

NOCICEPTORES

As células que sentem dor

Alan Fein

TRADUÇÃO

NO C I C E P T O R E S

As células que sentem dor

Alan Fein, PhD

*Professor of Cell Biology
University of Connecticut Health Center
Farmington*



NOCICEPTORS: The Cells That Sense Pain by [Alan Fein](#) é licenciado sob uma Licença [Creative Commons](#) atribuição vedada à criação de obras derivativas 3.0 Brasil Based on work at dol.inf.br/nociceptores

Fein A.

NOCICEPTORES: As células que sentem dor.

Petrov P, Francischi JN, Ferreira SH, et al. tradutores.

Ribeirão Preto – SP: Dor On Line; 2011. 106 p.

Disponível em: <http://www.dol.inf.br/nociceptores>

Esta edição eletrônica está publicada em conformidade com o Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa.

Revisão Científica

Janetti Nogueira de Francischi

Professora Titular do Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais – ICB-UFMG

Sérgio Henrique Ferreira

Médico e Professor Titular Aposentado do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FMRP-USP

Tradução

Paulo Petrov

Médico Anestesiologista

Certificação Médica em Dor pela Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor – SBED

Agradecimento

Ieda Regina dos Santos

Bióloga do Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – FMRP-USP

Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento

Bacharel em Química com Atribuições Tecnológicas

Doutor em Ciências e Professor Adjunto de Química na Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília – FCE-UnB

Vanessa Mariotto

Secretária da Dor On Line – DOL

Conteúdo

A dor é uma sensação desagradável que tem a função primária de proteção do organismo; em contrapartida, na cronicidade não auxilia evidentemente a sobrevivência.

Esta edição eletrônica é uma introdução ao estudo da dor, a qual apresenta uma investigação experimental do sistema sensorial especializado, os nociceptores.

Parte I – Nociceptores

*O autor revisa o sistema nervoso periférico sensorial especializado que fornece informações ao sistema nervoso central sobre a lesão tecidual ocasionada por estímulos nocivos, os **nociceptores aferentes primários** e as **sensações dolorosas**. Descreve as **classes dos nociceptores**. Analisa a **função dos nociceptores** e o mecanismo de **funcionamento do nociceptor**. A ocorrência de **hiperalgesia** e a **sensibilização dos nociceptores**.*

Parte II – Transdução Sensorial

*Nesta parte, uma explicação sobre os mecanismos moleculares de sinalização pelo estímulo nocivo é apresentada. As alterações da permeabilidade iônica na membrana plasmática, o **potencial de repouso** e o **gradiente de concentração**. A relação entre a estrutura e a função dos **canais de íons**. Os tipos de **estímulos sensoriais** que ocorrem durante a lesão tecidual.*

Parte III – Receptores de Potencial Transitório (TRP)

*Uma análise das propriedades dos canais de cátions TRP. A descoberta de TRP em fotorreceptores de *Drosophila melanogaster*. A classificação dos TRP nos mamíferos e as sensações decorrentes das moléculas irritantes ou nocivas sobre o *sabor e quimioestesia*, como a *capsaicina*. Os canais TRP envolvidos na transdução de sinal no nociceptor: TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1 e TRPM8.*

Parte IV – Mediadores Químicos

O autor examina os mediadores químicos considerados importantes no nociceptor: a serotonina (5-HT), a bradicinina (BK), o trifosfato de adenosina (ATP), as proteases e a inflamação neurogênica, o baixo potencial hidrogeniônico (pH), o ácido lisofosfatídico (LPA) e o fator de crescimento neural (NGF). Simultaneamente, evidencia os receptores e os canais de íons possivelmente envolvidos na execução das ações dos mediadores químicos.

Parte V – Canais de Íons Controlados por Voltagem (VGICs)

*Uma verificação do papel das correntes de membrana na geração e na propagação dos potenciais de ação, do mesmo modo que a liberação de neurotransmissores das terminações pré-sinápticas. As respostas e as sensações de dor nos *canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa (Na_v)*, como: Na_v1.8, Na_v1.9, Na_v1.7, Na_v1.3, Na_v1.1 e Na_v1.6. Os *canais de potássio controlados por voltagem (K_v)* no efeito da morfina e os *canais de cálcio controlados por voltagem (Ca_v)*. A regulação da frequência de disparo nos *canais de cátions controlados por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização (HCN)*.*

Parte VI – Dor Crônica

*Uma descrição dos *mecanismos básicos da neuralgia*. Os *modelos de lesões neuronais experimentais* e dois exemplos de síndromes de dor crônica: a *síndrome de dor regional complexa* e a *neuralgia do trigêmeo*. Alguns exemplos da diversidade de tratamento: *gabapentina e pregabalina, artemin e canabinoide*. O padrão de disparo resultante da corrente em marcapasso. A *atividade espontânea* e a *toxina botulínica tipo A*. Dor espontânea, hiperalgesia e alodínia associada à *desmielinização*.*

Abreviaturas e Siglas

anti-inflamatório não esteroidal	AINE	see NSAID
artemin	ARTN	artemin
toxina botulínica tipo A	BTXA	botulinum toxin type A
toxina botulínica C três	BTXC3	botulinum toxin type C three
canabinoides	CB	cannabinoids
ácido desoxirribonucleico complementar	cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
adjuvante completo de Freund	CFA	complete Freund's adjuvant
célula ovariana de hamster chinês	CHO	chinese hamster ovary cells
veja SNC	CNS	central nervous system
veja SDRC	CRPS	complex regional pain syndrome
veja GRD	DRG	dorsal root ganglion
toxina diftérica A	DTA	diphtheria toxin A
veja RE	ER	endoplasmic reticulum
gânglio da raiz dorsal	GRD	see DRG
células embrionárias humanas de rim 293	HEK293	human embryonic kidney 293 cells
ácido ribonucleico mensageiro	mRNA	messenger ribonucleic acid
veja AINE	NSAID	nonsteroidal anti-inflammatory drug
veja SNP	PNS	peripheral nervous system
retículo endoplasmático	RE	see ER
rodopsina	Rho	rhodopsin
ácido ribonucleico	RNA	ribonucleic acid
síndrome de dor regional complexa	SDRC	see CRPS
sistema nervoso central	SNC	see CNS
sistema nervoso periférico	SNP	see PNS
tetrodotoxina	TTX	tetrodotoxin
resistente à tetrodotoxina	TTX-R	tetrodotoxin-resistant
sensível à tetrodotoxina	TTX-S	tetrodotoxin-sensitive

Canais e Receptores

receptor de 5-hidroxitriptamina dois A	5-HT_{2A}	5-hydroxytryptamine receptor two A
receptor de 5-hidroxitriptamina três	5-HT₃	5-hydroxytryptamine receptor three
canal de íon sensível ao ácido	ASIC	acid-sensing ion channel
receptor um de bradicinina	B₁	bradykinin receptor one
receptor dois de bradicinina	B₂	bradykinin receptor two
canal de cálcio controlado por voltagem	Ca_v	voltage gated calcium channel
receptor canabinoide tipo um	CB₁	cannabinoid receptor type one
receptor canabinoide tipo dois	CB₂	cannabinoid receptor type two
receptor opioide delta (δ)	DOR	(δ) delta-opoid receptor
receptor de prostanóide E	EP	E prostanoid receptor
coreceptor alfa três da família do GDNF	GFRα3	co-receptor alfa three GDNF family
receptor acoplado à proteína G	GPCR	G protein-coupled receptor
canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização	HCN	hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel
canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização dois	HCN2	hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel two
canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização quatro	HCN4	hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel four
receptor de prostaciclina	IP	prostacyclin receptor
canal de potássio de dois poros	K_{2p}	two-pore potassium channel
canal de potássio de dois poros dois	K_{2p2.1}	two-pore potassium channel two

