados. Diferenças com $p < 0,05$ foram tidas como significativas (Bland, 1995).

4- Resultados

2.1.6 – Resultados de EG e trânsito GI

Na figura 3.1.6 observou-se o efeito do 1.8 cineol sobre a retenção gástrica da refeição teste. Observou-se aumento da retenção gástrica ($p < 0,05$) de $43,9 \pm 3,4\%$ (grupo controle salina) para $54,9 \pm 4,7$; $61,3 \pm 3,3$; $56,2 \pm 1,7$ e $55,8 \pm 2,1\%$ nos animais tratados com 1.8 cineol nas dose de 1, 3, 10 e 30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, respectivamente sacrificados 10 min após a gavagem.

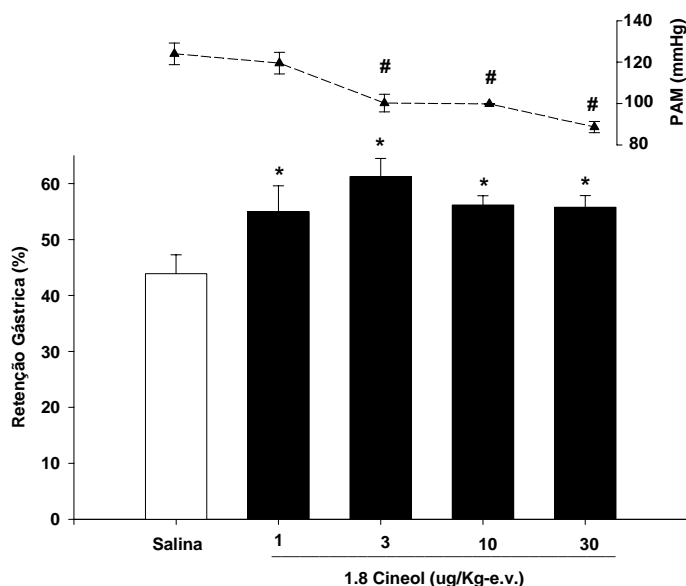


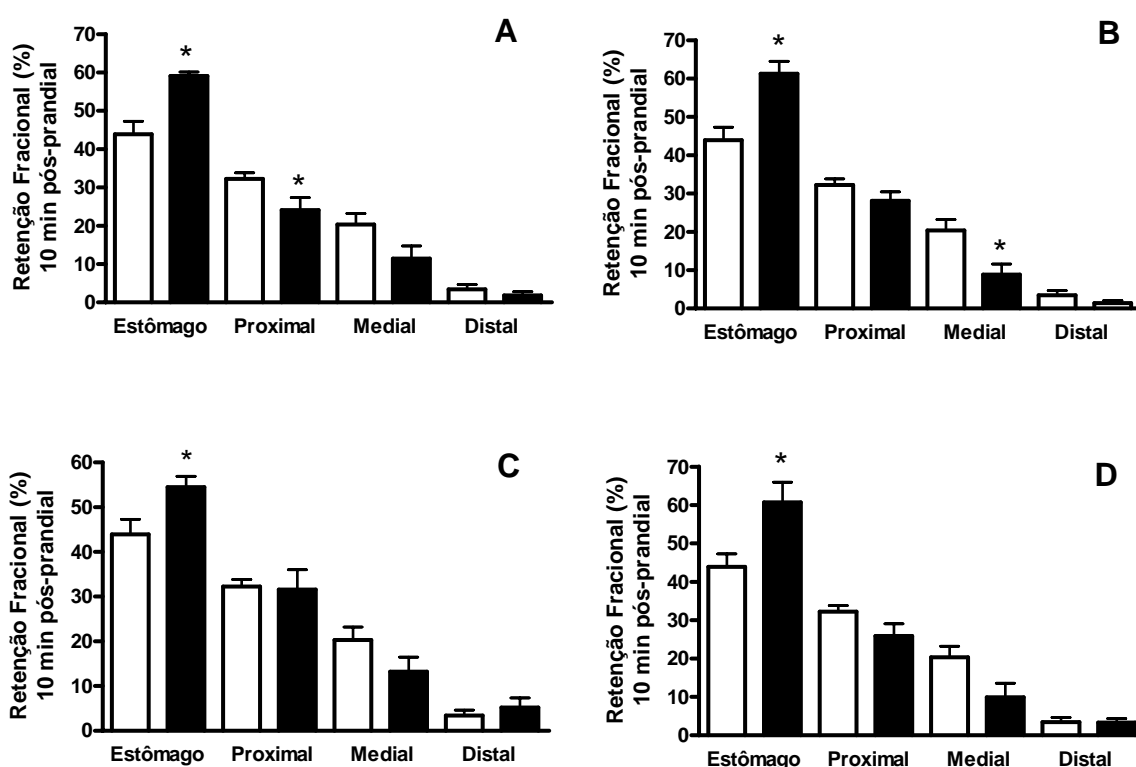
Figura 3.1.6 – Pressão arterial média e retenção gástrica fracional da refeição teste em ratos acordados tratados com 1.8 cineol ou salina, sacrificados 10min pós-prandial.

Os animais receberam injeção e.v (0,2ml) de 1.8 cineol (1, 3, 10 ou 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ - ■ - n=54) ou placebo (salina 0,9% - □ - n=8).

Depois de 10min, os animais foram gavados com 1,5mL da refeição teste (0,5mg/ml de vermelho fenol em solução glicosada 5%) e sacrificados aos 10min pós-prandiais. O percentual (%) da recuperação do corante no estômago em relação ao total, foi determinado por

espectrofotometria (560nm). Cada grupo consiste de 5–10 animais, sendo os resultados de retenção gástrica (%) apresentados como média±EPM na forma de histograma. PAM, pressão arterial média ± erro padrão da média. As linhas verticais indicam o erro padrão da media. *, $p < 0,05$ para os valores de retenção gástrica (ANOVA seguida do teste 't' de Student).

Ainda na figura 3.1.6, observou-se que o 1.8 cineol induziu diminuição ($p < 0,05$) da PA em relação ao período basal (de $124 \pm 5,2$ para



$119 \pm 5,2$; $100,2 \pm 4,3$; $99,8 \pm 0,5$ e $88,6 \pm 2,7$ mmHg) nas doses de 1, 3, 10 e 30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Este efeito foi, entretanto, fugaz, para a dose de 1 e 3 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ em relação ao período basal, entretanto nas doses de 10 e 30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, os animais não apresentaram recuperação da PA.

Figura 3.1.7 – Recuperação fracional do corante no estômago e intestino delgado (porções proximal, medial e distal) de ratos tratados com 1.8 cineol (■) ou salina (□) e estudados aos 10 min pós-prandiais.

Inicialmente, os animais foram tratados (0,2ml, e.v.) com 1.8 cineol (1, 3, 10 ou 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$; $n=8$, $n=7$, $n=9$ e $n=5$; Box A, B, C e D, respectivamente) ou salina 0,9%

(n=8). Após 10min foram alimentados com 1,5mL de solução de glicose a 5% + vermelho fenol (0.5mg/mL) e sacrificados após 10min. A recuperação fracional de corante em cada segmento foi obtida por espectrofotometria (560nm), sendo o valor médio da retenção expresso na forma de barras verticais e o erro padrão da média como linhas verticais. *, $P < 0,05$ entre valores do grupo 1.8 cineol vs diluente (ANOVA e teste "t" de Student).

A figura 3.1.7 mostra a retenção fracional de corante ao longo do trato gastrintestinal dos animais tratados com 1.8 cineol (1, 3, 10 ou 30 μ g/Kg) ou salina, sacrificados aos 10min pós-prandiais. No painel A, observamos a retenção fracional de corante no estômago e nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais tratados com 1.8 cineol 1 μ g/Kg ou salina 0,9%. O tratamento com 1.8 cineol (n=6) aumentou significativamente a retenção gástrica (59,1 \pm 1,1 vs 43,9 \pm 3,4) enquanto diminui ($p < 0,05$) a retenção no segmento proximal do intestino delgado (24,1 \pm 3,3 vs 32,3 \pm 1,6%) quando comparamos aos animais que receberam tratamento com salina (n=6). Por outro lado, não houve diferença na retenção de corante nos segmentos medial e distal do intestino delgado, entre os animais do grupo tratado e controle (11,4 \pm 3,3 vs 20,3 \pm 2,9 e 1,8 \pm 0,9 vs 3,4 \pm 1,2, respectivamente).

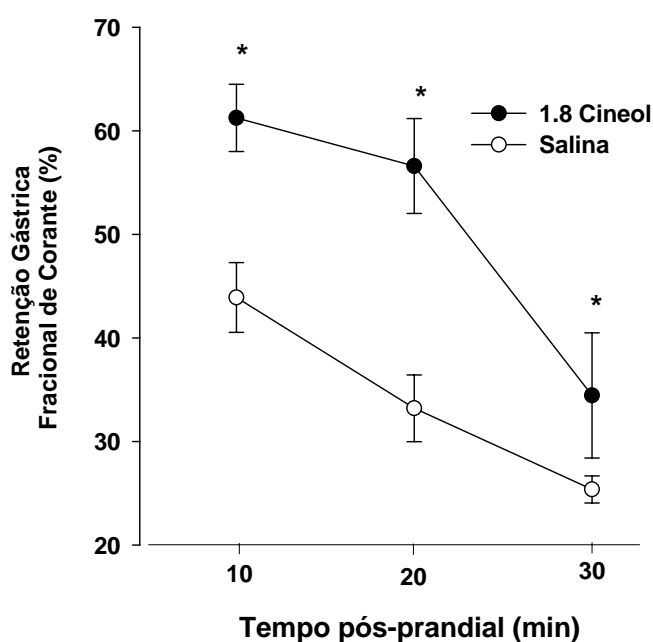
Já no painel C, observou-se a retenção fracional de corante no estômago e nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais tratados com 1.8 cineol 10 μ g/Kg (n=6) ou salina 0,9% (n=9). Podemos observar que o tratamento com 1.8 cineol aumentou significativamente a retenção gástrica (54,5 \pm 2,4 vs 43,9 \pm 3,4%). Por outro lado, não modificou a retenção de corante nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais do grupo tratado vs controle (31,6 \pm 4,4 vs 32,2 \pm 1,6; 13,2 \pm 3,2 vs 20,3 \pm 2,9 e 5,2 \pm 2,2 vs 3,4 \pm 1,2, respectivamente).

No painel D, observou-se a retenção fracional de corante no estômago e nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais tratados com 1.8 cineol 30 μ g/Kg (n=5) ou salina 0,9% (n=6). Podemos observar que o tratamento com 1.8 cineol aumentou significativamente a retenção gástrica (60,7 \pm 5,2 vs 43,9 \pm 3,4%). Por outro lado, não modificou a retenção de corante nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado

dos animais do grupo tratado vs controle ($25,9\pm 3,2$ vs $32,3\pm 1,6$; $9,9\pm 3,7$ vs $20,3\pm 2,9$ e $3,3\pm 1,1$ vs $3,4\pm 1,2$, respectivamente).

Na figura 3.1.8 observou-se o efeito do 1.8 cineol ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$) ou salina sobre a retenção gástrica da refeição nos animais sacrificados aos 10, 20 ou 30min pós-prandiais. Em relação aos animais tratados com salina a injeção e.v. de 1.8 cineol promoveu aumento ($p<0,05$) da retenção gástrica de $59,1\pm 1,1$ para $43,9\pm 3,4\%$; de $56,6\pm 4,6$ para $33,2\pm 3,2\%$ e de $34,5\pm 6,1$ para $25,4\pm 1,3\%$, nos animais sacrificados aos 10, 20 ou 30min, respectivamente.

Figura 3.1.8 – Retenção gástrica fracional da refeição teste em ratos acordados



tratados com 1.8 cineol ou salina, sacrificados aos 10, 20 ou 30min pós-prandial.

Os animais receberam aleatoriamente injeção e.v (0,2ml) de 1.8 cineol ($3\mu\text{g}/\text{kg}$) ou salina 0,9%. Depois de 10min, os animais foram gavados com 1,5mL da refeição teste (0,5mg/ml de vermelho fenol em solução glicosada 5%) e sacrificados aos 10, 20, ou 30min pós-prandiais, $n=16$, $n=15$ e $n=12$,

respectivamente. O percentual (%) da recuperação do corante no estômago em relação ao total recuperado em todo o TGI, foi determinado por espectrofotometria (560nm). Cada grupo consiste de 5–10 animais, sendo os resultados apresentados como média \pm EPM. Os valores de retenção gástrica dos animais tratados com 1.8 cineol estão indicados por círculos cheios (●), já os

valores de retenção gástrica dos animais controle estão indicados por círculos vazios (○), respectivamente. As linhas verticais indicam o erro padrão da media. *, $p < 0,05$ (ANOVA seguida do teste “t” de Student).

A figura 3.1.9 mostra a retenção fracional de corante ao longo do trato gastrintestestinal dos animais tratados com 1.8 cineol ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$) ou salina, sacrificados aos 10, 20 ou 30min pós-prandiais. No painel A, observou-se a retenção fracional de corante no estômago e nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais sacrificados aos 10min após a gavagem.

Observou-se, no painel A, que o tratamento com 1.8 cineol ($n=7$) aumentou significativamente a retenção gástrica ($61,3\pm 3,3$ vs $43,9\pm 3,4\%$) enquanto diminui ($p < 0,05$) a retenção no segmento medial do intestino delgado ($8,9\pm 2,7$ vs $20,1\pm 2,9$ e $1,4\pm 0,7$ vs $3,4\pm 1,2\%$, respectivamente) quando comparamos aos animais que receberam tratamento com salina. Por outro lado, não houve diferença na retenção de corante no segmento proximal e distal do intestino delgado, entre os animais do grupo tratado e controle ($28,1\pm 2,4$ vs $32,3\pm 1,6\%$).

