

## EFEITO DA *MATRICARIA CHAMOMILLA* CH12 NA RESPOSTA DE ESTRESSE EM CÃES

Renata Navarro Cassu<sup>1</sup>, Cibele Damião Andreazi<sup>2</sup>, Liliane Pereira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária e do Programa de Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE

<sup>2</sup>Discente do Curso de Medicina Veterinária da UNOESTE

### RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos da *Matricaria chamomilla* CH12 sobre a resposta de estresse em cadelas sob isolamento social e posteriormente submetidas à ovarioossalpingohisterectomia (OSH). Foram utilizadas 18 cadelas, adultas, saudáveis, distribuídas em dois tratamentos: TP (n=9) foi administrado placebo e TC (n=9) foi administrado *Matricaria chamomilla* CH12, ambos por via oral, iniciando-se 15 dias antes do tratamento e continuando por 24 horas após a cirurgia. Foram avaliados o comportamento do animal (durante o período de isolamento social) e a concentração sérica de cortisol mediante colheita de sangue venoso da veia jugular, antes da administração do placebo ou *Matricaria chamomilla* (M0), 15 dias após os respectivos tratamentos (M1), imediatamente ao término do procedimento cirúrgico (M2) e 24 horas após o mesmo (M3). Houve diferença significativa na concentração sérica de cortisol imediatamente ao término do procedimento cirúrgico, com valores mais elevados nos animais tratados com placebo. Conclui-se que o tratamento com *Matricaria chamomilla* CH12 previne a resposta de estresse pós-cirúrgica imediata, mantendo estável a concentração sérica de cortisol.

**Palavras-chave:** cortisol; cães; cirurgia; estresse; *Matricaria chamomilla*.

## EFFECT OF THE *MATRICARIA CHAMOMILLA* CH12 IN STRESS RESPONSE IN DOGS

### ABSTRACT

This study aimed to evaluate the stress response, in female dogs after social isolation and undergoing ovariohysterectomy. Eighteen adult, healthy female dogs were distributed in two treatments groups: TP (n=9), placebo was administered and TC (n = 9), was administered *Matricaria chamomilla* CH12. Both treatments were administered during 15 days before the surgery and maintained for 24 hours postoperative. Behaviors were evaluated during social isolation. Serum cortisol concentration was evaluated before placebo or *Matricaria chamomilla* treatments administration (M0), 15 days after treatments administration (M1), immediately after the surgery (M2) and 24 hours postoperative (M3). There was significant difference in the serum cortisol concentration between the groups immediately after the surgery (M1), with higher values in TP. It was conclude that the treatment with *Matricaria chamomilla* CH12 prevented the post surgical stress, maintaining stable the serum cortisol concentration.

**Keywords:** cortisol; surgery; dogs; *Matricaria chamomilla*; stress.

## INTRODUÇÃO

A resposta de estresse inicia-se com a percepção de uma ameaça potencial à homeostase, pelo sistema nervoso central, de modo a induzir respostas gerais de defesa biológica, como resposta comportamental, resposta do sistema nervoso autônomo e neuroendócrino (CUTOLO; BUTTGEREIT; STRAUB, 2011). Diversas situações podem desencadear a resposta de estresse como medo, ansiedade, dor, trauma cirúrgico e fatores ambientais (FOX et al., 1994; CLARK et al., 2011; BUCHANAN et al., 2011).

Estudos desenvolvidos no homem e em animais têm demonstrado resultados satisfatórios com o uso da fitoterapia e homeopatia na modulação da resposta do estresse (ABEBE, 2002, OHNO et al., 2002, REIS et al., 2006). Plantas que apresentam componentes flavonóides, como, a kava kava, valeriana, camomila, alfazema e passiflora, apresentam efeito ansiolítico, podem favorecer no equilíbrio orgânico em situações de estresse (ZANOLI; AVALLONE; BARALDI, 2000; SARRIS et al., 2011; SINGH et al., 2011).

O emprego da *Matricaria chamomilla*, em situações de estresse, proporcionou efeito sedativo (ABEBE, 2002), além de inibir o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), culminando com a redução da concentração sérica de cortisol (REIS et al., 2006).

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da administração do medicamento homeopático *Matricaria chamomilla* CH12 na resposta de estresse em cadelas sob isolamento social e posteriormente submetidas a ovariossalpingohisterectomia (OSH).