Nociceptores: as células que sentem dor

canal de potássio de dois poros três	K_{2p}3.1	two-pore potassium channel three
canal de potássio de dois poros quatro	K_{2p}4.1	two-pore potassium channel four
canal de potássio de dois poros cinco	K_{2p}5.1	two-pore potassium channel five
canal de potássio de dois poros dez	K_{2p}10.1	two-pore potassium channel ten
canal de potássio de retificação interna	K_r	inwardly-rectifying potassium channel
receptor opioide kappa (κ)	KOR	(κ) kappa-opioid receptor
canal de potássio controlado por voltagem	K_v	voltage-gated potassium channel
canal de íon controlado por ligante	LGIC	ligand-gated ion channel
receptor de baixa afinidade do fator de crescimento neural	LNGFR	low-affinity nerve growth factor receptor
receptor do ácido lisofosfatídico um	LPA₁	lysophosphatidic acid receptor one
receptor opioide mu (μ)	MOR	(μ) mu-opioid receptor
canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa	Na_v	alpha subunit voltage-gated sodium channel
canal de sódio controlado por voltagem alfa I	Na_v1.1	sodium channel, voltage-gated, alpha I
canal de sódio controlado por voltagem alfa III	Na_v1.3	sodium channel, voltage-gated, alpha III
canal de sódio controlado por voltagem alfa VI	Na_v1.6	sodium channel, voltage-gated, alpha VI
canal de sódio controlado por voltagem alfa VII	Na_v1.7	sodium channel, voltage-gated, alpha VII
canal de sódio controlado por voltagem alfa VIII	Na_v1.8	sodium channel, voltage-gated, alpha VIII
canal de sódio controlado por voltagem alfa IX	Na_v1.9	sodium channel, voltage-gated, alpha IX
receptor purinérgico	P2	purinergic receptor
purinoceptor do canal de íon controlado por ligante	P2X	ligand-gated ion channel purinoceptor
purinoceptor do canal de íon controlado por ligante dois	P2X₂	ligand-gated ion channel purinoceptor two
purinoceptor do canal de íons controlado por ligante três	P2X₃	ligand-gated ion channel purinoceptor three
purinoceptor acoplado à proteína G	P2Y	G protein-coupled purinoceptor
purinoceptor acoplado à proteína G um	P2Y₁	G protein-coupled purinoceptor one
purinoceptor acoplado à proteína G dois	P2Y₂	G protein-coupled purinoceptor two
receptor ativado por proteases	PAR	protease-activated receptor
receptor ativado por proteases um	PAR1	protease-activated receptor one
receptor ativado por proteases dois	PAR2	protease-activated receptor two
receptor ativado por proteases quatro	PAR4	protease-activated receptor four
receptor da tirosina quinase	RTK	receptor tyrosine kinase
receptor sulfonilureia	SUR	sulfonylurea receptor
receptor da tirosina quinase neurotrófica um	TRK1	neurotrophic tyrosine kinase receptor one
receptor de potencial transitório	TRP	transient receptor potential
receptor de potencial transitório anquirina um	TRPA1	transient receptor potential ankyrin one
receptor de potencial transitório melatatina oito	TRPM8	transient receptor potential melastatin eight
receptor de potencial transitório vaniloide um	TRPV1	transient receptor potential vanilloid one
receptor de potencial transitório vaniloide dois	TRPV2	transient receptor potential vanilloid two
receptor de potencial transitório vaniloide três	TRPV3	transient receptor potential vanilloid three
receptor de potencial transitório vaniloide quatro	TRPV4	transient receptor potential vanilloid four
canal de íon controlado por voltagem	VGIC	voltage-gated ion channel

Mediadores Químicos

5-hidroxitriptamina	5-HT	5-hydroxytryptamine
ácido araquidônico	AA	arachidonic acid
adenilato ciclase	AC	adenylate cyclase
veja ECA	ACE	angiotensin converting enzyme
acetilcolina	ACh	acetylcholine
proteína quinase A âncora cinco	AKAP5	A-kinase anchor protein five
trifosfato de adenosina	ATP	adenosine triphosphate
bradicinina	BK	bradykinin
monofosfato de adenosina cíclico	cAMP	cyclic adenosine monophosphate
guanosina monofosfato cíclico	cGMP	cyclic guanosine monophosphate
peptídeo relacionado ao gene da calcitonina	CGRP	calcitonin gene-related peptide
ciclooxigenase	COX	cyclooxygenase
diacilglicerol	DAG	diacylglycerol
enzima conversora da angiotensina	ECA	see ACE
quinases reguladas por sinal extracelular um e dois	ERK_{1/2}	extracellular signal-regulated kinase one and two
ácido gama-aminobutírico	GABA	gamma-aminobutyric acid
fator neurotrófico derivado da célula glial	GDNF	glial cell-derived neurotrophic factor
guanosina difosfato	GDP	guanosine diphosphate
proteína G inibitória	G_i	inhibitory G-protein
proteína G estimulante	G_s	stimulant G protein
guanosina trifosfato	GTP	guanosine triphosphate
ácido hidroperoxieicosatetraenoico	HPETE	12-hydroxyeicosatetraenoic acid
inositol trifosfato	IP₃	inositol trisphosphate
lipoxigenase	LOX	lipoxygenase
ácido lisofosfatídico	LPA	lysophosphatidic acid
proteína quinase ativada por metógeno	MAPK	mitogen-activated protein kinase
<i>N</i> -araquidonoildopamina	NADA	<i>N</i> -arachidonoyldopamine
fator de crescimento neural	NGF	nerve growth factor
óxido nítrico	NO	nitric oxide
fosfatidil colina	PC	phosphatidyl choline
prostaglandina E ₂	PGE₂	prostaglandin E ₂
prostaciclina	PGI₂	prostacyclin
fosfadilinositol difosfato	PIP₂	phosphatidylinositol bisphosphate
proteína quinase C	PKC	protein kinase C
proteína quinase C épsilon	PKCϵ	protein kinase C epsilon
proteína quinase G	PKG	protein kinase G
fosfolipase A ₂	PLA₂	phospholipase A ₂
fosfolipase C	PLC	phospholipase C
fosfolipase C-beta	PLC-β	phospholipase C-beta
fosfolipase D	PLD	phospholipase D
ácido graxo poli-insaturado	PUFA	polyunsaturated fatty acid
pequena GTPase	Ras	small GTPase
família homólogo Ras membro A	RhoA	Ras homolog gene family, member A
família homólogo Ras membro B	RhoB	Ras homolog gene famil, member B
proteína quinase associada à Rho	ROCK	Rho-associated protein kinase
substância P	SP	substance P