No painel B, observou-se a retenção fracional de corante no estômago e nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais sacrificados aos 20min após a gavagem. Podemos observar que o tratamento com 1.8 cineol ($n=9$) aumentou significativamente a retenção gástrica ($53,4\pm 2,6$ vs $32,2\pm 3,2\%$) enquanto diminui ($p < 0,05$) a retenção no segmento medial do intestino delgado ($24,8\pm 4,9$ vs $38,3\pm 6,4\%$) quando comparamos aos animais que receberam tratamento com salina ($n=7$). Por outro lado, não houve diferença na retenção de corante nos segmentos proximal e distal do intestino delgado, entre os animais do grupo tratado e controle ($21,3\pm 4,1$ vs $24,4\pm 4,6$ e $0,5\pm 0,2$ vs $4,0\pm 1,6\%$, respectivamente).

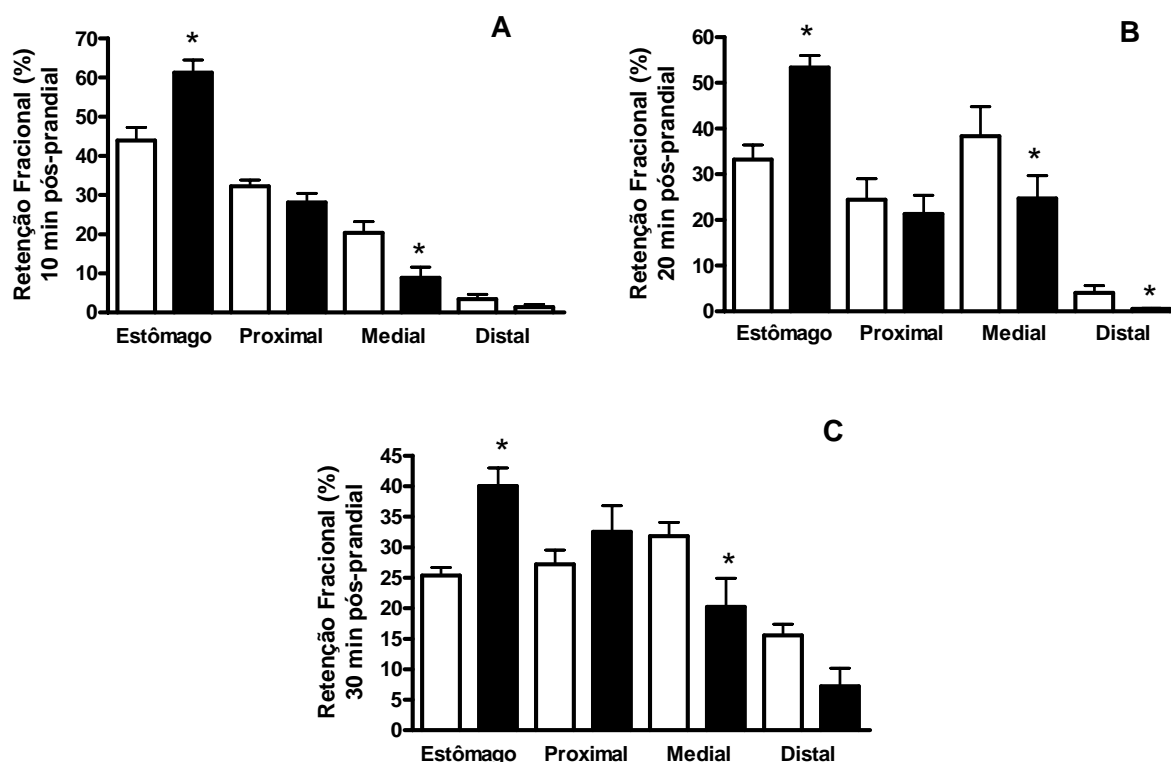


Figura 3.1.9 – Recuperação fracional do corante no estômago e intestino delgado (porções proximal, medial e distal) de ratos tratados com 1.8 cineol (■) ou salina (□) e estudados aos 10, 20 ou 30min pós-prandiais.

Inicialmente, os animais foram tratados (0,2ml, e.v.) com 1.8 cineol (3 μ g/kg) ou salina 0,9%. Após 10min foram alimentados com 1,5mL de solução de glicose a 5% + vermelho fenol (0.5mg/mL) e sacrificados após 10 (box A, n=16), 20 (box B, n=15) ou 30min (box C, n=12). A recuperação fracional de corante em cada segmento foi obtida por espectrofotometria (560nm), sendo o valor médio da retenção expresso na forma de barras verticais e o erro padrão da média como linhas verticais. *, $P < 0,05$ entre valores do grupo 1.8 cineol vs salina (ANOVA e teste “t” de Student).

Já no painel C, observamos a retenção fracional de corante no estômago e nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais sacrificados aos 30min após a gavagem. Podemos observar que o tratamento com 1.8 cineol (n=6) aumentou significativamente a retenção gástrica (40,0 \pm 3,0 vs 25,4 \pm 1,3%) enquanto diminui ($p < 0,05$) a retenção no segmento medial do intestino delgado (20,2 \pm 4,7 vs 31,8 \pm 2,2%) quando comparamos aos animais que receberam tratamento com salina (n=7). Por outro lado, não houve

diferença na retenção de corante nos segmentos proximal e distal do intestino delgado, entre os animais do grupo tratado e controle ($32,5 \pm 4,3$ vs $27,2 \pm 2,3$ e $7,2 \pm 3,0$ vs $15,5 \pm 1,9\%$, respectivamente).

A figura 3.1.10 mostra a retenção fracional de corante ao longo do trato gastrointestinal dos animais tratados com OECN ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$) ou salina, sacrificados aos 10min pós-prandiais. Observamos a retenção fracional de corante no estômago e nos segmentos proximal, medial e distal do intestino delgado dos animais tratados com OECN ou salina 0,9%. O tratamento com OECN ($n=7$) aumentou significativamente a retenção gástrica ($53,1 \pm 2,4$ vs $43,9 \pm 3,4$) enquanto diminui ($p < 0,05$) a retenção no segmento proximal do intestino delgado ($24,3 \pm 3,9$ vs $32,3 \pm 1,6\%$) quando comparamos aos animais que receberam tratamento com salina ($n=6$). Por outro lado, não houve diferença na retenção de corante nos segmentos medial e distal do intestino delgado, entre os animais do grupo tratado e controle ($16,8 \pm 4,0$ vs $20,3 \pm 2,9$ e $5,7 \pm 2,0$ vs $3,4 \pm 1,2$, respectivamente).

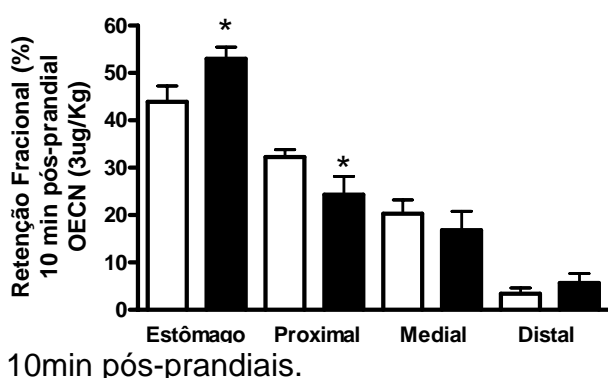


Figura 3.1.10 – Recuperação fracional do corante no estômago e intestino delgado (porções proximal, medial e distal) de ratos tratados com OECN (■, $n=7$) ou salina (□, $n=8$) e estudados aos

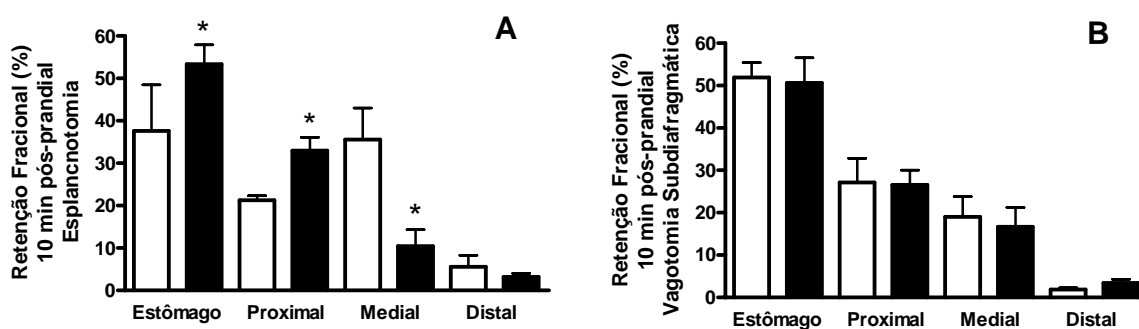
10min pós-prandiais. Inicialmente, os animais foram tratados (0,2ml, e.v.) com OECN($3\mu\text{g}/\text{kg}$) ou salina 0,9%. Após 10min foram alimentados com 1,5mL de solução de glicose a 5% + vermelho fenol (0.5mg/mL) e sacrificados após 10min. A recuperação fracional de corante em cada segmento foi obtida por espectrofotometria (560nm), sendo o valor médio da retenção expresso na forma de barras verticais e o erro padrão da média como linhas verticais. *, $P < 0,05$ entre valores do grupo OECN vs salina (ANOVA e teste “t” de Student).

Na figura 3.1.11 observou-se o efeito do pré-tratamento cirúrgico pela esplacnotomia (painel A) ou vagotomia subdiafragmática (painel B) sobre o

aumento da retenção gástrica e retarde do trânsito gastrointestinal advindos do tratamento com 1.8 cineol.

Observou-se no painel A, animais pré-tratados com esplanctomia, que o tratamento com 1.8 cineol (n=7) aumentou significativamente a retenção gástrica ($53,4\pm 4,6$ vs $37,6\pm 10,9\%$) e a retenção no segmento proximal do intestino delgado ($35,5\pm 7,4$ vs $10,4\pm 3,9\%$), enquanto diminui a retenção no segmento medial ($10,4\pm 3,9$ vs $35,6\pm 7,4\%$) em relação aos animais do grupo controle (salina 0,9% - n=4). Por outro lado, não houve diferença na retenção de corante no segmento distal do intestino delgado, entre os animais do grupo tratado e controle ($3,2\pm 0,8$ vs $5,6\pm 2,7\%$).

Figura 3.1.11 - Efeito do pré-tratamento cirúrgico (esplanctomia ou vagotomia



subdiafragmática) sobre a pressão arterial média (PA, em mmHg) e o volume gástrico (VG, em mL) em ratos anestesiados e tratados com sildenafil.

Os animais sob jejum de 24h e previamente submetidos à esplanctomia (painel A – n=11) ou vagotomia subdiafragmática (painel B – n=14), receberam injeção e.v. de 1.8 cineol ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$ - ■) ou salina (□), após 10min foram sacrificados. A recuperação fracional de corante em cada segmento foi obtida por espectrofotometria (560nm), sendo o valor médio da retenção expresso na forma de barras verticais e o erro padrão da média como linhas verticais. *, $P < 0,05$ entre valores do grupo OECN vs salina (ANOVA e teste “t” de Student).

Observamos no painel B, animais pré-tratados com vagotomia subdiafragmática, que o tratamento com 1.8 cineol (n=9) não modifica ($p > 0,05$) a retenção gástrica ($50,6\pm 5,9$ vs $51,9\pm 3,5\%$) bem como a retenção nos segmentos proximal ($26,6\pm 3,4$ vs $27,1\pm 5,6\%$), medial ($16,7\pm 4,6$ vs $19,0\pm 4,8\%$) e distal

($3,4\pm 0,9$ vs $1,9\pm 0,4\%$) do intestino delgado, quando comparamos esses valores aos animais tratados somente com salina 0,9% (n=5).

3.2.7 – Resultados de complacência gástrica

A figura 3.2.2 mostra as variações do volume gástrico (VG), da pressão arterial (PA), da pressão venosa central (PVC) e da frequência cardíaca (FC) secundárias à injeção e.v. de 1.8 cineol ($1\mu\text{g}/\text{Kg}$).

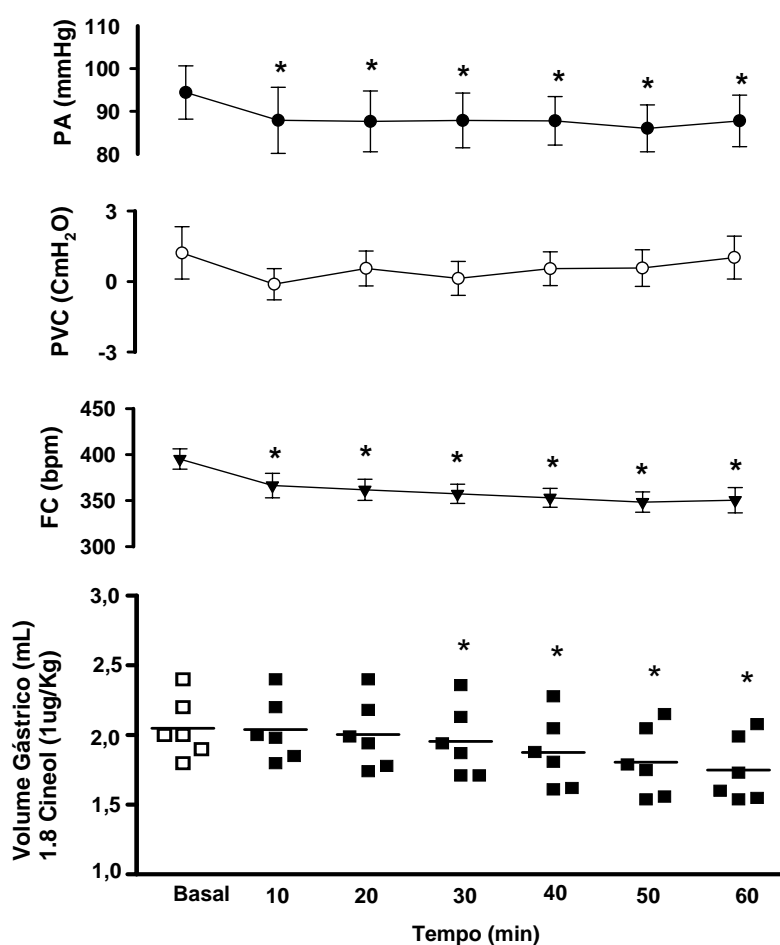


Figura 3.2.2. Efeitos do 1.8 cineol sobre a pressão arterial (PA, em mmHg), a pressão venosa central (PVC, em CmH_2O), frequência cardíaca (FC, em bpm) e volume gástrico (VG, em mL) de ratos anestesiados.