## MATERIAL E MÉTODOS

Após aprovação pelo Comitê de Ética (CEP) da UNOESTE (protocolo n° 115/2004), foram avaliadas 18 cadelas, provenientes do canil

da universidade, sem raça definida, com peso médio de  $10 \pm 0,6$ kg, clinicamente saudáveis, avaliadas por meio de exame físico e laboratorial (hemograma, bioquímico hepático e renal).

Os cães foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos com nove animais: TP: tratamento com placebo (Glóbulos de sacarose, Arenales Fauna & Flora, Homeopatia Animal, Presidente Prudente, Brasil) e TC: tratamento com *Matricaria chamomilla* CH12 (Fator stress, Arenales Fauna & Flora, Homeopatia Animal, Presidente Prudente, Brasil). Ambos os tratamentos foram administrados por via oral a cada 8 horas, durante 15 dias, período em que os cães foram isolados dos demais animais do canil, sendo mantidos em baias individuais de  $1 \times 1,5$ m<sup>2</sup> situadas no Hospital Veterinário. Durante esse período os animais foram avaliados em relação ao comportamento. A avaliação foi cega, feita pelo mesmo pesquisador, que observava o comportamento do animal dentro do canil, 4 vezes ao dia. A avaliação foi feita em função da vocalização (uivar e/ou latir em excesso), comportamento destrutivo (arranhar a grade, cavar o chão, morder a grade) e comportamento compulsivo (morder e/ou lamber as patas frequentemente). O animal que apresentasse uma ou mais dessas alterações comportamentais era avaliado como padrão de ansiedade. Os animais eram alimentados com ração seca, duas vezes ao dia, na quantidade recomendada pelo fabricante, em função do peso corpóreo do animal e água *ad libitum*. Ademais, duas vezes ao dia (pela manhã e fim da tarde) os animais saíam das baias para passeio, período em que ficavam soltos em ambiente externo, durante 60 minutos.

Transcorridos os 15 dias de preparação, os animais foram encaminhados para o procedimento cirúrgico de OSH, mantendo-se nesse dia os tratamentos com placebo e *Matricaria chamomilla* CH12, no TP e TC,

respectivamente. Em todos os cães foi realizada medicação pré-anestésica (MPA) mediante a administração intravenosa (IV) de maleato de acepromazina (Acepran, Univet, São Paulo, Brasil) na dose de 0,05mg/kg. Vinte minutos após a MPA, foi realizada a cateterização da veia cefálica, pela qual foi administrada fluidoterapia, mantida durante todo o procedimento cirúrgico, com Ringer lactato (HalexIstar, Goiânia, Brasil), na infusão de 10ml/kg/h, seguindo-se indução anestésica com propofol (Propovan, Cristália, Itapira, Brasil) na dose de 4mg/kg (IV), para facilitar a punção lombo-sacra, para realização da anestesia peridural, utilizando-se 5µg/kg de fentanil (Fentanest, Cristália, Itapira, Brasil) em associação à lidocaína (Xylestesin com vasoconstrictor, 2%, Cristália, Itapira, Brasil), de modo a perfazer um volume final equivalente de 1,7ml/4kg.

A concentração sérica de cortisol foi avaliada, mediante colheita de sangue da veia jugular, mensurada pelo método de eletroquimioluminescência (Laboratório Criesp, São Paulo, Brasil), antes da administração do placebo ou *Matricaria chamomilla* (M0), 15 dias após os respectivos tratamentos (M1), imediatamente ao término do procedimento cirúrgico (M2) e 24 horas após o mesmo (M3).

No período pós-operatório, os animais foram tratados com 2mg/kg de tramadol (Tramadon, Cristália, Itapira, Brasil) a cada 8 horas e 0,1mg/kg de meloxicam (Movatec, Boehringer Ingelheim do Brasil, Santo Amaro, Brasil), a cada 24 horas. Ambos os fármacos foram administrados por via subcutânea, iniciando-se ao término da cirurgia, após a colheita de cortisol do M2. Ademais, os animais receberam antibioticoterapia, com enrofloxacin (Baytril 5%, Bayer S/A, São Paulo, Brasil) na dose de 5mg/kg (a cada 12 horas), durante sete dias. Curativos locais da ferida cirúrgica foram feitos

diariamente, a cada 12 horas, com solução fisiológica, até a retirada dos pontos.

Para a comparação de médias de cortisol ao longo do tempo dentro de cada grupo, a estatística foi realizada por meio de análise de variância e teste de Tukey. Na comparação de médias de grupos em cada momento, utilizou-se o teste t não pareado (ZAR, 1996). Em todos os testes empregados, foi considerado nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Todos os animais avaliados foram classificados com comportamento de ansiedade no período dos 15 dias de avaliação.