Símbolos

metro por segundo	m/s	metre per second
micrômetro	μm	micrometer
milissegundo	ms	millisecond
grau Celsius	°C	degree Celsius
cátion potássio	K⁺	potassium cation
potencial de membrana	V_M	membrane potential
potencial de equilíbrio do íon potássio	E_K	potassium ion equilibrium potential
constante universal dos gases	R	universal gas constant
temperatura absoluta	T	absolute temperature
temperatura em kelvin	K	kelvin temperature
valência do íon	z	ion valance
constante de Faraday	F	Faraday constant
quantidade de matéria	mol	amount of substance
logaritmo natural	ln	natural logarithm
concentração extracelular do íon potássio	[K⁺]_e	extracellular potassium ion concentration
concentração intracelular do íon potássio	[K⁺]_i	intracellular potassium ion concentration
cátion sódio	Na⁺	sodium cation
potencial de equilíbrio do íon sódio	E_{Na}	sodium íon equilibrium potential
concentração extracelular do sódio	[Na⁺]_e	extracellular sodium ion concentration
concentração intracelular do íon sódio	[Na⁺]_i	intracellular sodium ion concentration
milimol	mM	millimolar
ânion cloro	Cl⁻	chloride anion
milivolt	mV	millivolt
cátion cálcio	Ca²⁺	calcium cation
concentração intracelular do íon cálcio	[Ca²⁺]_i	intracellular calcium ion concentration
concentração extracelular do íon cálcio	[Ca²⁺]_e	extracellular calcium ion concentration
potencial hidrogeniônico	pH	hydrogen-ion potential
potencial de reversão	E_{rev}	reversal potential
logaritmo	log	logarithm
permeabilidade ao íon potássio	P_K	potassium permeability
permeabilidade ao íon sódio	P_{Na}	sodium permeability
micrograma	μg	microgram
micromolar	μM	micromolar
corrente de sódio	I_{Na}	sodium current
corrente interna de potássio	I_{Kir}	potassium inward current
corrente de cálcio	I_{Ca}	calcium current
corrente de hiperpolarização	I_h	hyperpolarization current
corrente “engraçado”	I_f	“funny” current
corrente “esquisito”	I_q	“queer” current
corrente de potássio	I_k	potassium current

I – Nociceptores

A dor é uma sensação desagradável, constituindo um dos componentes essenciais do sistema de defesa do organismo. Fornece um rápido aviso ao sistema nervoso para iniciar uma resposta motora e minimizar o prejuízo físico. A falta da capacidade de experimentar a dor – como na rara condição de insensibilidade congênita à dor com anidrose¹ – pode causar vários problemas sérios para a saúde, tais como: automutilações, autoamputações e perda da visão.

Até o século XX, houve um debate acalorado e vigoroso sobre a natureza da dor. Um lado defendia que o estímulo sensorial que normalmente ativa os órgãos do sentido, tal como o tato, iria iniciar a dor através dos mesmos órgãos, se o estímulo fosse suficientemente forte. Outro lado defendia que existia uma classe especializada de órgãos do sentido específicos para a dor.

No final do século passado, o debate foi definido e demonstrado conclusivamente que existem órgãos sensoriais especializados, que detectam a dor.

Dor e Nocicepção

A palavra “dor”, na língua portuguesa*, vem do latim: *dolore*, que significa sofrimento; e “pain” na língua inglesa, do grego: *poiné*, pena.

Os fisiologistas distinguem os termos, dor e nocicepção, onde a *nocicepção* se refere aos sinais que chegam ao sistema nervoso central resultante da ativação dos receptores sensoriais especializados, denominados *nociceptores*, que fornecem informações sobre a lesão tecidual ocasionada por *estímulos nocivos*, daí a origem da nomenclatura. Consequentemente, a *dor é uma experiência emocional desagradável, que geralmente acompanha a nocicepção*.

O foco dessa edição eletrônica são os *nociceptores*, os receptores sensoriais especializados que fornecem informações sobre a lesão tecidual ocasionada por estímulos nocivos.

* Nota do tradutor

Neurônios sensoriais

Historicamente, para aprender alguma coisa sobre o estímulo que ativa um grande número de nociceptores, entre as fibras nervosas selecionadas aleatoriamente, foram tipicamente estudadas as que inervam a pele. Os grandes nervos periféricos, em animais, são na realidade uma combinação de feixes, composto por milhares de fibras nervosas individuais, delimitadas por uma bainha de tecido conectivo frouxo. A velocidade de condução com que as fibras nervosas individuais, no feixe, transmitem os potenciais de ação para e do sistema nervoso, podem variar mais do que 100 vezes, tornando interessante saber a velocidade de condução, nas fibras, que transportam o sinal dos nociceptores ao cérebro.

A atividade elétrica em uma fibra individual, no feixe nervoso, pode ser isolada e verificada, usando uma variedade de métodos, um dos quais é mostrado na [Figura 1.1](#). Nesse exemplo citado, um eletrodo intracelular foi introduzido no corpo celular de um neurônio sensorial, localizado no *gânglio da raiz dorsal* (GRD) e dessa maneira registrar sua atividade elétrica. O GRD é composto por vários corpos celulares de neurônios sensoriais e está localizado lateralmente à medula espinhal da coluna vertebral. Estes neurônios sensoriais têm axônios que se projetam aos tecidos periféricos, como a pele e são responsáveis pelas sensações em nosso corpo. O gânglio trigeminal é análogo ao GRD da medula espinhal e responsável pelas sensações na face. A velocidade de condução, no neurônio estimulado, foi medida usando um pulso de voltagem breve, aplicado ao eletrodo estimulante extracelular, para evocar o potencial de ação na fibra do feixe nervoso. Sabendo-se a distância entre o eletrodo estimulante e o local do eletrodo de registro e o tempo que leva o potencial de ação para alcançar o local do eletrodo de registro, após aplicação do pulso de voltagem, a velocidade de condução pode ser calculada facilmente.

Muitos neurônios aferentes – sensoriais – isolados como mostrado na [Figura 1.1](#) respondem à estimulação mecânica ou térmica de baixa intensidade, ou seja, o estímulo que em indivíduos evoca uma sensação não dolorosa ou inócua. Além disso, estas fibras apresentam toda uma faixa de velocidades de condução através do nervo. Alguns dos neurônios registrados desta forma são diferenciados por limiar relativamente elevado de ativação e, por exemplo, só podem ser ativados por estímulos intensos – mecânico, térmico ou irritante químico – que são potencialmente lesivos aos tecidos. Estes neurônios de limiar alto são considerados os *nociceptores aferentes primários*.

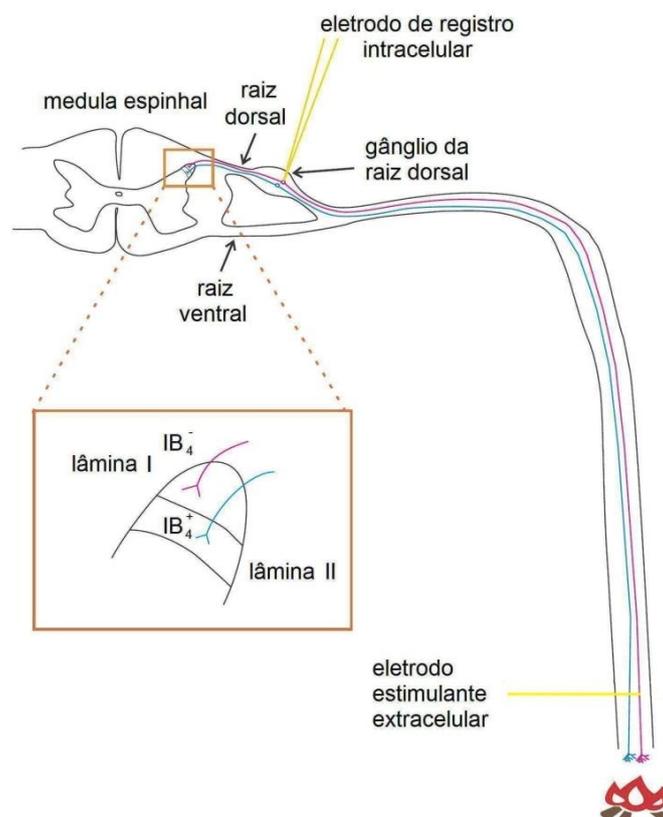


Fig. 1.1 – Calor intenso do fogo ativa os terminais dos nociceptores.