Após um período basal de 20min, tratamos os animais 1.8 cineol ($1\mu\text{g}/\text{Kg}$, n=6). Os valores de VG, PA, PVC e FC monitorados nos 60min subsequentes foram agrupados em seis intervalos consecutivos de 10min (10, 20, 30, 40, 50 e 60, respectivamente). Os círculos fechados e abertos e os triângulos fechados e as linhas verticais representam a média \pm EPM da PA, da PVC e da FC respectivamente. *, $P<0,05$ vs período basal (ANOVA e teste de Dunnett).

Podemos observar diminuição do volume gástrico, o qual foi significativo aos 30, 40, 50 e 60min após o tratamento com 1.8 Cineol quando

comparado ao valor basal ($2,0\pm 0,1$; $1,9\pm 0,1$; $1,8\pm 0,1$ e $1,7\pm 0,1$ mL, vs $2,1\pm 0,2$ mL). A PA apresentou queda significativa após a administração de 1.8 cineol, mantendo-se assim durante os 60min de monitoração ($87,9\pm 7,7$; $87,6\pm 7,1$; $87,9\pm 6,4$; $87,8\pm 5,7$; $86,0\pm 5,5$ e $87,7\pm 6,0$ mmHg, respectivamente vs $94,4\pm 6,2$; mmHg), bem como a FC ($366,3\pm 13,4$; $361,7\pm 11,5$; $357,3\pm 10,4$; $353,0\pm 10,4$; $348,3\pm 11,1$ e $350,4\pm 13,7$ bpm respectivamente vs $395,2\pm 11,1$ bpm). Já a PVC não sofreu variações significativas durante após o tratamento com 1.8 cineol ($-0,1\pm 0,7$; $0,6\pm 0,7$; $0,1\pm 0,7$; $0,5\pm 0,7$; $0,6\pm 0,8$ e $1,0\pm 0,9$ CmH₂O, respectivamente vs $1,2\pm 1,1$ CmH₂O).

A figura 3.2.3 mostra as variações do volume gástrico (VG), da pressão arterial (PA), da pressão venosa central (PVC) e da freqüência cardíaca (FC) secundárias à injeção e.v. de 1.8 cineol ($3\mu\text{g/Kg}$).

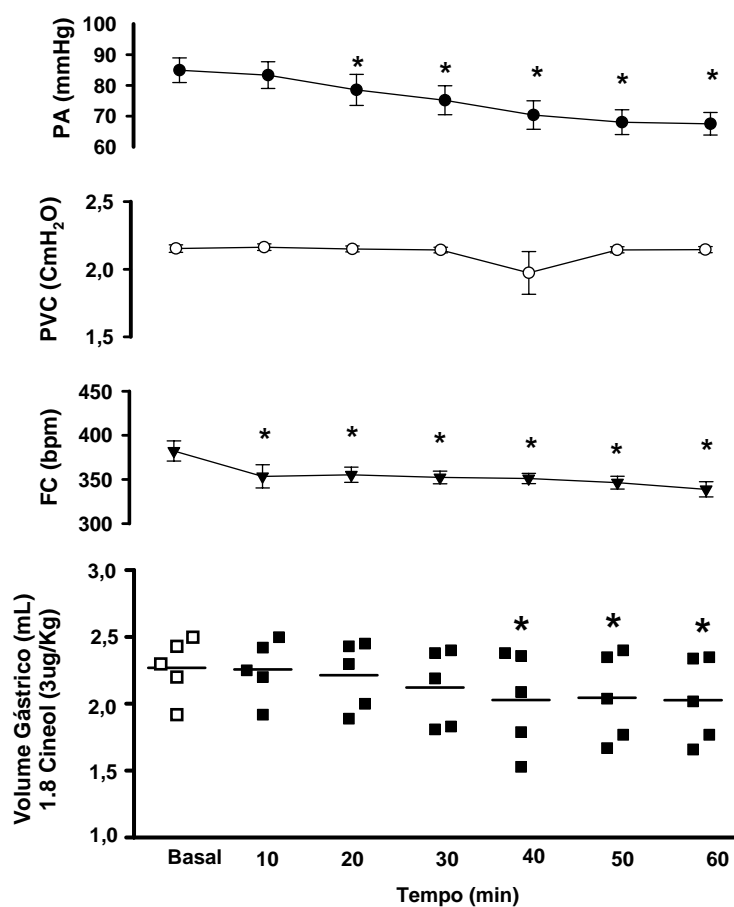


Figura 3.2.3. Efeitos do 1.8 cineol sobre a pressão arterial (PA, em mmHg), a pressão venosa central (PVC, em CmH₂O), freqüência cardíaca (FC, em bpm) e volume gástrico (VG, em mL) de ratos anestesiados.

Após um período basal de 20min, tratamos os animais 1.8 cineol ($3\mu\text{g/Kg}$, $n=6$). Os valores de VG, PA, PVC e FC monitorados nos 60min subsequentes foram agrupados em seis intervalos consecutivos de 10min (10, 20, 30, 40, 50 e 60, respectivamente). Os círculos fechados e abertos e os triângulos fechados e as linhas verticais

representam a média±EPM da PA, da PVC e da FC respectivamente. *, $P < 0,05$ vs período basal (ANOVA e teste de Dunnett).

Podemos observar diminuição do volume gástrico, o qual foi significativo aos 30, 40, 50 e 60min após o tratamento com 1.8 Cineol quando comparado ao valor basal ($2,0 \pm 0,2$; $2,0 \pm 0,1$ e $2,0 \pm 0,1$ mL, vs $2,3 \pm 0,1$ mL). A PA apresentou queda significativa após a administração de 1.8 cineol, mantendo-se assim durante os 60min de monitoração ($83,4 \pm 4,4$; $78,5 \pm 5,0$; $75,2 \pm 4,7$; $70,4 \pm 4,6$; $68,0 \pm 4,0$ e $67,5 \pm 3,7$ respectivamente vs $85,0 \pm 4,0$; mmHg), bem como a FC ($353,5 \pm 13,2$; $355,3 \pm 8,7$; $352,3 \pm 7,1$; $351,0 \pm 5,7$; $346,3 \pm 7,3$ e $338,8 \pm 8,6$ bpm respectivamente vs $382,3 \pm 11,4$ bpm). Já a PVC não sofreu variações significativas durante após o tratamento com 1.8 cineol ($2,2 \pm 0,1$; $2,2 \pm 0,1$; $2,1 \pm 0,1$; $2,0 \pm 0,1$; $2,1 \pm 0,1$ e $2,1 \pm 0,1$ CmH₂O, respectivamente vs $2,2 \pm 0,1$ CmH₂O).

A figura 3.2.4 mostra as variações do volume gástrico (VG), da pressão arterial (PA), da pressão venosa central (PVC) e da frequência cardíaca (FC) secundárias à injeção e.v. de salina 0,9%.

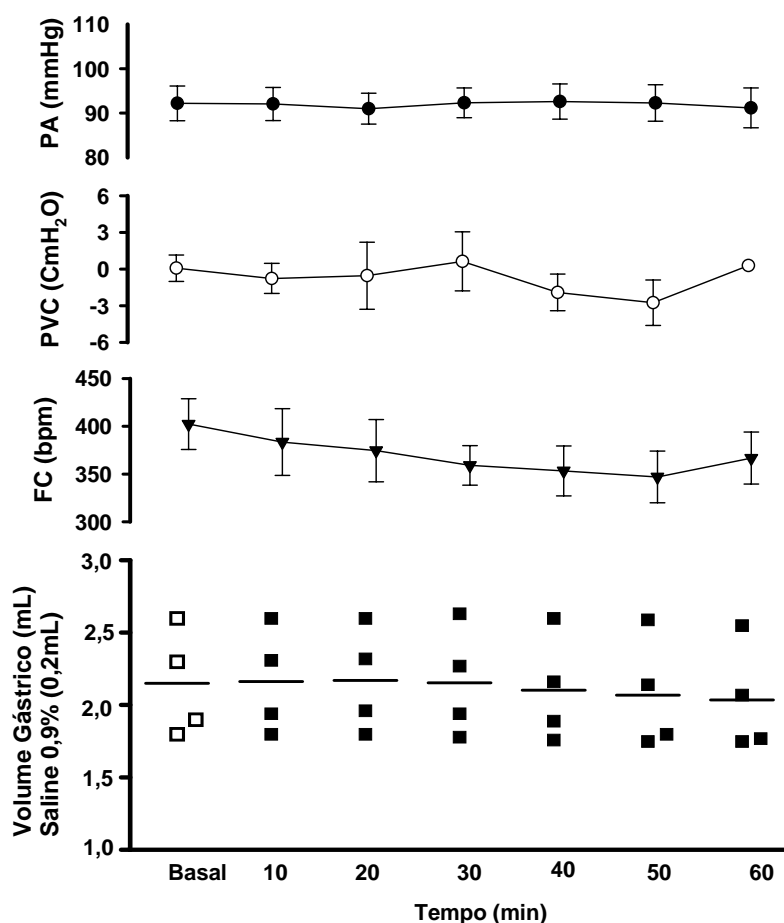


Figura 3.2.4. Efeitos do 1.8 cineol sobre a pressão arterial (PA, em mmHg), a pressão venosa central (PVC, em CmH₂O), frequência cardíaca (FC, em bpm) e volume gástrico (VG, em mL) de ratos anestesiados.

Após um período basal de 20min, tratamos os animais com salina 0,9% (0,2mL e.v. - n=4). Os valores de VG, PA, PVC e FC monitorados nos 60min

subseqüentes foram agrupados em seis intervalos consecutivos de 10min (10, 20, 30, 40, 50 e 60, respectivamente). Os círculos fechados e abertos e os triângulos fechados e as linhas verticais representam a média±EPM da PA, da PVC e da FC respectivamente. Experimental vs período basal (ANOVA e teste de Dunnett).

Podemos observar as variações espontâneas do volume gástrico, as quais não foram significativas ao longo dos 60min de observação ($2,2\pm0,2$; $2,2\pm0,2$; $2,2\pm0,2$; $2,1\pm0,2$; $2,1\pm0,2$ e $2,0\pm0,2$ vs $2,2\pm0,2$ mL). A PA, a PVC e a FC não apresentaram alterações significativas ao longo dos 60min de observação ($92,2\pm3,9$; $92,1\pm3,7$; $91,0\pm3,5$; $92,3\pm3,4$; $92,6\pm4,0$; $92,3\pm4,1$ e $91,2\pm4,5$ mmHg), ($0,1\pm1,1$; $-0,8\pm1,2$; $-0,6\pm2,7$; $0,6\pm2,4$; $-1,9\pm1,5$; $-2,8\pm1,9$ e $0,3\pm0,0$ CmH₂O) e ($402,3\pm26,6$; $383,5\pm34,9$; $374,5\pm32,5$; $359,0\pm20,6$; $353,3\pm26,0$; $347,0\pm27,1$ e $366,7\pm27,2$ bpm) respectivamente.

4.DISCUSSÃO

Observou-se que a administração e.v. de 1.8 cineol: i) retarda o esvaziamento gástrico (EG) e o trânsito gastrintestinal (GI) de líquido e diminui transitoriamente a pressão arterial em ratos acordados; além de ii) diminuir a complacência gástrica, a pressão arterial, a frequência cardíaca de ratos anestesiados, de forma dose dependente, entretanto não modifica a pressão venosa central desses animais.

Os efeitos do 1.8 cineol sobre o EG e o trânsito GI se iniciaram cerca de 10min após a administração e.v. e assim se mantiveram por pelo menos 40min após o tratamento. Os resultados também mostram que o OECN, óleo essencial do *Croton nepetaefolius* retarda o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal de líquidos em ratos acordados.

A PA, a FC e a PVC foram monitoradas de forma contínua, sendo descontinuada apenas por ocasião da gavagem. Para tanto, utilizamos um sistema para aquisição e registro de dados em microcomputador (PowerLab-ADInstruments®), considerado padrão pela literatura. Os resultados basais de pressão arterial são semelhantes aos obtidos por outros autores (Cardoso *et al.*, 2005). O 1.8 cineol produziu fugaz efeito hipotensor, tendo a PA retornado a níveis similares aos basais logo após 10min do tratamento, semelhante ao observado por outros autores (Lahlou *et al.*, 2000).

Empregou-se nos estudos de EG e de trânsito GI uma metodologia baseada na retenção fracional de corante, o vermelho-fenol (Hunt, 1951; Reynel e Spray, 1956). Esta técnica está bem estabelecida na literatura (Sharma, 1985), e é extensivamente utilizada em nosso laboratório (Rego *et al.*, 1998; Gondim *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2002 e Camurça *et al.*, 2004).