Houve aumento significativo na concentração sérica do cortisol nos animais tratados com placebo em relação ao tratamento com *Matricaria chamomilla* CH12 imediatamente ao término do procedimento cirúrgico (M2). Na comparação entre momentos houve aumento significativo em M2 em relação aos demais momentos nos animais tratados com placebo (Figura 1).

## DISCUSSÃO

A ansiedade é uma importante alteração fisiológica decorrente da resposta de estresse, perceptível em diversas situações, como em animais confinados sob diferentes formas de contenção ou isolamento social (TUBER et al., 1996). Em estudo realizado em cães, submetidos ao isolamento social, mantidos em canis individuais por período de oito semanas, foi demonstrada alteração comportamental, com sinais de irritabilidade e ansiedade, expressos mediante vocalização e atividade locomotora intensa, além do aumento na concentração sérica de glicocorticóides, sugerindo que o novo ambiente foi capaz de induzir a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), culminando com a resposta de estresse (TUBER et al., 1996).

No presente estudo, ansiedade foi observada em ambos os grupos, com excesso de latidos e sinais de inquietude, como arranhar a grade dos canis durante o período de confinamento de 15 dias. No entanto, as concentrações séricas de cortisol não foram alteradas em relação aos valores basais, mantendo-se dentro dos valores fisiológicos para a espécie canina, compreendidos entre 0,25 a 2,3 µg/dl (RUSSEL et al., 2007), independente do tratamento administrado, sugerindo que nesse período a *Matricaria chamomilla* CH12 não interferiu no comportamento ou na resposta neuroendócrina dos animais. Resultados divergentes foram relatados na espécie bovina, em que após 14 dias de tratamento com *Matricaria chamomilla* CH12, observou-se redução de 38,4% na concentração de cortisol, quando comparado ao grupo controle (REIS et al., 2006).

O exato mecanismo de ação, mediante o qual os flavonóides exercem efeito ansiolítico ainda não está completamente elucidado. Alguns flavonóides se ligam a receptores GABA-benzodiazepínicos (GYLLENHAAL et al., 2000), produzindo depressão sobre o sistema nervoso central (ABEBE, 2002). Em ratos foi demonstrado que os flavonóides, apigenina e crisina, componentes da *Matricaria chamomilla* e da *Passiflora incarnata*, respectivamente, reduziram a capacidade de locomoção dos animais, no entanto, somente o efeito sedativo induzido pela crisina foi totalmente revertido pela administração do antagonista benzodiazepínico, flumazenil (ZANOLI; AVALLONE; BARALDI, 2000).

Alguns estudos têm demonstrado incremento nas concentrações séricas de cortisol em função da resposta de estresse pós-cirúrgico (KHO et al., 2000; MARANA et al., 2000; MARTINS et al., 2010; VEENHOF et al., 2012). No atual estudo, no período pós-operatório imediato, a concentração sérica de cortisol manteve-se estável nos cães tratados com

*Matricaria chamomilla* CH12, enquanto aqueles tratados com placebo apresentaram níveis elevados de cortisol, excedendo o limite máximo fisiológico desse hormônio para a referida espécie, sugerindo que a *Matricaria chamomilla* favoreceu a inibição do eixo do HPA. Em estudo *in vitro*, Ohno et al. (2002) observaram redução de 47,5% na produção de cortisol das glândulas adrenais de seres humanos, após exposição à apigenina, flavonóide isolado da *Matricaria chamomilla*.

Durante as primeiras horas transcorridas após o término da cirurgia, a secreção de cortisol pela glândula adrenal aumenta rapidamente, podendo manter-se elevada até 12 horas após o término da cirurgia, em dependência da magnitude do trauma cirúrgico (FOX et al., 1994). Dessa forma, o retorno da concentração do cortisol próximo aos valores basais, observado 24 horas após a cirurgia, em ambos os tratamentos, confirma a resposta de modulação neuroendócrina fisiológica ao longo do tempo, bem como pode ter sofrido influências da utilização de analgésicos no período pós-operatório. Estudos desenvolvidos em cães tratados com tramadol têm relatado estabilidade na concentração sérica de cortisol no período pós-operatório, sugerindo que esse analgésico contribua para a inibição da resposta de estresse desencadeada pelo estímulo cirúrgico (MASTROCINQUE; FANTONI, 2003; MARTINS et al., 2010; PAOLOZI et al., 2011). Ademais, estudos prévios também demonstraram a atenuação da resposta inflamatória e diminuição da concentração plasmática de cortisol, após o uso de meloxicam, em bovinos e ovinos (MCKEOWN et al., 2000; KONIGSSON; ODENSVIK; KINDAHL, 2002).