Os potenciais de ação são propagados ao longo dos axônios dos nociceptores à medula espinhal e um eletrodo intracelular, introduzido no corpo celular que se encontra no gânglio da raiz dorsal, monitora a atividade de um dos nociceptores. É mostrado que o terminal central de uma fibra de coloração positiva para uma lectina de planta, a isolectina B4 (IB₄⁺), termina na lâmina II, e que uma fibra (IB₄⁻) termina na lâmina I. Os eletrodos estimulantes extracelulares estão conectados a um estimulador de pulso “não mostrado” e são usados para iniciar os potenciais de ação em fibra nervosa.

Nociceptores Aferentes Primários

Todos nós, provavelmente, já experimentamos que a dor pode ser provocada por estímulo térmico, mecânico ou químico, que ocasiona ferimento tecidual. Várias possibilidades podem explicar como estes diferentes estímulos resultariam na sensação de dor.

Uma possibilidade é que os nociceptores individuais são sensíveis a todos esses estímulos diferentes. A outra é que existem vários tipos de nociceptores e cada um é sensível a um estímulo específico. Como veremos a seguir, revela-se que ambas as possibilidades são encontradas na natureza: alguns nociceptores são sensíveis a um estímulo específico enquanto outros são sensíveis a vários tipos de estímulos.

A fibra nervosa – axônio – em um nervo misto incluem os nervos aferentes e eferentes, motores e autonômicos. A velocidade com que uma fibra nervosa individual conduz os potenciais de ação está relacionada com o diâmetro da fibra. Nas fibras mielinizadas maiores, a velocidade de condução, em *metros por segundo* (m/s), é aproximadamente seis vezes o diâmetro do axônio, determinado em *micrômetro* (μm) – veja a [Figura 1.2](#).

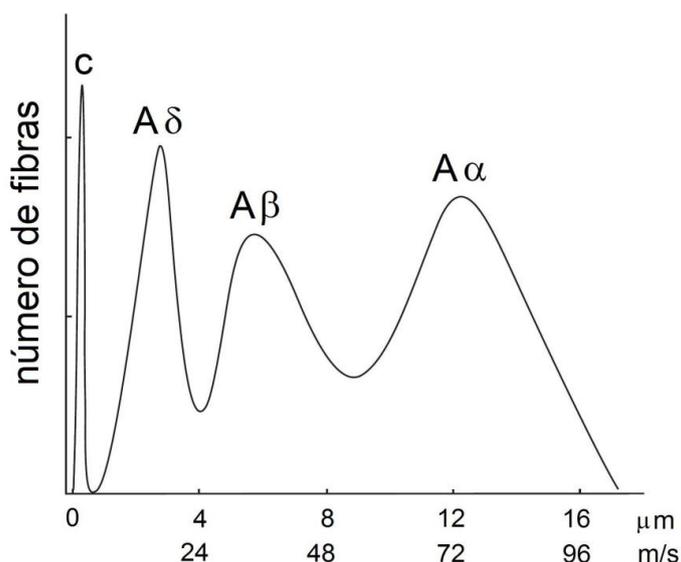


Fig. 1.2 – Diâmetros dos axônios e velocidades de condução no nervo periférico.

Os diâmetros dos axônios são apresentados em micrômetros (μm) e as velocidades de condução são indicadas em metros por segundo (m/s). As fibras designadas por C são amielinizadas e as fibras A têm uma camada de mielina.

O histograma de distribuição das velocidades de condução tem quatro picos: as fibras condutoras mais lentas são amielinizadas e designadas por C, enquanto as fibras mielinizadas condutoras mais rápidas são designadas por C, enquanto as fibras mielinizadas condutoras mais rápidas são designadas por A δ , A β e A α .

A opinião amplamente difundida, apresentada na maioria dos livros atuais, considera que apenas as fibras nervosas de diâmetros menores e mais lentas, as fibras C e A δ , que transportam os sinais aferentes dos nociceptores são sentidas como dor. As evidências disponíveis, as quais foram revisadas minuciosamente^{2,3}, sugerem que uma fração substancial dos nociceptores das fibras A podem conduzir na faixa de velocidade de condução da fibra A β . Consequentemente, para permitir esta possibilidade, a *denominação utilizada nesse texto* é que o sinal dos nociceptores seja carregado pelas *fibras C amielinizadas e fibras A mielinizadas condutoras na faixa da velocidade de condução A δ - β* . Vale ainda lembrar que o inverso não é verdade, isto é, que nem todas as fibras C e A δ - β são nociceptores. Estas fibras também carregam os sinais dos estímulos não nocivos ou inócuos; como mecânico, calor ou frio.

Devido à diferença na velocidade de condução entre as fibras C e A δ - β , o sinal das fibras A δ - β chegam à medula espinhal antes das fibras C. Isto levanta a possibilidade que o estímulo doloroso evoca duas sensações de dor sucessivas e possivelmente distintas.

Sensações dolorosas

A evidência que sustenta o aspecto em que os sinais das fibras C e A δ - β constituem sensações de dor distintas, provém de condições experimentais, estimulação elétrica e bloqueio de nervo, onde as atividades das fibras A e C são estudadas isoladamente. Quando realizada, a estimulação das fibras A é descrita como causando uma sensação de dor acentuada em *picada* e que das fibras C uma sensação dolorida fraca em *queimação*.

Geralmente, afirma-se que para o estímulo doloroso existe uma resposta subjetiva bifásica: a sensação em *picada* de *latência curta* é seguida por uma segunda sensação de *latência longa* em *queimação* e de qualidade menos suportável. No entanto, as duas sensações de dor sucessivas é muito menos atraente do que as duas sensações de dor distintas.

Bishop (1958) demonstrou que os sinais das fibras C e A δ - β são *sensações de dor distintas*. Muitas vezes, afirma-se que a resposta subjetiva bifásica a um estímulo doloroso transitório está frequentemente ausente em indivíduos normais⁴. Por exemplo, experimente as sensações dolorosas ao beliscar a pele na região do punho lateralmente, em cima da articulação radiocárpea. A incapacidade de muitos indivíduos normais, em experimentar a primeira e a segunda sensação de dor por um estímulo, na superfície da pele, não deve sugerir que estes dois tipos de sensações são artefatos, nas condições experimentais, em que foram observadas. Pelo contrário, quando são ativadas simultaneamente, em condições normais, são difíceis de serem identificadas pelo observador.

Classes de Nociceptores

Quatro classes de nociceptores foram descritos: *mecânicos*, *térmicos*, *polimodais* e *silenciosos*.

Os nociceptores *mecânicos* respondem a pressão intensa enquanto os nociceptores *térmicos* respondem às temperaturas extremas, quentes (> 45 °C) ou frias (< 5 °C) e possuem fibras A mielinizadas, que conduzem impulsos na velocidade de 3 m/s a 40 m/s. Em conjunto, esses nociceptores de fibra A δ - β , é denominado *nociceptor mecanotérmico*.