Este método se presta à avaliação da motilidade gastrintestinal, sendo bastante eficaz para estudos de EG e trânsito GI. Ainda que implique em gavagem da refeição, o fato de poder ser utilizado em animais acordados é vantagem adicional, ao evitar o eventual efeito da anestesia sobre as funções autonômicas, minimizando estas interferências nas condições dos animais (Bueno *et al.*, 1978). Vale salientar que os índices de motilidade gastrintestinal, isto é as taxas de retenção fracional do corante no estômago e no intestino,

obtidos em ratos tratados somente com diluente são similares aos descritos por outros autores (Ronsini *et al.*, 2000; Collares *et al.*, 2003).

A despeito da metodologia empregue utilizar um corante sensível a pH (Almeida *et al.*, 2005), estudos do nosso grupo, demonstraram que animais pré-tratados com omeprazol (bloqueador da secreção ácida estomacal), não interfere sobre a metodologia utilizada (Rosalmeida *et al.*, 2003 e Graça, 2005).

O *Croton nepetaefolius* se tornou bastante conhecido devido a sua aplicação pela medicina popular na terapêutica de distúrbios do trato gastrointestinal (Craveiro *et al.*, 1981). O principal componente isolado e ativo desta planta é o OEEN e um dos seus componentes é o 1,8 cineol. Em estudos *in vitro* o 1.8 cineol apresenta efeito miorelaxante sobre a musculatura lisa gastrointestinal, o que provavelmente justifica o emprego desta planta pela medicina popular, entretanto os mecanismos de ação deste óleo ainda não estão bem estabelecidos (Magalhães, 1997).

Anormalidades da função sensória e motora do estômago são consideradas as chaves da patogenia e dos sintomas gastrintestinais altos, como dispepsia funcional e gastroparesia, bem como distúrbios de hipersensibilidade visceral (Tack, 2005). Gastroparesia diabética ou secundária à insuficiência renal, são problemas relacionados a estes distúrbios e estão ligados à capacidade acomodativa do estômago (Marshall, 1998; Watkins *et al.*, 2000; Bianco *et al.*, 2002; Dishy *et al.*, 2004). O *Croton nepetaefolius* apresenta a propriedade de relaxamento da musculatura lisa intestinal, promovendo melhor acomodação/distribuição da refeição ao longo do TGI.

Os resultados de retarde no EG e no trânsito GI são compatíveis com os encontrados por Magalhães e colaboradores (1997; 1998 e 2004) indicando que o OEEN e 1.8 cineol diminuem o tanto o trânsito gastrointestinal em camundongos como relaxam a musculatura lisa intestinal de cobaias.

Segundo a interpretação prevalente dos especialistas, o retarde no esvaziamento gástrico de líquido, tal como provocado pelo OEEN e 1.8 cineol, deve advir do menor tônus do estômago proximal (Kelly, 1980) e/ou da maior resistência antroduodenal ao fluxo de líquido, chamado de “freio duodenal”(Weisbrodt, 2001).

O estômago, por intervenção das suas porções proximal e distal, pode determinar diferentes padrões de EG para variados tipos e composições de refeições (Rao e Schulze-Delrieu, 1993). O segmento proximal funciona como reservatório, capaz de acomodar a refeição enquanto as contrações fásicas do antro e corpo provem o gradiente de pressão para mistura dos conteúdos intraluminais, auxiliando na propulsão do conteúdo gástrico para o duodeno (Rao e Schulze-Delrieu, 1993 e Weisbrodt, 2001).

No presente estudo, na tentativa de avaliar o efeito do 1.8 cineol sobre a motilidade gástrica, utilizou-se um sistema pletismométrico para monitorar continuamente as variações do volume gástrico em ratos anestesiados. Além de efeito hipotensor e bradicárdico, verificou-se que o 1.8 cineol é capaz de aumentar, de forma dose dependente e sustentada, o tônus da musculatura lisa do estômago, diminuindo, portanto, a complacência gástrica de ratos anestesiados.

Tal sistema, previamente desenvolvido e validado por Graça e colaboradores (2000), se mostra, segundo Souza e colaboradores (2003), adequado para monitorar continuamente as variações do tônus do estômago (em especial das porções proximais, o fundo e o terço proximal do corpo gástrico), refletindo modificações do volume gástrico e, em última instância, a complacência gástrica. Tal sistema foi, inclusive, recentemente adaptado para uso em camundongos (Monroe *et al.*, 2004).

O presente resultado, em primeira mão, de diminuição da complacência gástrica pelo 1.8 cineol, pode está relacionado aos achados de Magalhães e colaboradores (1997; 1998 e 2004), os quais descreveram ações do OECN e do 1.8 cineol sobre a musculatura gastrintestinal.

Chama a atenção que o efeito do 1.8 cineol sobre a complacência gástrica somente se inicial 30 min após a administração deste, sugerindo que este efeito pode se dá por modulação reflexa e não por ação direta da droga sobre a musculatura gástrica.

Chama a atenção o efeito hipotensor e bradicárdico do 1.8 cineol nos animais anestesiados, mesmo tendo-se o cuidado de adotar doses mínimas (1 a 3µg/Kg), as menores doses empregues nos estudos com animais acordados, quando o 1.8 cineol apresentou efeito hipotensor apenas transitório. Entretanto

estas doses não modificam a pressão venosa central dos animais. Em estudos com ratos acordados Lahlou e colaboradores (2000) mostram que o OECN e o 1.8 cineol apresentam efeito tanto bradicárdico como hipotensor, provavelmente por modulação do sistema nervoso autônomo.

Embora estudos publicados anteriormente (Capelo *et al.*, 1983; Graça *et al.*, 2002) indiquem que a hipotensão arterial advinda de hemorragia ocasione aumento da complacência gástrica em ratos anestesiados, podemos observar um efeito contrário, de diminuição da complacência gástrica após administração e.v. de 1.8 cineol seguida de hipotensão arterial e bradicardia mantidas. Consideramos que o presente efeito do 1.8 cineol sobre a complacência seja resultante de ação direta deste óleo essencial sobre a célula muscular lisa do estômago.

Vale ressaltar que o padrão de motilidade duodenal também pode determinar alterações na taxa de esvaziamento gástrico, uma vez que as porções iniciais do duodeno parecem atuar como barreira ou “freio” ao esvaziamento gástrico, em especial das refeições sólidas e calóricas (Weisbrodt, 2001; Haba *et al.*, 1993).

A propriedade inibitória da motilidade gastrintestinal pelo OECN e 1.8 cineol, capaz de promover retarde do EG e do trânsito, podem está relacionadas aos efeitos inibitórios do 1.8 cineol sobre preparações longitudinais do íleo de cobaios (Magalhães *et al.*, 1997, 1998 e 2004) o que, em parte, explica a propriedade destes em retardar o esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal, pois o encurtamento da musculatura longitudinal intestinal auxilia na propulsão do bolo alimentar ao longo do TGI (Rao e Schulze-Delrieu, 1993; Weisbrodt, 2001).

O comportamento motor do músculo liso gastrintestinal é diverso: enquanto o esfíncter esofágico inferior exibe intensa contração tônica, a musculatura gástrica e intestinal exibem contrações fásicas com distintas ritmicidades. No miócito liso gastrintestinal, os neurotransmissores promovem a abertura de canais dependentes de voltagem na membrana celular ocasionando influxo de Ca^{++} bem como liberação de Ca^{++} dos estoques citoplasmáticos via fosfatidilinositol tri-fosfato (Rao e Schulze-Delrieu, 1993; Weisbrodt, 2001). Assim, mesmo sob potencial de membrana estável, ativadores da proteína G podem liberar Ca^{++} intracelular.

Pela idéia prevalente, o Ca^{++} citoplasmático ao se ligar a proteína calmodulina ativa a proteína quinase de cadeia leve, a qual potencializa a capacidade da actina em ativar a miosina- Mg^{++} -ATPase para em seguida ocorrer hidrólise do ATP ligado à cabeça da miosina, promovendo deslizamento dos miofilamentos e posterior contração da musculatura lisa (Corbin *et al.*, 1999; Weisbrodt, 2001).

Por outro lado, os estoques citosólicos de Ca^{++} são subtraídos pela ativação da enzima Ca^{++} ATPase (transferindo Ca^{++} para fora da célula ou de volta aos estoques intracelulares) bem como pela própria repolarização (inibindo a entrada de Ca^{++} , via canais operados por voltagem), ou ainda por ação da bomba $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^{+}$ -ATPase. A miosina é então desfosforilada, interrompendo a interação miofilamentar e permitindo o relaxamento muscular (Corbin *et al.*, 1999; Weisbrodt, 2001).

O estado de contração e relaxamento do músculo liso é determinado, também, pelo balanço intracelular dos nucleotídeos cíclicos (AMPc e GMPc), sistemas do tipo segundo mensageiro, os quais são sintetizados, respectivamente pela adenilato e guanilato ciclases e degradados por enzimas intracelulares conhecidas como fosfodiesterases (Beavo, 1995; Corbin *et al.*, 1999).

Vale salientar que no intestino isolado de cobaio o efeito inibitório do OECN não é revertido pelo pré-tratamento com L-NAME (100 μM), um inibidor da NO-sintetase (Moncada *et al.*, 1991), pela indometacina, inibidor da ciclooxigenase (Wennmalm, 1978), pelo hexametônio, bloqueador ganglionar nicotínico (Kosterlitz e Lees, 1964) nem pela tetrodotoxina (TTX), clássico bloqueador de canais rápidos de sódio (Narahashi *et al.*, 1964), o que sugere, pelo menos em intestino de cobaio, que o efeito relaxante deste óleo essencial não envolve as mediações NANC e colinérgica dos plexos intramurais, nem a ação de derivados do ácido araquidônico ou a participação do óxido nítrico (Magalhães, 1997).

Já os efeitos do OECN sobre a PA e a FC de ratos acordados envolve a integridade da inervação parassimpática cardíaca (nervo vago), enquanto os efeitos sobre vasos sanguíneos se dão por ação direta do óleo sobre a musculatura lisa vascular (Lahlou *et al.*, 1999).

Então torna-se mister salientar que os efeitos do 1.8 cineol sobre a complacência possam ser advindos de um reflexo de modulação neural, provavelmente com liberação de acetilcolina, tendo em vista que a vagotomia abole os efeitos de retarde no EG e trânsito gastrointestinal, bem como sobre as alterações hemodinâmicas (Lahlou *et al.*, 2000).

Tendo em vista que o 1.8 cineol pode ultrapassar a barreira hematoencefálica, é possível que a diminuição da complacência gástrica também esteja relacionada ao aumento da atividade nervosa autonômica, como um reflexo da modulação desencadeado pela ativação parassimpática, secundária a administração e.v. do 1.8 cineol, haja vista, que a vagotomia bilateral bloqueia tanto os efeitos do OECN e do 1.8 cineol sobre a PA e FC (Lahlou *et al.*, 2000) como abole os efeitos destes fármacos sobre o EG e trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados. Vale salientar que a esplanctomia não modifica os efeitos do cineol sobre o EG e o trânsito GI.

Em resumo, observamos neste trabalho que o OECN e o 1.8 cineol, além de transitória hipotensão arterial e bradicardia, retardam i) o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados; enquanto ii) diminui a complacência gástrica em ratos anestesiados. A inibição do cineol sobre a motilidade do TGI envolve a domínio sistêmico a modulação do sistema nervoso parassimpático.

5. CONCLUSÕES

1- A administração, ev, do 1.8 cineol nas doses de 1, 3, 10 e 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aumenta a retenção gástrica e tende a retardar o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados.

2- A administração e.v. de OEEN (óleo essencial), na dose de 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aumenta a retenção gástrica e tende a retardar o trânsito gastrointestinal de líquido em ratos acordados.

3- O efeito do 1.8 cineol sobre a retenção gástrica e trânsito gastrointestinal dependente da integridade do nervo vago e não dos nervos esplâncnicos.

4- A administração e.v. do 1.8 cineol, nas doses de 1, 3, 10 e 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ diminui a PA de forma transitória em animais acordados.

5- A administração e.v. do 1.8 cineol, nas doses de 1 e 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ diminui a complacência gástrica de forma dose dependente em ratos anestesiados.