Conclui-se que o emprego de *Matricaria chamomilla* CH12 previne a elevação da concentração sérica de cortisol, no período pós-operatório imediato, de cadelas submetidas à

OSH, sugerindo que esse tratamento possa ser um adjuvante das terapias convencionais utilizadas, favorecendo a inibição da resposta de estresse.

## AGRADECIMENTOS

Ao laboratório Arenales Fauna & Flora, Homeopatia Animal, pela doação do medicamento *Fator stress* e dosagem da concentração sérica do cortisol.

## REFERÊNCIAS

- ABEBE, W. Herbal medication: potential for adverse interactions with analgesic drugs. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 27, p. 391-401, 2002. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2710.2002.00444.x>.
- BUCHANAN, T. W.; BAGLEY, S. L.; STANSFIELD, R. B.; PRESTON, S. D. The empathic, physiological resonance of stress. **Social Neuroscience**, v. 21, 2011 (online). <http://dx.doi.org/10.1080/17470919.2011.588723>.
- CLARK, C.; MENDEL, M.; JAMIESON, J.; ARNONE, A.; WATERMAN-PEARSON, A.; MURRELL, J. Do psychological and physiological stressors alter the acute pain response to castration and tail docking in lambs? **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 38, n. 2, p. 134-145, 2011. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-2995.2011.00594.x>.
- COUSINS, M. Acute and postoperative pain. In: WALL, P. D.; MELZACK, R. (Eds.). **Textbook of pain**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994. p. 357-385.
- CUTOLO, M.; BUTTGEREIT, F.; STRAUB, R. H. Regulation of glucocorticoids by the central nervous system. **Clinical and Experimental Rheumatology**, v. 29, p. 19-22, 2011.
- FOX, S. M.; MELLOR, D. J.; FIRTH, E. C.; HODGE, H.; LAWOKO, C. R. Changes in plasma cortisol concentrations before, during and after analgesia, anaesthesia plus ovariohysterectomy in bitches. **Research of Veterinary Science**, v. 57, p. 110-118, 1994. [http://dx.doi.org/10.1016/0034-5288\(94\)90091-4](http://dx.doi.org/10.1016/0034-5288(94)90091-4).
- GYLLENHAAL, C.; MERRITT, S. L.; PETERSON, S. D.; BLOCK, K. I.; GOCHENOUR, T. Efficacy and safety of herbal stimulants and sedatives in sleep disorders. **Sleep Medicine Reviews**, v. 4, p. 229-251, 2000. <http://dx.doi.org/10.1053/smr.1999.0093>.
- KONIGSSON, K.; ODENSVIK, K.; KINDAHL, H. Endocrine, metabolic and clinical effects of intravenous endotoxin injection after pre-treatment with meloxicam in heifers. **Journal of Veterinary Medicine. A, physiology, pathology, clinical medicine**, v. 49, p. 408-414, 2002. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1439-0442.2002.00461.x>.
- MARANA, R.; MARGUTTI, F.; CATALANO, G. F.; MARANA, E. Stress responses to endoscopic surgery. **Current Opinion in Obstetrics and Gynecology**, v. 12, p. 303-307, 2000. <http://dx.doi.org/10.1007/s002689900583>.
- MARTINS, T.; KAHVEGIAN, M. A.; NOEL-MORGAN, J.; LEON-ROMÁN, M. A.; OTSUKI, D. A.; FANTONI, D. T. Comparison of the effects of tramadol, codeine, and ketoprofen alone or in combination on postoperative pain and on concentrations of blood glucose, serum cortisol, and serum interleukin-6 in dogs undergoing maxillectomy or mandibulectomy. **American Journal Veterinary Research**, v. 71, p. 1019-1026, 2010. <http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.71.9.1019>.
- MASTROCINQUE, S.; FANTONI, D. T. A comparison of preoperative tramadol and morphine for the control of early postoperative

pain in bitches submitted to ovariohysterectomy.

**Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 30, p. 220-228, 2003. [http:// dx.doi.org/ 10.1046/j.1467-2995.2003.00090.x](http://dx.doi.org/10.1046/j.1467-2995.2003.00090.x)

MCKEOWN, K. J.; CHALLIS, J. R.; SMALL, C.; ADAMSON, L.; BOCKING, A. D.; FRASER, M.; RURAK, D.; RIGGS, K. W.; LYE, S. J. Altered fetal pituitary-adrenal function in the ovine fetus treated with RU486 and meloxicam, an inhibitor of prostaglandin synthase-II. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 1899-1904, 2000. [http:// dx.doi.org/ 10.1095/biolreprod63.6.1899](http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod63.6.1899).