Os nociceptores *polimodais* respondem aos estímulos nocivos mecânicos, térmicos ou químicos; possuem pequenas fibras C amielinizadas que conduzem impulsos em velocidade menor que 3 m/s. Vale ainda lembrar que as pequenas fibras A δ - β mielinizadas carregam informação de nocicepção responsável pela sensação de dor acentuada em *picada* e as pequenas fibras C amielinizadas carregam informação responsável pela sensação fraca em *queimação*.

Os nociceptores *silenciosos* são ativados por estímulos químicos, mediadores inflamatórios, respondem a estímulos mecânicos e térmicos somente depois de serem ativados. Estes nociceptores também possuem pequenas fibras C amielinizadas que conduzem impulsos em velocidade menor que 3 m/s.

Os nociceptores, que respondem às temperaturas nocivas, podem ser divididos em: *unimodais*, que são ativados por um estímulo térmico exclusivo; e os *polimodais*, que detectam estímulos nocivos químicos, mecânicos e térmicos.

Função dos Nociceptores

A função básica dos nociceptores é de transmitir informações aos neurônios de ordem superior sobre a lesão tecidual ocasionada por estímulos nocivos. Os receptores individuais podem ser considerados como uma “caixa-preta”, que transforma o estímulo em um sinal apropriado para as células nervosas subsequentes. A função principal de um nociceptor pode ser adequadamente descrita se sua conexão de entrada/saída está determinada. A entrada, naturalmente se refere aos estímulos nocivos. *Qual a saída?*

Um dos conceitos centrais da neurobiologia considera que os neurônios se comunicam uns com outros via sinapses. Mais comumente são encontradas as sinapses de liberação química, efetuada pelos *transmissores sinápticos*. É através da liberação desses transmissores que a célula é capaz de se comunicar com seus vizinhos pós-sinápticos.

Devido aos nociceptores serem neurônios com sinapses químicas, cuja saída é codificada pela liberação dos seus neurotransmissores: a relação de entrada/saída é simplesmente uma conversão do estímulo nocivo em liberação do transmissor.

Transmissor sináptico

A medição direta da liberação do transmissor sináptico, em condições fisiológicas, é muito difícil e não pode ser efetuada para qualquer nociceptor. Assim, parece que uma derivação da relação de entrada/saída está além do nosso alcance.

No entanto, outra propriedade neural quase universal é de auxílio: a liberação do transmissor é controlada diretamente pelo potencial de membrana sináptica. Por isso, registrando a variação do potencial de membrana na sinapse, a saída do nociceptor poderia ser indiretamente presumida. Infelizmente, na maioria dos casos, do ponto de vista técnico é difícil senão impossível, o registro intracelular de um terminal sináptico. A grande maioria dos registros eletrofisiológicos foi realizada em outras regiões da célula porque essas regiões são mais acessíveis. A atividade elétrica nos nociceptores, como na maioria dos neurônios, está associada com a propagação do potencial de ação, a qual ocorre na escala de tempo de *milissegundos* (ms). Estes potenciais de ação se propagam para o terminal sináptico e, assim, regula-se a liberação do transmissor.

Dois técnicas são normalmente usadas para registrar os potenciais de ação do nociceptor: os eletrodos extracelulares registram sua ocorrência em algum lugar ao longo do axônio, ou intracelular são registrados no corpo celular do nociceptores, conforme ilustrado na [Figura 1.1](#). Desse modo, a transdução sensorial dos nociceptores é normalmente medida como a conversão do estímulo nocivo em disparo padronizado de potenciais de ação.

Transdução sensorial

Durante o século passado, estabeleceu-se a estrutura básica de transdução sensorial para as diferentes sensações, em muitas espécies de vertebrados e invertebrados.

A célula sensorial típica possui uma região especializada, onde o receptor sensorial detecta o estímulo, o qual para os nociceptores é o estímulo nocivo que ocasiona a lesão tecidual. De maneira que o estímulo provoca uma alteração conformacional no receptor em nível molecular, que dispara o processo de transdução e leva a uma mudança do potencial de membrana na célula receptora. A alteração resultante do potencial de membrana é denominada *potencial de receptor*.

No neurônio sensorial típico, a parte da célula onde a transdução sensorial ocorre, muitas vezes, é distante do terminal sináptico. Portanto, o potencial de receptor precisa ser convertido em uma série de potenciais de ação propagados, o qual por sua vez carrega o sinal ao longo do axônio à sinapse. Os nociceptores não estimulados, normalmente, disparam poucos ou nenhum potencial de ação e a sua resposta ao estímulo nocivo é um aumento da taxa de disparo da propagação dos potenciais de ação no axônio das células.

Estas conclusões estão resumidas na [Figura 1.3](#).

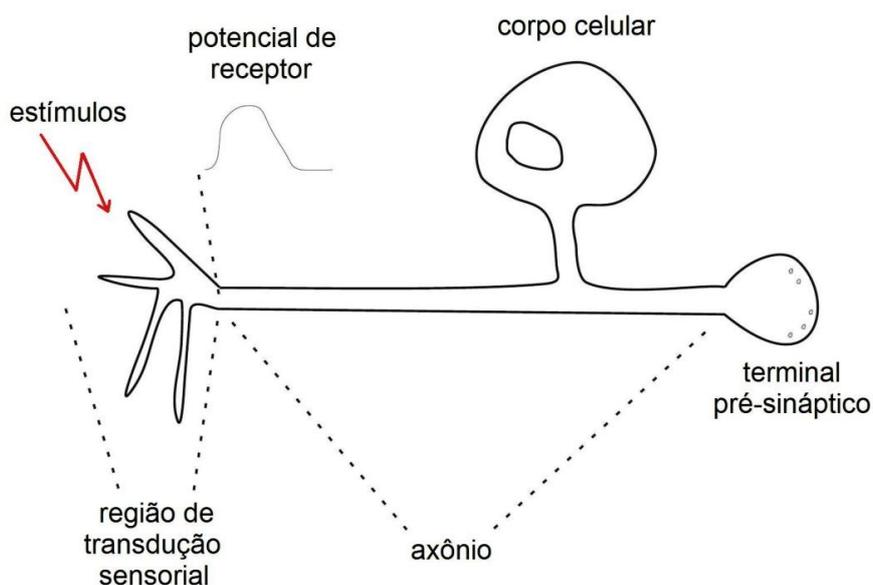


Fig. 1.3 – Desenho esquemático do nociceptor.

O desenho mostra as quatro regiões da célula mais significativas de um nociceptor idealizado: a região de transdução sensorial, o axônio, o corpo celular neuronal e o terminal sináptico. Os estímulos nocivos e a alteração resultante do potencial de membrana – potencial de receptor – também são mostrados.

Funcionamento do Nociceptor

Em paralelo às regiões anatômicas do nociceptor, um esquema capaz de descrever o mecanismo de funcionamento do nociceptor é apresentado na [Figura 1.4](#).