6- A administração e.v. do 1.8 cineol, nas doses de 1 e 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ diminui a PA e a FC, mas não modifica a PVC de ratos anestesiados.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albuquerque AAC, Sorenson AL, Leal-Cardoso JH. Effects of essential oil of *Croton zehntneri*, and of anethole and estragole on skeletal muscles. *J ethnopharmacol* 1995, 49: 41-49.
 2. Almeida ET, Mauro AE, Santana AM, Godoy-Neto AV. Emprego de compostos organometálicos mononucleares de paládio(ii) na ativação de macrófagos peritoneais de camundongos. *Quim. Nov*, 2005; 28(3): 405-08.
 3. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev*. 1995; 75:725-48.
 4. Bezerra MA, Leal-Cardoso JH, Coelho-De-Souza AN, Criddle DN, Fonteles MC. Myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Alpinia speciosa* on rat ileum. *Phytother Res*. 2000 Nov;14(7):549-51.
 5. Bianco A, Pitocco D, Valeza V, Caputo S, Grieco A, Miele L, Greco AV and Ghirlanda G. Effects of Sildenafil on Diabetic Gastropathy. *Diab Care-Letters*. 2002; 25(10): 1888-89.
 6. Bland M. Methods based on rank order. An introduction to medical statistics. Oxford: Oxford University Press. 2nd edition, p. 2005, 1995.
 7. Bueno L, Ferre JP, Ruckebusch Y. Effects of anesthesia and surgical procedures on intestinal myoelectric activity in rats. *Am J Dig Dis*. 1978; 23(8): 690-5.
 8. Camurca FD, Queiroz DA, Leal PR, Rodrigues CL, Gondim FA, Graca JR, Rola FH, Nobre e Souza MA, Santos AA. Gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid in awake rats is delayed after acute myocardial infarction. *Dig Dis Sci*. 2004; 49(5):757-62.
 9. Capelo LR, Cavalcante DM, Leitão IA, Filho GC, da-Silva EAT. Modifications of gastric compliance in dogs related to changes in
-

- extracellular fluid volume: a possible physiological role. - - Braz J Med Biol Res. 1983; 16:73-76.
10. Cardoso LM, Pedrosa ML, Silva ME, Moraes MF, Colombari E, Chianca DA Jr. Baroreflex function in conscious rats submitted to iron overload. Braz J Med Biol Res. 2005; 38(2): 205-14.
 11. Collares EF, Vinagre AM. The effect of bacterial lipopolysaccharide on the gastric emptying of rats: a pretreatment evaluation using dexamethasone and methylene blue. Arq Gastroenterol. 2003; 40(2): 104-09.
 12. Corbin JD, Francis SH. Cyclic GMP phosphodiesterase-5: target of sildenafil. J Biol Chem. 1999; 274(20): 13729-32
 13. Craveiro AA, Alencar JW, Matos FJA. Um sucedâneo vegetal para o óleo diesel: o marmeleiro. In SEMINÁRIO SOBRE ENERGIA PARA TRANSPORTES, 1978; São Paulo, SP. Anais, São Paulo: MT, 1978: 46-51.
 14. Craveiro AA, Andrade CHS, Matos FJA. Fixed and volatile constituents of *Croton aff. Nepetaefolius*. J nat Prod 1980, 43(6): 756-57.
 15. Craveiro AA, Fernandes AG, Andrade CHS. Óleos essenciais de plantas do Nordeste. Fortaleza: Edições UFC, 1981.
 16. Dantas TNC. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste: *Croton aff nepetaefolius*, Baill. Fortaleza, 1979. Dissertação de mestrado em Química Orgânica. Universidade Federal do Ceará.
 17. Dishy V, Cohen Pour M, Feldman L, Naftali T, Baumer M, Efrati S, Golik A, Horne T, Weissgarten J. The effect of sildenafil on gastric emptying in patients with end-stage renal failure and symptoms of gastroparesis. Clin Pharmacol Ther. 2004; 76(3): 281-86.
 18. Ducke A. Estudos botânicos no Ceará. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 1959, 45: 1054-59.
-

19. Freise FW. Essential Oils from Brazilian Euphobiaceae. *Perf Essent Oil Rec.* 1935, 26: 219-20.
 20. Ghelardini C, Galeotti N, Mazzanti G. Local anaesthetic activity of monoterpenes and phenylpropanes of essential oils. *Planta Med.* 2001 Aug;67(6):564-6.
 21. Gondim FA, Oliveira GR, Graça JRV, Gondim RBM, Alencar HMP, Dantas RP, Santos AA, Rola FH. Neural mechanisms involved in the delay of gastric emptying of liquid elicited by acute blood volume expansion in awake rats. *Neurogastroenterol Motil.* 1999; 12: 93–99.
 22. Graça JRV, Leal PRL, Gondim FAA, Rola FH, Santos AA. A plethysmometric method for gastric compliance studies in anesthetized rats. *J Pharmacol Toxicol Methd.* 2000; 43: 25-30.
 23. Graça JRV, Leal PRL, Gondim FAA, Rola FH, Santos AA. Gastric compliance changes induced by acute blood volume variations in anaesthetised rats. *Braz J Med Biol Res.* 2002; 35: 405-10.
 24. Graça, JRV. O citrato de sildenafil (viagra®) inibe a motilidade gastrointestinal em ratos acordados e anestesiados e a contratilidade in vitro de tiras isoladas de duodeno de ratos *ex vivo*. Fortaleza, Ceará, Brasil, 2005, 100 pp. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará.
 25. Haba T, Sarna SK. Regulation of gastroduodenal emptying of solids by gastroduodenal contractions. *Am J Physiol.* 1993; 264: G261-71.
 26. Hunt JN. *J Physiol Lond.* 1951;110: 159.
 27. Jacobs MB. Root beer flavor components. *Am Perf Essent Oil Rev.* 1948, 55: 55-57.
 28. Kelly KA. Gastric emptying of liquids and solids: roles of proximal and distal stomach. *Am J Physiol.* 1980; 239(2): G71-76.
-

29. Klayman DL. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science*. 1985 May 31;228(4703):1049-55.
 30. Kosterlitz HW, Lees GM. Pharmacological analysis of intrinsic intestinal reflexes. *Pharmacol Ver*. 1964, 16: 301-39.
 31. Lahlou S, Leal-Cardoso JH, Magalhaes PJ, Coelho-de-Souza AN, Duarte GP. Cardiovascular effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* in rats: role of the autonomic nervous system. *Planta Med*. 1999 Aug;65(6):553-7.
 32. Lahlou S, Leal-Cardoso JH, Magalhaes PJ. Essential oil of *Croton nepetaefolius* decreases blood pressure through an action upon vascular smooth muscle: studies in DOCA-salt hypertensive rats. *Planta Med*. 2000 Mar;66(2):138-43.
 33. Lahlou S, Leal-Cardoso JH. Antispasmodic effects of the essential oil of *Croton ileum*: a myogenic activity. *Fundam Clin Pharmacol*. 2004 Oct;18(5):539-46.
 34. Lavabre M. *Aromaterapia*. 2^a. Ed. Rio de Janeiro. Record 1993.
 35. Leal-Cardoso JH, Fonteles MC. Pharmacological effects of essential oils of plants of the northeast of Brazil. *An Acad Bras Cienc*. 1999;71(2):207-13.
 36. Magalhaes PJ. Ações do óleo essencial do marmeleiro sabiá (*Cróton nepetaefolius*) na musculatura intestinal de cobaio. Dissertação de Mestrado. apresentada ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina UFC – Fortaleza – CE – 1997.
 37. Magalhães PJC, Criddle DN, Tavares RA, Melo EM, Mota TL, Leal-Cardoso JH. Intestinal myorelaxant effects of the essential oil of *Cróton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpinol. *Phytother R*. 1998; 12:172-77.
-

38. Marshall SM. Sildenafil: a revolutionary therapy? *Diabetic Méd.* 1998; 15: 897-99.
 39. Matos JMD, Matos MEO. *Farmacognosia – Curso teórico-práticos.* Fortaleza. Edições UFC 1989.
 40. Mendonca VL, Oliveira CL, Craveiro AA, Rao VS, Fonteles MC. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1991;86 Suppl 2:93-7.
 41. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991 Jun;43(2):109-42.
 42. Monroe MJ, Hornby PJ, Partosoedarso ER. Central vagal stimulation evokes gastric volume changes in mice: a novel technique using a miniaturized barostat. *Neurogastroenterol Motil.* 2004;16(1): 5-11.
 43. Moreira MR, Cruz GM, Lopes MS, Albuquerque AA, Leal-Cardoso JH. Effects of terpineol on the compound action potential of the rat sciatic nerve. *Braz J Med Biol Res.* 2001 Oct;34(10):1337-40.
 44. Narahashi TJ, Moore JW, Scott WR. Tetrodotoxin blockage of sodium conductance increase in lobster giant axons. *J gen Physiol.* 1964, 47: 965-74.
 45. Rao SSC and Schulze-Delrieu K. The Stomach, pylorus and duodenum – Section 5 Normal gastrointestinal motility - Cap. 25. In *An illustrated guide to gastrointestinal motility.* Edited by D. Kumar and D. Wingate. 2nd Ed. Churchill Livingstone, NY, USA, 1993.
 46. Rego MC, Graca JRV, Gondim FA, Gondim RB, Dantas RP, Rola FH. Effect of pyloroplasty and fundectomy on the delay of gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid elicited by acute blood volume expansion in awake rats. *Braz J Med Biol Res.* 1998; 31(3): 431-37.
-

47. Reynell PC, Spray GH. The simultaneous measurement of absorption and transit in the gastrointestinal tract of the rat. *J Physiol.* 1956; 131: 452–62.
 48. Ronsini ML, Collares EF. Effects of adrenalectomy and adrenal enucleation on liquid gastric emptying in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2000; 33(9): 1047-51.
 49. Rosalmeida MC, Saraiva LDS, Graça JRV, Ivo BB, Nóbrega MV, Gondim FAA, Rola FH, Santos AA. Sildenafil, a Phosphodiesterase-5 Inhibitor, Delays Gastric Emptying and Gastrointestinal Transit of Liquid in Awake Rats. *Dig Diseases Scs.* 2003a; 48(10): 2064–68.
 50. Santos FA, Rao VS. 1,8-cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats. *Dig Dis Sci.* 2001 Feb;46(2):331-7.
 51. Santos FA, Rao VS. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytother Res.* 2000 Jun;14(4):240-4.
 52. Sharma RK. Simultaneous measurement of gastric small intestine motility and absorption of proline in rats exposed to heat. *Indian J Med Res.* 1985; 81: 330-41.
 53. Silva AP, Freire CC, Gondim FA, Lacerda RP, Graca JRV, Rola FH, Santos AA. Bilateral nephrectomy delays gastric emptying of a liquid meal in awake rats. *Ren Fail.* 2002; 24(3): 275-84.
 54. Souza MHL, Troncon LEA, Cunha FQ, et al. Decreased gastric tone and delayed gastric emptying precede neutrophil infiltration and mucosal lesion formation in indomethacin-induced gastric damage in rats. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36(10): 1383-90.
 55. Taché Y, Maeda-Hagiwara M: Central nervous system actions of corticotropin-releasing factor to inhibit gastric emptying in rats. *Am J Physiol.* 1987; 253: G241-45.
-

56. Tack J. Gastric motor and sensory function. *Curr Opin Gastroenterol*. 2005;21(6):665-72.
57. Watkins CC, Sawa A, Jaffrey S, Blackshaw S, Barrow RK, Snyder SH, Ferris CD. Insulin restores neuronal nitric oxide synthase expression and function that is lost in diabetic gastropathy. *J Clin Invest*. 2000; 106(3): 373-84.
58. Weisbrodt NW. *Gastrointestinal Motility*. Edited by Leonard R. Johnson. 6th Ed. Mosby, St. Louis, Missouri, USA, 2001.
59. Wennmalm A. Influence of indomethacin on the systemic and pulmonary vascular resistance in man. *Clin Sci Mol Med*. 1978 Feb;54(2):141-5.
-

7. APÊNDICES

APÊNDICE 1 - DADOS DE RETENÇÃO FRACIONAL DE CORANTE POR SEGMENTO DO TGI e PRESSÃO ARTERIAL DOS ANIMAIS ACORDADOS

EST – ESTÔMAGO; PRO- PROXIMAL; MED – MEDIAL; DIST – DISTAL
 PAb – PRESSÃO ARTRIAL BASAL, PA1 - PRESSÃO ARTRIAL PÓS-DROGA;
 PAp - PRESSÃO ARTRIAL RECUPERAÇÃO PÓS-DROGA;

Ratos Cineol – 1 µg/kg

	EST	PRO	MED	DIST	PAb	PA1	PAp
R1	55,2	28,3	3,3	1,3	110,6	112	115
R2					132	127	127
R3	61,4	32,2	4,8	1,6	152	150	152
R4	60,6	21,5	16,6	1,3	108	103	105
R5	56,9	13,9	12,9	6,3	125	122	123
R6					132	121	124
R7	61,5	32,2	6,3	0,0	111	107	109
R8	58,8	16,4	24,2	0,6	121	114	116

Ratos Cineol – 3 µg/kg

	EST	PRO	MED	DIST	Pab	PA1	PAp
R1	55,9	18,0	22,0	4,1	90,8	88,6	86,8
R2	62,6	29,2	4,1	4,1	89,5	89,8	88,9
R3	72,3	23,8	3,9	0,0	115	110	107
R4	72,1	26,2	1,0	0,7	104	106,3	104
R5	60,8	29,3	10,0	0,0	99,7	94,3	85,4
R6	49,3	32,9	14,2	3,4			
R7	55,7	37,2	6,8	0,2	115	112	115

Ratos Cineol – 10 µg/kg

	EST	PRO	MED	DIST	Pab	PA1	PAp
R1	57,1	19,0	15,8	8,0			
R2	52,4	36,1	11,3	0,2			
R3	51,3	15,4	33,2	0,0	110,2	99,6	104,4
R4	41,4	51,2	5,6	1,9			
R5	42,6	49,5	7,9	0,0	114,7	115,3	113,7
R6	54,4	39,8	4,4	1,3			
R7	38,8	25,7	21,8	13,7			
R8	64,6	28,2	3,1	4,2			
R9	47,1	19,3	15,9	17,6			

Ratos Cineol – 30 µg/kg

	EST	PRO	MED	DIST	Pab	PA1	PAP
R1	50,5	36,4	10,4	2,7	87,5	85,8	87,6
R2	80,5	19,3	0,1	0,08			
R3	57,8	27,1	9,7	5,4	110,5	86,1	99,8
R4	60,1	27,2	6,7	6,0			
R5	54,7	20,0	22,6	2,7	102	94	104

Ratos SHAM

	EST	PRO	MED	DIST
R1	38,1	35,8	16,7	9,3
R2	39,3	30,9	26,21	3,5
R3	33,8	34,96	29,18	1,97
R4	54,14	35,37	9,14	1,35
R5	52,71	25,8	19,8	1,63
R6	45,48	30,86	20,87	2,79
R7	68,8	19,13	11,21	0,81
R8	56,5	29,4	13,6	0,39