OHNO, S.; SHINODA, S.; TOYOSHIMA, S.; NAKAZAWA, H.; MAKINO, T.; NAKAJIN, S. Effects of flavanoids phytochemicals on cortisol production and on activities of steroidogenic enzymes in human adrenocortical H295R cells. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 80, p. 355-363, 2002. [http:// dx.doi.org/ 10.1016/S0960-0760\(02\)00021-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-0760(02)00021-3).

PAOLOZZI, R. J.; CASSU, R. N.; CRUZ, F. S. F.; PARRILHA, L. R. Diferentes doses de tramadol em cães: ações analgésicas, sedativas e sobre o sistema cardiorrespiratório. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1417-1423, 2011.

REIS, L. S.; PARDO, P. E.; OBA, E.; KRONKA, S. N.; FRAZATTI-GALLINA, N. M. *Matricaria chamomilla* CH<sub>12</sub> decreases handling stress in Nelore calves. **Journal of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, p. 189-192, 2006. <http://dx.doi.org/10.4142/jvs.2006.7.2.189>.

RUSSELL, N. J.; FOSTER, S.; CLARK, P.; ROBERTSON, I. D.; LEWIS, D.; IRWIN, P. J. Comparison of radioimmunoassay and chemiluminescent assay methods to estimate canine blood cortisol concentrations. **Australian Veterinary Journal**, v. 85, p. 487-494, 2007.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.2007.00232.x>.

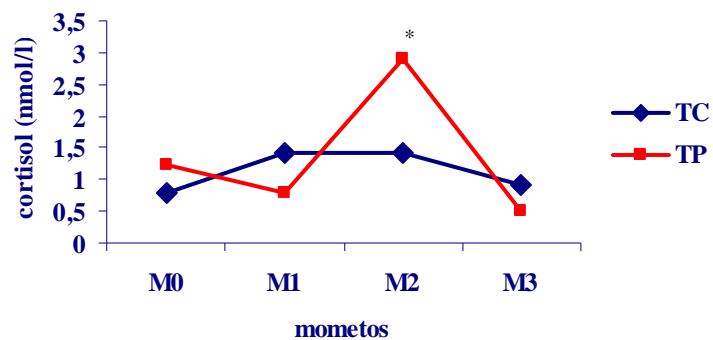
SINGH, O.; KHANAM, Z.; MISRA, N.; SRIVASTAVA, M. K. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. **Pharmacognosy Reviews**, v. 5, p. 82-95, 2011. [http://dx.doi.org/ 10.4103/0973-7847.79103](http://dx.doi.org/10.4103/0973-7847.79103).

TUBER, D. S.; SANDERS, S.; HENNESSY, M. B.; MILLER, J. A. Behavioral and glucocorticoid. Responses of adult domestic dogs (*Canis familiaris*) to companionship and social separation. **Journal of Comparative Psychology**, v. 110, p. 103-108, 1996. [http://dx.doi.org/ 10.1037/0735-7036.110.1.103](http://dx.doi.org/10.1037/0735-7036.110.1.103).

VEENHOF, A. A.; VLUG, M. S.; VAN DER PAS, M. H.; SIETSES, C.; VAN DER PEET, D. L.; DE LANGE-DE KLERK, E. S.; BONJER, H. J.; BEMELMAN, W. A.; CUESTA, M. A. Surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopy or open surgery with fast track or standard perioperative care: a randomized trial. **Annals of Surgery**, v. 255, p. 216-221, 2012. <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e31824336e2>

ZANOLI, P.; AVALLONE, R.; BARALDI, M. Behavioral characterisation of the flavonoids apigenin and chrysin. **Fitoterapia**, v. 71, p. 117-123, 2000. [http://dx.doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00186-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00186-6).

ZAR, J. H. (Ed). **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice-Hall Upper Saddle River, 1996. 718 p.



\*diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,05$ ). M0 = basal/ M1= 15 dias após os tratamentos/ M2= ao término do procedimento cirúrgico/ M3 = 24 horas após o término da cirurgia.

**Figura 1.** Valores médios da concentração sérica de cortisol (nmol/l) em cadelas tratadas com *Matricaria chamomilla* CH12 (TC) ou placebo (TP).