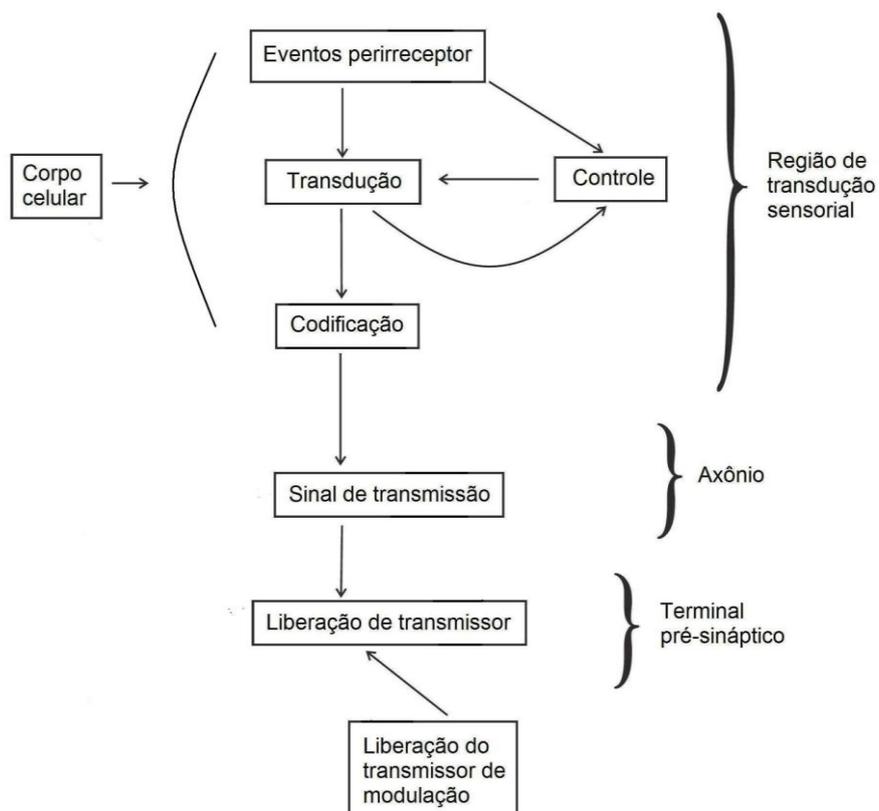


Fig. 1.4 – Esquema de funcionamento do nociceptor.

O corpo celular, o axônio e o terminal pré-sináptico dos nociceptores devem funcionar mais ou menos como em outras células nervosas. O *corpo celular* é necessário para manter em funcionamento as outras regiões das células, sem a qual morreria. O *axônio* conduz o potencial de ação ao *terminal pré-sináptico*, onde pode ocorrer a liberação do transmissor ou transmissores. A *liberação do transmissor* no terminal sináptico está sujeita à *modulação* por agentes liberados por outros neurônios e possivelmente de células gliais.

O estímulo nocivo que ocasiona ferimento tecidual pode ativar, direta ou indiretamente, a *região de transdução sensorial* dos nociceptores. Por exemplo, o nociceptor pode conter uma molécula receptora sensível ao calor, localizada na membrana plasmática, que responde diretamente ao estímulo, ou inversamente, a lesão tecidual causada pelo estímulo pode resultar na produção de um fator que por sua vez ativa o nociceptor. Uma terceira possibilidade é que devido ao ferimento, o tecido se torne inflamado e um fator extrínseco entre na região e ative o nociceptor.

Os *eventos perirreceptor*, durante o ferimento tecidual, permitem a produção de fatores que podem ativar ou modular o nociceptor. Assim, os estímulos nocivos intensos frequentemente levam a um aumento na resposta a estímulos dolorosos subsequentes. Esse *controle* de processamento está esquematizado na [Figura 1.4](#).

Subsequente ao estímulo nocivo, ocorre a *transdução* sensorial em potencial de receptor, e a resposta será transformada em uma série de potenciais de ação – *codificação* – os quais devem transportar o *signal de transmissão* ao terminal pré-sináptico.

Terminações nervosas livres

A opinião predominante atual é que as terminações nervosas livres das fibras A δ - β e fibras C constituem a região sensorial dos nociceptores. Não existem estruturas especializadas associadas às terminações nervosas, tal como existem para outros receptores sensoriais, como mecanorreceptores. Muitos outros receptores sensoriais fisiologicamente intactos podem ser isolados, e o estudo de fotorreceptores, de receptores auditivos, de receptores olfatórios, etc., nos diz muito sobre os seus mecanismos de funcionamento.

Idealmente, para estudar as vias envolvidas no processo de transdução nos nociceptores, uma preparação de nociceptores isolados é necessária. As terminações nervosas livres dos nociceptores são extremamente finas e são incorporadas em uma matriz de tecido, que se fossem dissecadas para isolar os nociceptores, levaria a liberação de muitas moléculas que o terminal nervoso do nociceptor se destina a detectar. Com tal falta de acessibilidade, não é possível estudar diretamente o maquinário da transdução do nociceptor, tanto em um estado não estimulado, como em seu meio ambiente natural.

Vale ainda lembrar que nem todas as terminações nervosas livres representam a região de transdução sensorial dos nociceptores. As terminações nervosas livres são também responsáveis pela detecção de temperatura, estímulos mecânicos, como pressão e informações sobre o tato.

Corpos celulares dos nociceptores

Por não ser possível isolar as terminações nervosas sensoriais dos nociceptores em estado não estimulado, os estudos sobre os nociceptores isolados são frequentemente efetuados nos corpos celulares dos nociceptores.

Dessa maneira, após a retirada cirúrgica, os corpos celulares neuronais dos gânglios das raízes dorsais são isolados por tratamento enzimático e são cultivados antes da utilização. As terminações sensoriais são completamente removidas durante o processo de isolamento e se acredita que as propriedades desses terminais sejam restauradas nos corpos celulares cultivados. Enquanto o gânglio original continha mais do que somente nociceptores, apenas uma fração dos corpos celulares cultivados será realmente de nociceptores. Esta preparação de corpos celulares cultivados é usada frequentemente para investigação experimental das bases celulares e moleculares envolvidas na detecção dos estímulos dolorosos.

Com tal número de incertezas e pressuposições associadas com esses procedimentos experimentais, torna-se imprescindível que as conclusões sejam verificadas cuidadosamente para que de fato reflitam o que realmente ocorre *in vivo*.

Taxa de disparo dos potenciais de ação

Como mencionado acima, os nociceptores normalmente não estimulados disparam poucos ou nenhum potencial de ação e sua resposta à estimulação nociva é um aumento na taxa de disparo dos potenciais de ação.

Uma vez que é necessária uma despolarização da membrana para causar um aumento na taxa de disparo, esta conclusão implica que o potencial de receptor dos nociceptores é uma despolarização de membrana, como mostra na [Figura 1.3](#).

Assim, o maquinário de transdução, por necessidade, deve ter algum modo de comporta ou de transportadores nos canais de íons que podem despolarizar a membrana plasmática nessa região. A região de codificação – consulte a [Figura 1.4](#), por sua vez, converte a despolarização da membrana em um aumento da taxa de disparo dos potenciais de ação, localizados na região de transdução sensorial.

Hiperalgisia

As propriedades fisiológicas dos nociceptores, considerados até agora, foram elucidadas principalmente a partir dos estudos de tecido não ferido.

No entanto, os estímulos nocivos intensos resultando em lesão tecidual frequentemente conduzem a um aumento na resposta a estímulos subsequentes, denominado *hiperalgesia*, ou seja, uma *sensibilidade excessiva* ou sensibilidade à dor.