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 20 min

	EST	PRO	MED	DIST
R1	40,87	28,8	29,5	0,8
R2	53,9	23,2	22,2	0,6
R3	60,8	37,2	1,51	0,37
R4	55,0	27,2	17,3	0,37
R5	55,0	38,1	6,8	0,0
R6	61,7	9,8	28,5	0,0
R7	45,4	9,0	44,4	1,2
R8	62,1	9,8	28,1	0,0
R9	45,4	9,0	44,4	1,2

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 20 min-SHAM

	EST	PRO	MED	DIST
R1	52,3	24,1	21,9	1,5
R2	37,3	36,8	25,4	0,3
R3	55,9	19,3	24,8	0,0
R4	57,9	33,8	8,3	0,0
R5	56,0	19,5	24,5	0,0
R6	58,2	33,6	8,2	0,0

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 30 min

	EST	PRO	MED	DIST
R1	42,4	41,5	16,1	0,0
R2	32,0	30,7	21,5	15,8
R3	47,4	47,6	3,7	1,4
R4	47,4	27,7	17,3	7,6
R5	40,2	18,4	39,0	2,4
R6	30,8	29,3	23,7	16,2

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 30 min-SHAM

	EST	PRO	MED	DIST
R1	56,0	44,0	0,0	0,0
R2	32,5	55,6	11,9	0,0
R3	43,5	15,1	23,3	8,1
R4	47,6	50,3	2,1	0,0
R5	29,9	33,6	15,9	20,4
R6	42,6	10,0	35,3	12,1

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 10 min-SHAM+ vagotomia subdiafragmática

	EST	PRO	MED	DIST
R1	42,8	37,0	18,2	2,0
R2	62,0	20,9	14,7	2,4
R3	48,2	13,5	35,3	3,0
R4	57,7	20,4	21,0	0,8
R5	49,0	43,9	5,8	2,2

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 10 min-vagotomia subdiafragmática

	EST	PRO	MED	DIST
R1	23,2	24,9	47,6	4,3
R2	70,9	21,8	5,2	2,0
R3	35,4	33,6	24,3	6,7
R4	61,3	19,7	15,7	3,4
R5	37,0	32,4	23,3	7,3
R6	78,3	15,2	5,4	1,1
R7	47,6	16,0	12,0	0,0
R8	45,4	47,9	6,1	0,6
R9	56,6	27,9	10,3	5,2

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 10 min-esplancnotomia

	EST	PRO	MED	DIST
R1	55,2	29,0	7,6	8,1
R2	33,0	40,2	24,0	2,8
R3	49,7	21,8	26,6	1,9
R4	64,2	30,4	2,8	2,5
R5	43,4	47,5	6,1	7,2
R6	63,2	31,8	2,9	1,93
R7	64,9	30,0	2,95	1,97

Ratos cineol 3 μ g/kg pós prandial de 10 min-SHAM esplancnotomia

	EST	PRO	MED	DIST
R1	36,4	20,7	38,7	4,2
R2	19,5	23,3	46,6	10,8
R3	57,02	19,8	21,4	1,72

Ratos OECN 3µg/kg pós prandial de 10 min-

	EST	PRO	MED	DIST
R1	58,9	35,36	3,78	1,88
R2	57,3	38,9	1,88	1,89
R3	51,42	17,6	28,2	2,65
R4	47,9	13,9	22,2	15,9
R5	51,3	20,1	24,8	3,6
R6	43,2	29,6	23,4	3,6
R7	61,3	14,8	13,5	10,2

APÊNDICE 2 - DADOS VOLUME GÁSTRICO, PRESSÃO ARTERIAL (PA), PRESSÃO VENOSA CENTRAL (PVC) E FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC) DOS ANIMAIS ANESTESIADOS

Ratos Cineol – 1 µg/kg

VOLUME GÁSTRICO

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	2,00	1,98	1,94	1,87	1,81	1,79	1,73
R2	1,90	1,85	1,74	1,71	1,61	1,56	1,54
R3	2,20	2,20	2,18	2,13	2,05	2,05	1,99
R4	2,00	2,00	1,99	1,94	1,88	1,75	1,60
R5	2,40	2,40	2,40	2,36	2,28	2,15	2,08
R6	1,80	1,80	1,78	1,71	1,62	1,54	1,55

PRESSÃO ARTERIAL

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	119,00	113,90	113,50	108,80	106,60	103,80	103,30
R2	73,90	68,50	68,80	69,60	73,50	75,20	78,00
R3	102,00	98,60	92,90	90,90	88,00	85,40	81,90
R4	95,60	100,58	99,81	102,99	102,47	101,35	101,07
R5	88,08	70,03	72,58	76,31	79,15	75,73	74,42
R6	87,80	75,75	78,06	78,49	76,78	74,50	

PRESSÃO VENOSA CENTRAL

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	-2,76	-2,23	-1,24	-1,82			
R2	0,67	0,60	0,29	0,42	0,67	0,80	0,78
R3	5,40		2,90	2,42	2,36	2,55	3,64
R4	2,45	1,53	1,45	0,53	0,27	0,13	0,18
R5	1,60	0,50					
R6	-0,07	-0,99	-0,64	-0,90	-1,13	-1,20	-0,53

FREQUÊNCIA CARDÍACA

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	398,	379,	360,	351,	341,	319,	304,
R2	401,	381,	373,	361,	353,	347,	342,
R3	426,	404,	393,	389,	382,	375,	369,
R4	371,	382,	387,	383,	385,	387,	385,
R5	356,	331,	330,	331,	326,	329,	352,
R6	419,	321,	327,	329,	331,	333,	

Ratos Cineol – 3 µg/kg

VOLUME GÁSTRICO

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	1,92	1,92	1,89	1,83	1,79	1,77	1,77
R2	2,30	2,25	2,30	2,19	2,09	2,04	2,02
R3	2,43	2,42	2,43	2,38	2,36	2,35	2,34
R4	2,20	2,20	2,00	1,81	1,53	1,67	1,66
R5	2,50	2,50	2,45	2,40	2,38	2,40	2,35

PRESSÃO ARTERIAL

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	74,9	78,6	66,2	61,8	60,2	59,4	61,1
R2	75,0	71,3	68,5	70,9	59,2	56,4	54,0
R3	84,2	73,2	67,9	64,1	62,2	62,7	65,2
R4	91,5	87,8	90,8	86,6	85,1	81,1	77,2
R5	83,9	90,8	84,8	78,1	74,3	73,9	75,4
R6	100,3	98,4	93,0	89,5	81,2	74,7	72,2

PRESSÃO VENOSA CENTRAL

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	2,05	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,10
R2	2,10	2,11	2,10	2,10	2,11	2,13	2,12
R3	2,20	2,21	2,20	2,19	1,19	2,19	2,19
R4	2,19	2,19	2,17	2,17	2,17	2,18	2,20
R5	2,23	2,23	2,21	2,20	2,20	2,20	2,19
R6	2,15	2,16	2,14	2,11	2,09	2,08	2,07

FREQUÊNCIA CARDÍACA

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	329,	319,	341,	340,	342,	342,	339,
R2	381,	306,	326,	347,	334,	317,	302,
R3	403,	369,	364,	355,	345,	340,	334,
R4	400,	376,	372,	366,	361,	355,	349,
R5	400,	382,	383,	377,	373,	369,	366,
R6	381,	369,	346,	329,	351,	355,	343,

SHAM – salina 0,9%

VOLUME GÁSTRICO

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	1,90	1,94	1,96	1,94	1,89	1,80	1,77
R2	2,30	2,31	2,32	2,27	2,16	2,14	2,07
R3	1,80	1,80	1,80	1,78	1,76	1,75	1,75
R4	2,60	2,60	2,60	2,63	2,60	2,59	2,55

PRESSÃO ARTERIAL

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	107,60	104,50	102,4	104,20	107,30	107,80	108,00
R2	88,20	95,50	95,5	94,20	93,10	92,90	93,00
R3	90,60	89,51	86,9	84,57	84,08	85,33	85,00
R4	87,00	82,50	86,8	90,14	87,69	85,93	85,28
R5	87,51	88,24	83,3	88,40	90,82	89,40	84,51

PRESSÃO VENOSA CENTRAL

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	1,24	1,93	3,98	6,68			
R2	-3,15	-3,78	-5,50	-5,17	-4,88	-4,62	
R3	0,71	-1,52	-0,14	0,34	-0,07		
R4	1,46	0,28		0,64	-0,79	-0,90	0,28
R5	1,24	1,93	3,98	6,68			

FREQUÊNCIA CARDÍACA

	BASAL	10	20	30	40	50	60
R1	386,	379,	373,	362,	353,	347,	343,
R2	392,	364,	353,	342,	332,	324,	
R3	389,	357,	351,	345,	338,	332,	336,
R4	442,	434,	421,	387,	390,	385,	421,
R5	386,	379,	373,	362,	353,	347,	343,

8. ANEXOS

DECLARAÇÃO

DECLARO Para os devidos fins que o artigo intitulado:

1.8 cineole decreases gastric compliance in anesthetized rats

dos autores: José Ricardo Cunha Neves², Gislando Heverton Soares de Lira³, Rocino Marinho de Oliveira Neto³, José Ronaldo Vasconcelos da Graça⁴, Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos⁵, Miguel Ângelo Nobre e Souza⁶, Pedro Jorge Caldas Magalhães⁷, Francisco Hélio Rola⁸, Armênio Aguiar dos Santos⁷

foi aceito para ser publicado na Revista Acta Cirúrgica Brasileira.

São Paulo, 02 de maio de 2006

Prof. Saul Goldenberg
Editor Responsável

- ORIGINAL PAPER -

1.8 cineole decreases gastric compliance in anesthetized rats¹.

José Ricardo Cunha Neves², Gislando Heverton Soares de Lira³, Rocino Marinho de Oliveira Neto³, José Ronaldo Vasconcelos da Graça⁴, Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos⁵, Miguel Ângelo Nobre e Souza⁶, Pedro Jorge Caldas Magalhães⁷, Francisco Hélio Rola⁸, Armênio Aguiar dos Santos⁷.

1. This work was carried through in the Laboratory School Prof. Luiz Capelo of the Department of Physiology and Pharmacology of the College of Medicine of the Federal University of the (CM-UFC) as part of the requirements for attainment of the Degree of Master in Surgery of Jose Ricardo Cunha Neves, together to the Post-Graduation Program in Surgery of the Department of Surgery of the CM-UFC.

2. Student of master degree in Surgery and Professor of Surgical Clinic of the CM-UFC of Sobral.

3. Student of the Course of Medicine of the CM-UFC of Fortaleza and Sobral

4. Associate Professor Doctor of Physiology of the CM-UFC of Sobral

5. Associate Professor Doctor of Surgical Clinic of the CM-UFC and Coordinate of the Course of Post-Graduation Program in Surgery of the CM-UFC of Fortaleza.

6. Collaborating Professor Doctor of the Department of Medical Clinic of CM-UFC

7. Associate Professors Doctors of the Department of Physiology and Pharmacology of the CM-UFC and Post-Graduation Program in Pharmacology and of the CM-UFC.

8. Professor Doctor of the Course of Post-Graduation Program in Pharmacology of the CM-UFC.

Correspondence:

Dr. Armênio Aguiar dos Santos
Laboratório Escola Prof. Luiz Capelo
Departamento de Fisiologia e Farmacologia
Faculdade de Medicina
Universidade Federal do Ceará
Caixa Postal 3157
60.430-270 Fortaleza, Ce Brasil
Fax (55) 85 2439333
e-mail: meno@ufc.br

GRATEFULNESS:

We thank to Prof. Dr. José Henrique Leal Cardoso for cession of the essential oil in its pure form.

Grants: UNIMED-SOBRAL; UFC; CNPq

Abstract

PURPOSE: Study the effect of 1,8 cineole components of the essential oil of *Croton nepetaefolius* - plant of North-East of Brasil, used in the popular medicine for riots of the gastrointestinal tract - on the motor behavior of the gut of Wistar rats.

METHODS: Used 16 male animals under jejum of 24h weighing 300-350g. The effect of 1.8 cineole (1 or 3 μ g/Kg) on gastric compliance had been lead in anaesthetized rats. The variations of the gastric volume (GV), had been measured by plethysmography, while AP, HR and CVP had been monitored continuously by a digital system of data acquisition.

RESULTS: Observe reduction of the GV, which was significant on 30, 40, 50 and 60min after treatment (2.0 \pm 0.1; 1.9 \pm 0.1; 1.8 \pm 0.1 and 1.7 \pm 0.1mL, versus 2.1 \pm 0.2mL). The AP presented significant fall after the administration of 1.8 cineole, remaining thus during 60min of monitorization (87.9 \pm 7.7; 87.6 \pm 7.1; 87.9 \pm 6.4; 87.8 \pm 5.7; 86.0 \pm 5.5 and 87.7 \pm 6.0mmHg, respectively versus 94.4 \pm 6.2 mmHg), as well as the HR (366.3 \pm 13.4; 361.7 \pm 11.5; 357.3 \pm 10.4; 353.0 \pm 10.4; 348.3 \pm 11.1 and 350.4 \pm 13.7bpm, respectively versus 395.2 \pm 11.1bpm). The CVP did not suffer significant variations after treatment.

CONCLUSION: Observe the 1.8 cineole reduces the gastric compliance in anaesthetized rats besides presenting effect hipotensor and bradycardic; probably for direct action on the gastrointestinal and vascular smooth muscel and moduling the autonomic nervous system.