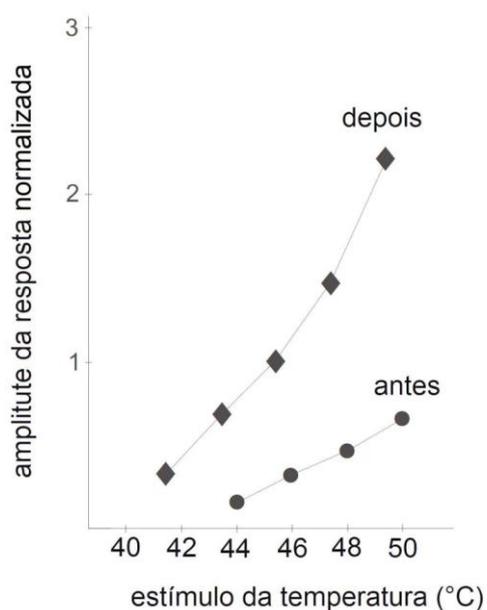
A hiperalgesia compreende: a *hiperalgesia primária*, uma sensibilidade aumentada na *área afetada* predominantemente devido à sensibilização periférica do nociceptor; a *hiperalgesia secundária*, uma sensibilidade aumentada *em redor da área não afetada*, centralmente mediada. Provavelmente, lembra-se de ter experimentado a dor na região machucada e ao seu redor, por exemplo, a dor de garganta devido à inflamação pode ser tão ruim que o mero ato de engolir é doloroso.

Sensibilização

Nenhuma descrição das propriedades fisiológicas dos nociceptores seria completa, sem uma consideração sobre a sensibilização dos nociceptores resultante do ferimento tecidual.

A sensibilização é um desvio à esquerda, na curva de estímulo/resposta, que diz respeito à magnitude da resposta neural em relação à intensidade de estímulo. Como mostra na [Figura 1.5](#), a *sensibilização do nociceptor* é caracterizada por *diminuição do limiar e aumento da magnitude da resposta aos estímulos supralimiáres*.

Lembre-se de que alguns, mas não todos os nociceptores, apresentam sensibilização.



- Respostas individuais aos estímulos térmicos, obtidos antes da superfície da pele ser aquecida.
- ◆ Respostas sensibilizadas, obtidas a partir da mesma área, depois da queimadura.

Fig. 1.5 – Sensibilização do nociceptor térmico.

A sensibilização do nociceptor térmico ao estímulo, em uma área da pele aquecida à temperatura indicada.

II – Transdução Sensorial

Na tentativa de compreender a transdução sensorial no nociceptor, é instrutivo considerar os mecanismos moleculares utilizados na sinalização em outros locais do sistema nervoso. Os mecanismos utilizados por outros sentidos, bem como aqueles usados na transmissão sináptica, revelaram-se mais úteis.

Numerosos estudos demonstraram que o potencial de receptor sensorial e o potencial sináptico são o resultado das alterações da permeabilidade iônica na membrana plasmática dos neurônios. Isto é, o resultado de íons que fluem através das proteínas em membranas íntegras, chamados *canais de íons*. Antes de considerar como a abertura e o fechamento dos canais de íons que são regulados durante a transdução do sinal no nociceptor, importante é compreender as forças que causam o fluxo de íons nestes canais.

Basicamente, existem dois tipos de forças que impulsionam a circulação iônica nas membranas celulares. Existe o campo elétrico através da membrana celular, o qual é manifestado como um *potencial elétrico* através da membrana e existe um *gradiente de concentração* para cada espécie iônica considerada.

Potencial de Repouso

A maioria dos corpos celulares, incluindo os axônios, mantém no seu citoplasma um potencial negativo com referência à parte externa da membrana. Para uma célula que está em estado de repouso, não estimulada, os pesquisadores usam normalmente o termo *potencial de repouso* referente a este potencial negativo existente através da membrana plasmática.

Essencialmente, o potencial de repouso depende da concentração de íons entre os dois lados da membrana plasmática e da permeabilidade de repouso da célula para esses íons. Negligenciando a pequena contribuição de outros íons, mas não sem importância, focaremos nossa atenção aos cátions potássio (K^+) e sódio (Na^+).

Se a membrana fosse permeável exclusivamente ao *cátion potássio* (K^+), o potencial de membrana seria dado pela equação de Nernst:

$$V_M = E_K = (RT/zF) \ln[K^+]_e/[K^+]_i \quad (2.1)$$

Onde o *potencial de membrana* (V_M) é o *potencial de equilíbrio do íon potássio* (E_K) que depende da *temperatura absoluta* (T) na escala kelvin – 37 °C é igual a 310 K – e a *constante universal dos gases* (R) pela *constante de Faraday* (F) que é carga elétrica por mol de cátions e da *valência do íon* (z), e o mais importante, por logaritmo natural (\ln), da *concentração do íon potássio extracelular* $[K^+]_e$ pela *concentração intracelular* $[K^+]_i$.

Da mesma maneira, exclusivamente ao *cátion sódio* (Na^+), o V_M seria:

$$V_M = E_{Na} = (RT/zF) \ln[Na^+]_e/[Na^+]_i \quad (2.2)$$

Onde o *potencial de equilíbrio do íon sódio* (E_{Na}) por *concentração do íon sódio extracelular* $[Na^+]_e$ pela *concentração intracelular* $[Na^+]_i$.

Em muitas células incluindo os neurônios, a $[Na^+]_e$ é muito superior a $[Na^+]_i$ e a $[K^+]_i$ é muito maior do que a $[K^+]_e$, como mostra a [Figura 2.1](#).

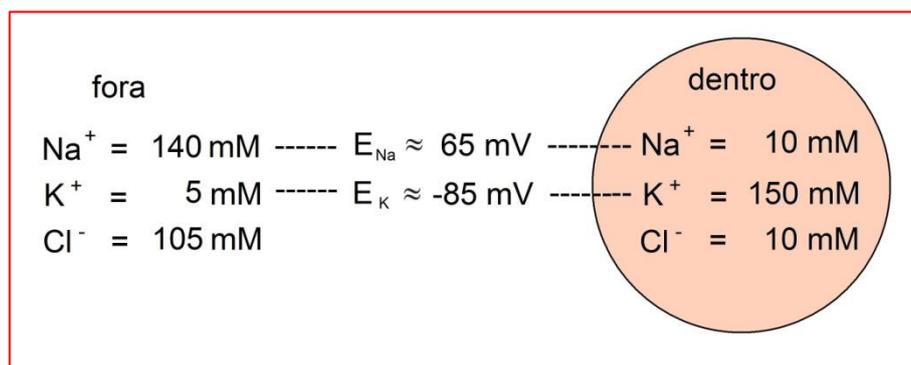


Fig. 2.1 – Concentrações de íons no fluido extracelular e intracelular.

Diagrama simplificado que mostra as concentrações, em milimol (mM), desiguais de íons; sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloro (Cl^-) nos dois lados da membrana, fora e dentro, de uma célula típica e os potenciais de equilíbrio do sódio (E_{Na}) e potássio (E_K), em milivolt (mV).

Normalmente, em repouso, as membranas biológicas e particularmente as neuronais são permeáveis ao Na^+ e K^+ portanto seu potencial de repouso está situado entre o *potencial de equilíbrio do íon sódio* (E_{Na}) e *potencial de equilíbrio do potássio* (E_{K}), a proximidade de qualquer um destes potenciais de equilíbrio depende da permeabilidade relativa ao Na^+ e K^+ . Em uma célula típica, o potencial de membrana (V_{M}) deve estar entre o E_{Na} – aproximadamente sessenta e cinco milivolts positivos, e o E_{K} – aproximadamente oitenta e cinco milivolts negativos, como mostra a [Figura 2.1](#).