Key words: 1.8 cineole; Compliance, gastric; Rat

1. INTRODUCTION

Croton nepetaefolius Baill is the scientific denomination of a type and common shrub in the Brazilian Northeast popularly known as marmeleiro sabiá, used in popular medicine folk for riots gastrintestinais¹.

Intragastric administration of the essential oil of the *Croton nepetaefolius* (EOCN) increases the time of gastrintestinal transit of a liquid meal in mice². Already in vitro preparations of the intestinal smooth muscle of cobaio the EOCN demonstrated miorelaxantes properties, diminishing tônus basal and reducing the amplitude of the spontaneous contractions of segments of íleo as well as of gastro-esophagicus, pyloric and ileo-cecal sphincter of cobaio³.

These data demonstrate that the EOCN present mio-relaxant and antispasmodic properties in vivo and in vitro, consistent with the use in popular medicine folk^{1,4}.

We decide, then, to study the actions of the administration i.v of the 1,8 cineole, main component of the EOCN¹, on the gastric compliance, arterial pressure, central venous pressure and cardiac frequency of anestesiados rats.

MATERIALS AND METHODS

Male Wistar rats (300-350g, n=16) proceeding from the Central Breathing of the UFC was used. All procedures had been in accordance with the norms of the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA).

The 1,8 cineole and EOCN was gently granted by the Laboratory of the Prof. Jose Henrique Leal Cardoso - University State of the Ceará.

2.1. Surgical procedures.

We kept the animals in jejum for 24h with free access to the water until 2h hours before the experiments. After anesthesia with uretana (1,2g/kg, I.P.), we carry through traqueostomie, followed of the cannula insertion, in order to facilitate the spontaneous ventilation.

Next, we insert polyethylene cannulas (PE 50), full of saline solution 0.9% with heparina (500U/mL) in the left vein jugular and the right carotid artery. We destine the vein for administration of drugs or vehicle and monitoration of the central venous pressure while we use the artery for arterial pressure monitoration.

2.2. Gastric volume measurements

For the monitoration of the gastric volume (GV), we use the pletismometric model develop in ours laboratory⁵. Initially, we introduce per os, a polyethylene catheter (ED=2,0mm/ID=1,5mm) with a latex balloon (volume ~ 4mL), which was posioned carefully in the proximal stomach. Next, we connect the free extremity of the catheter to liquid reservoir (ID=2,5cm, maximum capacity of 30mL). The reservoir, the stomach and the balloon then, establish a comunicant system vassel, had been filled with conducting solution standard [45mg% of NaCl and 0.3mL% of polietilenoglicol (Imbebiante BBC Ornano®)] at 37°C.

variations in gastric tonus capable to modify the liquid volume in a balloon, had been detected by an electronic volume sensor was continuously registered for one plethysmometer (Ugo Basile®, Comerio, Italy). Given the constant pressure of the system, variations in gastric tonus, means variations on a gastric compliance⁵.

In the beginning of each experiment, the stomach was submitted the distention for a pressure of 4cmH₂O, by rising the liquid level of the reservoir until 4cm above of the xifoide appendix of the animal. Variations on gastric compliance had been monitored continuously, written down to each 30s, express in mL.

2.3. Monitoration of the cardiovascular parameters

Mean arterial pressure (AP), central venous pressure (CVP) and cardiac frequency (CF) had been gotten by the connection of the arterial and venous cannules, respectively, the pressure transducers that had been connected to a acquisition system of data (PowerLab- ADInstrumesnts®).

2.4. Experimental protocols

After surgical procedures, animals had been kept in rest for 30min for the stabilization of the hemodinamics parameters. All the animals had been studied by a period at least 80min, twenty min initial was considered as Basal period, after that 1.8 cineole (1 or 3µg/kg - n=11) or vehicle (saline 0.9% - n=5) i.v. administration was perormed. We evaluated GV, AP, CVP and FC by more 60min, which had been divided in equal intervals of 10min, called 10, 20, 30, 40, 50 and 60.

2.5 - Experimental avaliation

To the end of each experiment, all the animals had suffered, still in plain anaesthetic, medium laparotomie for inspection of the positioning of the balloon was performed, being to follow sacrificed for injection e.v. of solution of KCl. Excluded the data of animals with anomalous localization of the balloon.

2.6 – Statics analise

Individual values of GV, CF, CVP and AP of diverse experimental groups are express in the text in Mean±SD. Analysis of variance ("One way - ANOVA") followed of Dunnett's test was used to compare the differences between averages of diverse experimental periods, as well as between the studied groups. Differences with p<0,05 had been as significant.

3. RESULTS

Figure 1 shows the variations of gastric volume (GV), arterial pressure (AP), central venous pressure (CVP) and cardiac frequency (CF) after and before 1.8 cineole treatments ($1\mu\text{g}/\text{Kg}$, i.v.).

We observe reduction ($p<0.05$) on the GV, which was significant at 30, 40, 50 and 60min after 1.8 Cineole treatments when compared a basal value (2.0 ± 0.1 ; 1.9 ± 0.1 ; 1.8 ± 0.1 and $1.7\pm 0.1\text{mL}$ respectively, vs $2.1\pm 0.2\text{mL}$). Mean arterial pressure (87.9 ± 7.7 ; 87.6 ± 7.1 ; 87.9 ± 6.4 ; 87.8 ± 5.7 ; 86.0 ± 5.5 and $87.7\pm 6.0\text{mmHg}$, respectively vs $94.4\pm 6.2\text{mmHg}$) as well as the CF (366.3 ± 13.4 ; 361.7 ± 11.5 ; 357.3 ± 10.4 ; 353.0 ± 10.4 ; 348.3 ± 11.1 and $350.4\pm 13.7\text{bpm}$ respectively, vs $395.2\pm 11.1\text{bpm}$) had presented significant falls after 1.8 cineole treatments, remaining themselves thus during 60min of monitoration. Already, CVP did not suffer significant variations after 1.8 cineole treatments (0.1 ± 0.7 ; 0.6 ± 0.7 ; 0.1 ± 0.7 ; 0.5 ± 0.7 ; 0.6 ± 0.8 and $1.0\pm 0.9\text{CmH}_2\text{O}$ versus $1.2\pm 1.1\text{CmH}_2\text{O}$).

Figure 2 shows the variations of GV, AP, FC and CVP after and before 1.8 cineole treatments ($3\mu\text{g}/\text{Kg}$, i.v.).

We observe reduction ($p<0.05$) on the GV, which was significant at 30, 40, 50 and 60min after 1.8 Cineole treatments when compared a basal value (2.0 ± 0.2 ; 2.0 ± 0.1 and $2.0\pm 0.1\text{mL}$ respectively, vs $2.3\pm 0.1\text{mL}$). Mean arterial pressure (83.4 ± 4.4 ; 78.5 ± 5.0 ; 75.2 ± 4.7 ; 70.4 ± 4.6 ; 68.0 ± 4.0 and $67.5\pm 3.7\text{mmHg}$, respectively vs $85.0\pm 4.0\text{mmHg}$) as well as the CF (353.5 ± 13.2 ; 355.3 ± 8.7 ; 352.3 ± 7.1 ; 351.0 ± 5.7 ; 346.3 ± 7.3 and $338.8\pm 8.6\text{bpm}$, respectively vs $382.3\pm 11.4\text{bpm}$) had presented significant falls after 1.8 cineole treatments, remaining themselves thus during 60min of monitoration. Already, CVP did not suffer significant variations after 1.8 cineole treatments (2.2 ± 0.1 ; 2.2 ± 0.1 ; 2.1 ± 0.1 ; 2.0 ± 0.1 ; 2.1 ± 0.1 and $2.1\pm 0.1\text{CmH}_2\text{O}$, respectively vs $2.2\pm 0.1\text{CmH}_2\text{O}$).

Figure 3 shows the variations of GV, AP, FC and CVP after and before placebo treatments (0.2mL of saline 0.9%, i.v.).

We do not observe significant variations on GV, AP, CVP or FC along 80min of study (2.2 ± 0.2 ; 2.2 ± 0.1 ; 2.2 ± 0.2 ; 2.1 ± 0.2 ; 2.1 ± 0.2 and $2.0\pm 0.2\text{mL}$ vs $2.2\pm 0.2\text{mL}$), (92.2 ± 3.9 ; 92.1 ± 3.7 ; 91.0 ± 3.5 ; 92.3 ± 3.4 ; 92.6 ± 4.0 ; $92.3\pm 4.1\text{mmHg}$ and $91.2\pm 4.5\text{mmHg}$), (0.1 ± 1.1 ; -0.8 ± 1.2 ; -0.6 ± 2.7 ; 0.6 ± 2.4 ; -1.9 ± 1.5 ; -2.8 ± 1.9 and

$0.3 \pm 0.0 \text{ cmH}_2\text{O}$ vs $0.2 \pm 0.2 \text{ cmH}_2\text{O}$) and (402.3 ± 26.6 ; 383.5 ± 34.9 ; 374.5 ± 32.5 ; 359.0 ± 20.6 ; 353.3 ± 26.0 ; $347.0 \pm 27.1 \text{ bpm}$ and $366.7 \pm 27.2 \text{ bpm}$), respectively.

4.DISCUSSION

This work shows that the 1.8 cineole i.v. administration reduces gastric compliance, arterial pressure, cardiac frequency of anestesiados rats, dose dependent, however does not modify central venosa pressure.

Arterial pressure, CF and CVP had been monitored continuously. For this proposit, we use a data acquisition system (PowerLab-ADInstruments®), considered standard for literature. Basal results of AP are similar to gotten for others⁶. 1,8 cineole presente an hipotensor effect, AP returned to basal levels to soon after 10min of the treatment, similar to observed for others^{7,8,9}.

Data of literature show that i.v. administration of OECN or 1.8 cineole delays gastric emptying and gastrointestinal transit of liquid in awake rats as demonstrated by Magalhães *et al.*, indicating that OECN and 1.8 cineole retard gastrintestinal transit in mice and relaxes the intestinal smooth musculatura of cobaio^{2,3}.

According to a prevalent interpretation of specialists, delays of the gastric emptying of liquid, seamns a provoked by OECN and 1.8 cineole, follows a proximal stomach relaxation¹⁰ and/or an incresement of the antroduodenal resistance to a liquid flow, call "duodenal brake"¹¹.

Proximal and distal stomach, can determine different standards of GE for varied types and compositions of meals¹². The proximal segment functions as reservoir, capable to accomodate the meal while the fasic contractions of the antrum and the body promotes the gradient pressure for mix intraluminal contents, propulsioneing a gastric content for duodenum^{12,13}.

In the present study, to evaluate the effect of .8 cineole on the gut motilidade, we use a plethismometric system. A system previously developed and validated for Graça and colegas^{5,14}, it shows adequate to continuously monitoring gastric tonus variations of the proximal stomach. It reflects variations of gastric volume, at last, the gastric compliance.

Beyond hipotensor and bradycardic effect, that 1.8 cineole is capable to increase, a dose dependent, the tonus of stomach, diminishing, therefore, the gastric compliance of anesthetized rats. These results, can is related to findings of

Magalhães and co-workers^{2,3}, which had described inhibitory effects of EOEN and 1.8 cineole on the gut muscles.

The hypotensive and bradycardic effects of 1.8 cineole is hard. However these treatments do not modify the CVP of animals. In studies with waked up rats Lahlou and collaborators, that EOEN and 1.8 cineole, show bradycardic effect as well as hypotensive effect, probably for modulation of the nervous system autônomo⁷, by vagal action.

The *Croton nepetaefolius* is sufficiently known for popular medicine application of riots of the gastrointestinal system¹⁶. We present effects of 1.8 cineole on the gastric compliance can result of an autonomic reflex, or direct action of this essential oil on smooth muscle. In studies in vitro 1.8 cineole presents miorelaxant effect, what probably it justifies the job of this plant for the popular medicine, however the mechanisms of action of this oil is not well clarify².

In the isolated intestine of cobaio the inhibitory effect of the EOEN is not reverted by an inhibitor of the NO-sintetase (L-NAME), inhibitor of ciclooxigenase (indometacin), ganglionar bloker (hexametonium), sodium canals bloker (tetrodotoxin) pre-treatments. In this model, essential oil does not involve NANC mediation^{2,3}.

Already the effect of the EOEN on AP and CF of awaked rats involve the integrity of the autonomic parassimpatic innervation (vagus nerve), while the effect on sanguineous vases if give for direct action of the oil on the smooth muscle vascular^{7,8,9}. That effect of 1.8 cineole on the gastric compliance also is related to increase on autonomic activity. Bilateral vagotomy blocks the effect of EOEN and the 1.8 cineole on AP and CF⁸.

In summary, we observe that the 1.8 cineole, decreases the gastric compliance, arterial pressure, cardiac frequency in anestesiados rats. The inhibition of 1.8 cineole on the gut motilidade, may involves a systemic domain the modulation of the autonomic nervous system.

5. REFERENCES

- 1- Dantas TNC. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste: *Croton aff nepetaefolius*, Baill. [Dissertação – Mestrado]. Universidade Federal do Ceará - Departamento de Química Orgânica; 1979.
 - 2- Magalhaes PJ. Ações do óleo essencial do marmeleiro sabiá (*Cróton nepetaefolius*) na musculatura intestinal de cobaio. [Dissertação - Mestrado]. Universidade Federal do Ceará - Faculdade de Medicina; 1997.
 - 3- Magalhães PJC, Criddle DN, Tavares RA, Melo EM, Mota TL, Leal-Cardoso JH. Intestinal myorelaxant effects of the essential oil of *Cróton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpinol. *Phytother R.* 1998;12:172-7.
 - 4- Craveiro AA, Alencar JW, Matos FJA. Um sucedâneo vegetal para o óleo diesel: o marmeleiro. In SEMINÁRIO SOBRE ENERGIA PARA TRANSPORTES. São Paulo- SP. 1978:46-51.
 - 5- Graça JRV, Leal PRL, Gondim FAA, Rola FH, Santos AA. A plethysmometric method for gastric compliance studies in anesthetized rats. *J Pharmacol Toxicol Methd.* 2000;43:25-30.
 - 6- Cardoso LM, Pedrosa ML, Silva ME, Moraes MF, Colombari E, Chianca DA Jr. Baroreflex function in conscious rats submitted to iron overload. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38:205-14.
 - 7- Lahlou S, Leal-Cardoso JH, Magalhaes PJ, Coelho-de-Souza AN, Duarte GP. Cardiovascular effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* in rats: role of the autonomic nervous system. *Planta Med.* 1999;65:553-7.
-

- 8- Lahlou S, Leal-Cardoso JH, Magalhaes PJ. Essential oil of *Croton nepetaefolius* decreases blood pressure through an action upon vascular smooth muscle: studies in DOCA-salt hypertensive rats. *Planta Med.* 2000;66:138-43.
- 9- Lahlou S, Leal-Cardoso JH. Antispasmodic effects of the essential oil of *Croton ileum*: a myogenic activity *nepetaefolius* on guinea-pig. *Fundam Clin Pharmacol.* 2004;18:539-46.
- 10- Kelly KA. Gastric emptying of liquids and solids: roles of proximal and distal stomach. *Am J Physiol.* 1980;239:G71-6.
- 11- Weisbrodt NW. Gastrointestinal Motility. In: Leonard R. Johnson. 6thed. St. Louis, Missouri USA: Mosby; 2001.
- 12- Rao SSC and Schulze-Delrieu K. The Stomach, pylorus and duodenum – Section 5 Normal gastrointestinal motility. In: An illustrated guide to gastrointestinal motility. Edited by D. Kumar and D. Wingate. 2nded. Churchill Livingstone, NY, USA; 1993.
- 13- Leal-Cardoso JH, Fonteles MC. Pharmacological effects of essential oils of plants of the northeast of Brazil. *An Acad Bras Cienc.* 1999;71:207-13.
- 14 - Graça JRV, Leal PRL, Gondim FAA, Rola FH, Santos AA. Gastric compliance changes induced by acute blood volume variations in anaesthetised rats. *Braz J Med Biol Res.* 2002;35:405-10.
- 15- Capelo LR, Cavalcante DM, Leitão IA, Filho GC, da-Silva EAT. Modifications of gastric compliance in dogs related to changes in extracellular fluid volume: a possible physiological role. *Braz J Med Biol Res.* 1983;16:73-6.
- 16- Craveiro AA, Fernandes AG, Andrade CHS. Óleos essenciais de plantas do Nordeste. Fortaleza: Edições UFC;1981.
-

FIGURE 1

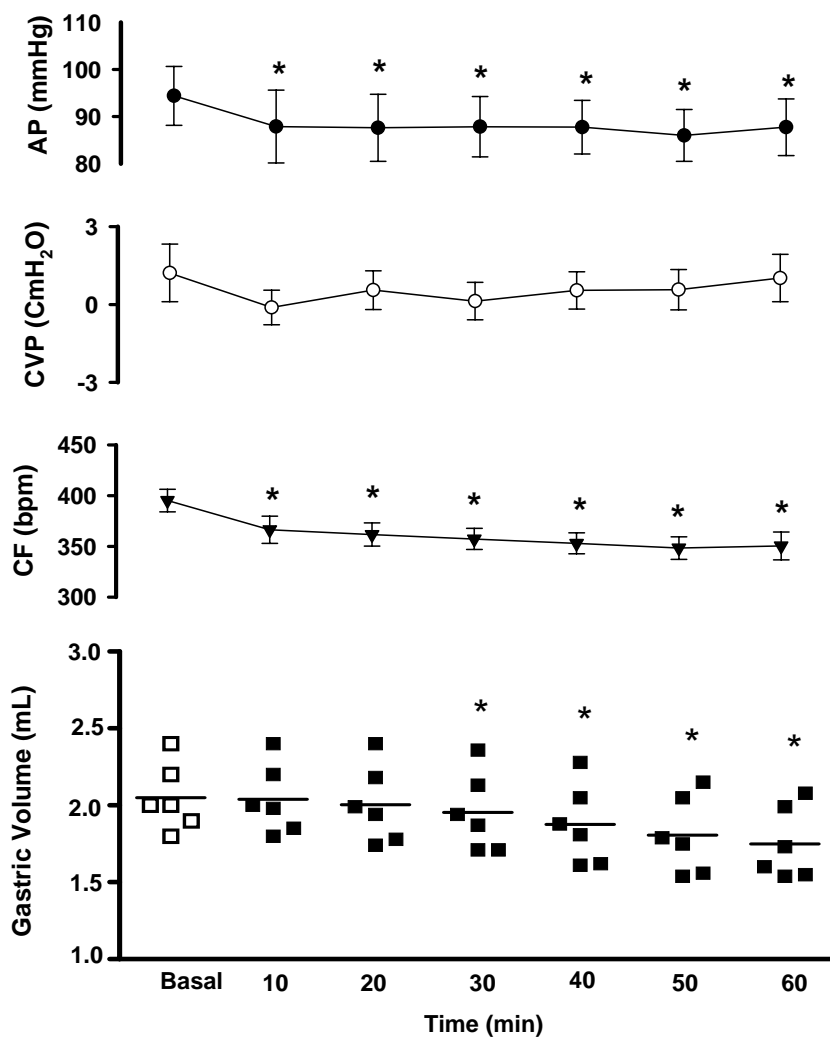


Figure 1. Effects of 1.8 cineole on Arterial Pressure (AP, in mmHg), Central Venous Pressure (CVP, in CmH₂O), Cardiac Frequency (CF, in bpm) and gastric volume (GV, in mL) in an anesthetized rats.

After a basal period of 20min, we treated the animals with 1.8 cineole (1 μ g/Kg, n=6). The values of VG, AP, CVP and CF monitored during 60min had been grouped in six consecutive intervals of 10min (10, 20, 30, 40, 50 and 60, respectively). The data of GV gotten by mean barostatic system are represented in a form of scatter with the horizontal line representing the median. The circles closed and opened and the closed triangles and the vertical lines represent

mean \pm ED of the AP, CVP and CF, respectively. *, P<0,05 versus basal period (ANOVA and Dunnett's test).

FIGURE 2

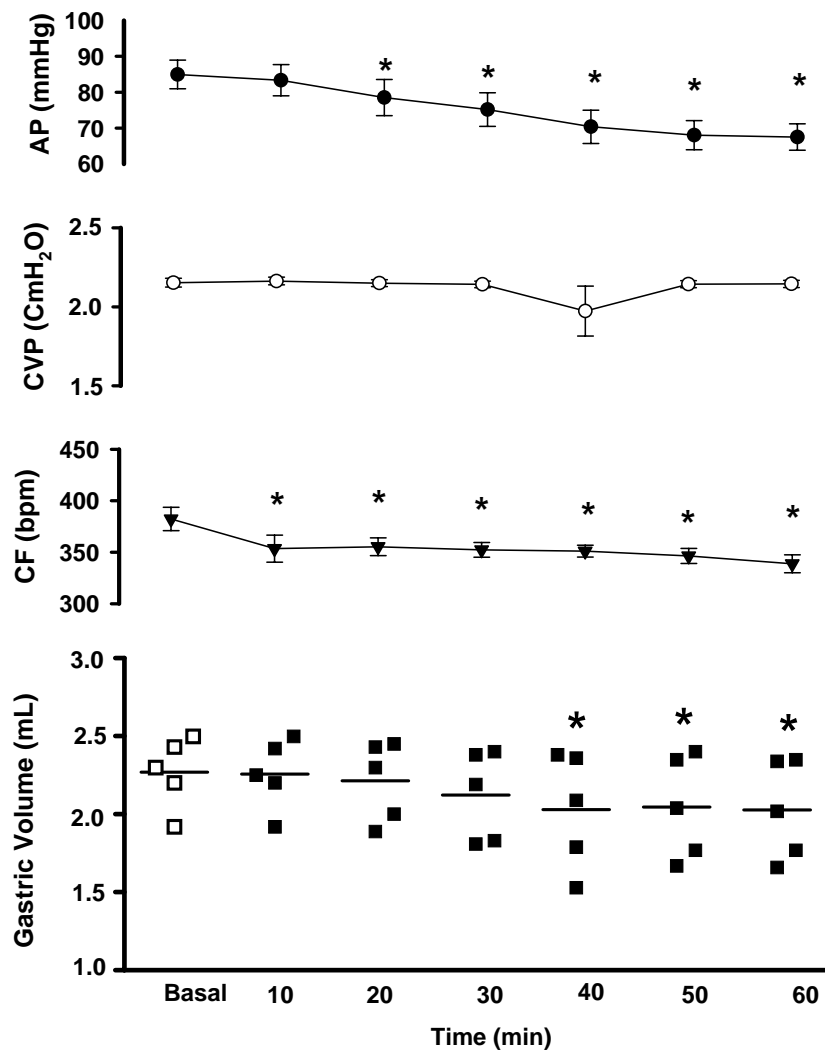


Figure 2. Effects of 1.8 cineole on Arterial Pressure (AP, in mmHg), Central Venous Pressure (CVP, in CmH₂O), Cardiac Frequency (CF, in bpm) and gastric volume (GV, in mL) in an anesthetized rats.

After a basal period of 20min, we treated the animals with 1.8 cineole (3 μ g/Kg, n=5). The values of VG, AP, CVP and CF monitored during 60min had been grouped in six consecutive intervals of 10min (10, 20, 30, 40, 50 and 60, respectively). The data of GV gotten by mean barostatic system are represented in a form of scatter with the horizontal line representing the median. The circles closed and opened and the closed triangles and the vertical lines represent

mean \pm ED of the AP, CVP and CF, respectively. *, P<0,05 versus basal period (ANOVA and Dunnett's test).

FIGURE 3

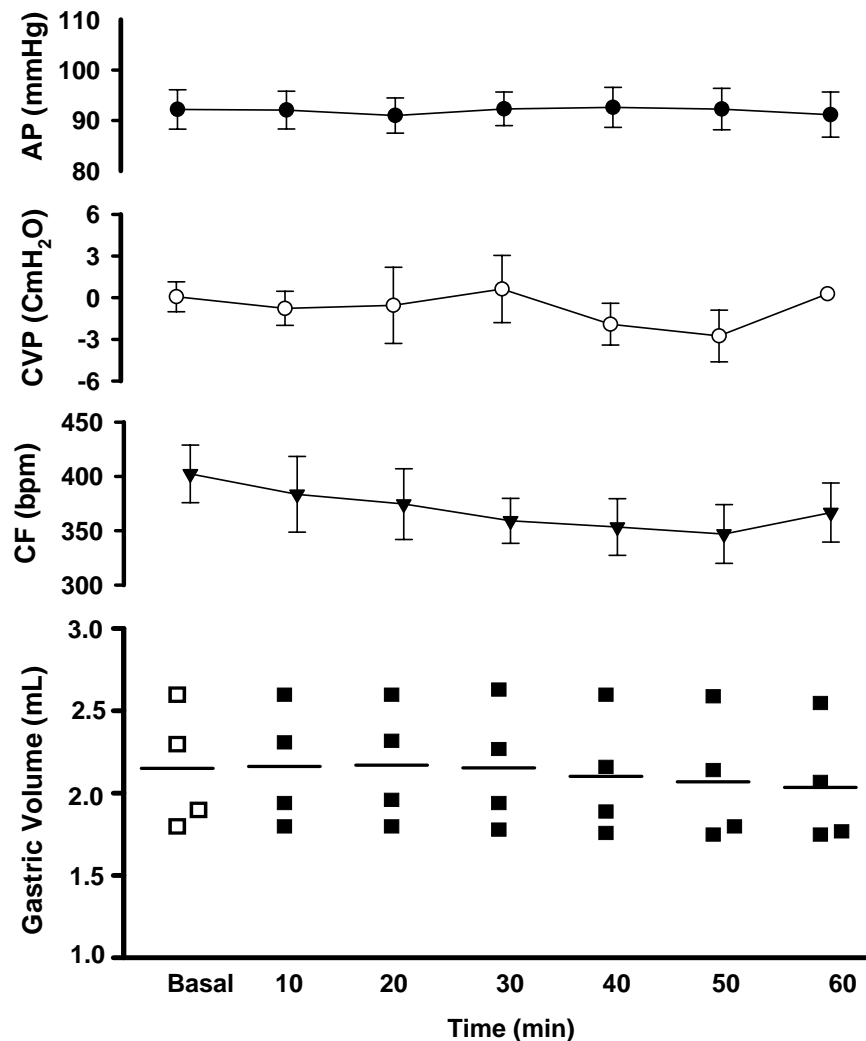


Figure 3. Effects of placebo (saline solution of 0,9%) on Arterial Pressure (AP, in mmHg), Central Venous Pressure (CVP, in CmH₂O), Cardiac Frequency (CF, in bpm) and gastric volume (GV, in mL) in an anesthetized rats.

After a basal period of 20min, we treated the animals with saline 0,9% (0,2 mL, i.v., n=4). The values of VG, AP, CVP and CF monitored during 60min had been grouped in six consecutive intervals of 10min (10, 20, 30, 40, 50 and 60, respectively). The data of GV gotten by mean barostatic system are represented in a form of scatter with the horizontal line representing the median. The circles closed and opened and the closed triangles and the vertical lines represent

mean \pm ED of the AP, CVP and CF, respectively. *, P<0,05 versus basal period (ANOVA and Dunnett's test).