As células são normalmente muito mais permeáveis ao K^+ , em repouso, do que ao Na^+ ; portanto, o potencial de repouso é sempre negativo no interior e pode variar ao redor de trinta milivolts negativos até oitenta milivolts negativos, dependendo do grau de permeabilidade ao Na^+ .

Toda vez que o potencial de membrana estiver situado entre o E_{Na} e o E_{K} , o Na^+ tenderá a vazar para dentro e o K^+ a vazar para fora da célula. A não ser que a célula compense a constante perda de K^+ e ganho de Na^+ , o gradiente de concentração iônica irá se reduzir, o E_{Na} e o E_{K} diminuirão em direção a zero e o potencial de membrana desaparecerá.

Gradiente de Concentração

As células possuem enzimas dependentes metabolicamente, chamadas *bombas*, as quais compensam o vazamento passivo, por bombeamento de K^+ para dentro e Na^+ para fora da célula. A enzima Na^+/K^+ ATPase é uma bomba de Na^+/K^+ , que utiliza *trifosfato de adenosina* (ATP) para catalisar o movimento de *três* íons Na^+ para fora por *dois* íons K^+ para dentro da célula.

Existe uma rede de extrusão de uma carga positiva para fora da célula a cada ciclo da bomba, assim a bomba é eletrogênica. É consenso geral, que a bomba não participa diretamente na geração dos sinais elétricos, mas tem seu efeito principal decorrente de manter o gradiente de concentração iônico de Na^+ e K^+ através da membrana celular.

Também, foi observado que o *cátion cálcio* (Ca^{2+}) desempenha um papel importante na transmissão sináptica e na transdução sensorial e as células têm bombas e trocadores de Ca^{2+} , os quais mantêm uma concentração intracelular $[\text{Ca}^{2+}]_i$ muito inferior do que a concentração extracelular $[\text{Ca}^{2+}]_e$.

Canais de Íons

A biologia molecular fornece-nos uma compreensão básica da relação entre a estrutura e a função dos canais de íons em geral.

As proteínas têm sequência de aminoácidos que se estendem através de uma camada bilateral de lipídeos na membrana plasmática, do interior ao exterior da célula. Essas proteínas contêm uma região especializada, chamada *região de poro* que forma um canal, o qual fornece uma via através do quais íons – Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Cl^- – possam passar pela membrana.

A característica relevante dos canais de íons, os quais sustentam o potencial de receptor e o potencial sináptico, que são submetidos a uma transição de um estado fechado para aberto, isto é, regulada ou controlada por alteração conformacional da comporta do canal, veja a [Figura 2.2](#), a qual resulta do estímulo sensorial ou do transmissor sináptico envolvido.

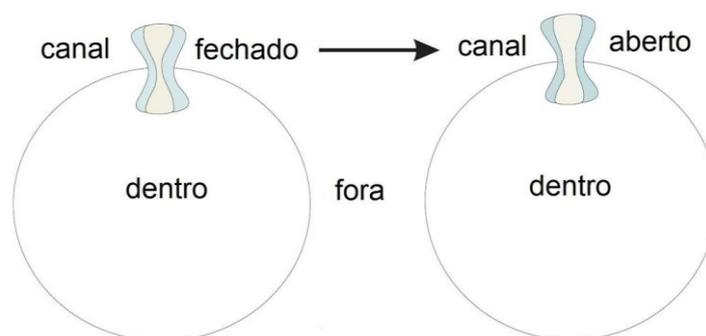


Fig. 2.2 – Alteração conformacional da comporta do canal de íon.

A transição na região de poro da membrana ocorre de um estado fechado para aberto, por alteração da conformacional da comporta do canal de íon, que resultam do estímulo sensorial ou do transmissor sináptico envolvido.

Os dois mecanismos, já bem compreendidos, são utilizados na comporta desses canais e encontram-se representados na [Figura 2.3 – A e B](#). Na transmissão sináptica, o transmissor sináptico – ou seja, o ligante – interage com os sítios extracelulares do canal de íons da membrana pós-sináptica e as comportas se abrem – na [Figura 2.3 – A](#), esses *canais de íons controlados por ligantes* (LGICs), algumas vezes, são também chamados de *canais ionotrópicos*. Em muitos estímulos sensoriais, um segundo mensageiro intracelular é gerado no processo de transdução sensorial, que reage no canal com abertura da comporta – na [Figura 2.3 – B](#). Para efeitos de simplicidade, os canais são mostrados com dois sítios de ligação externa – na [Figura 2.3 – A](#) e com dois sítios de ligação interna – na [Figura 2.3 – B](#), embora os canais tenham frequentemente mais de dois sítios de ligação.

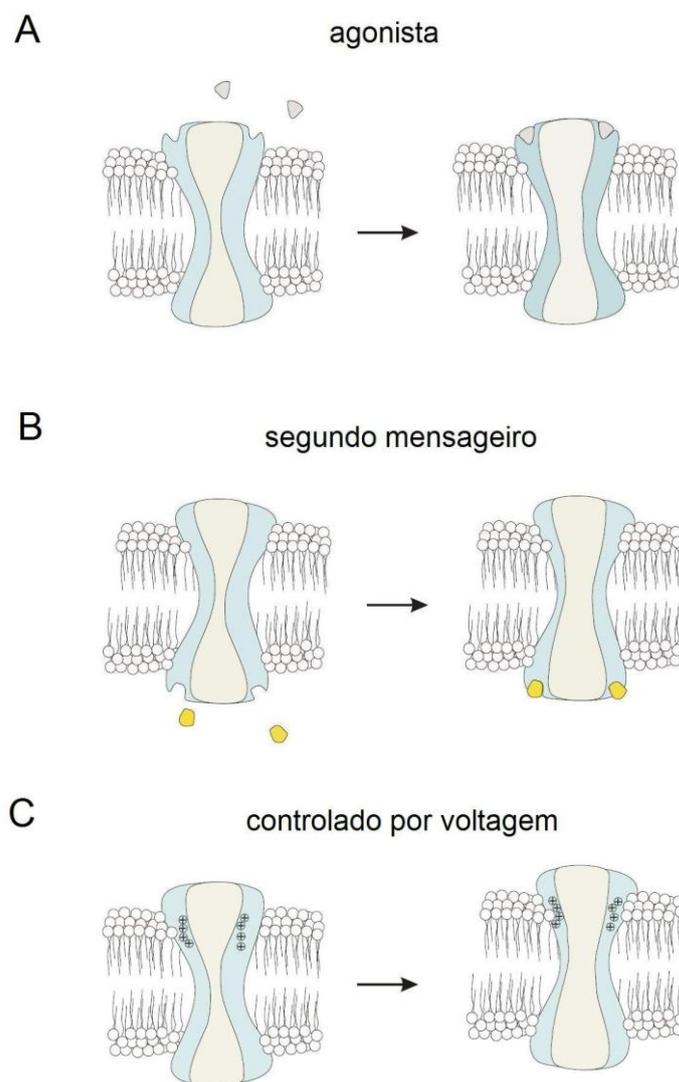


Fig. 2.3 - Mecanismos de comporta dos canais de íons.

Em **A** – Ligação de agonista extracelular no canal e abertura da comporta. **B** – Ligação de segundo mensageiro intracelular no canal e abertura da comporta. **C** – Movimento de cargas no canal devido à despolarização da membrana e abertura da comporta.

Estrutura molecular dos canais íons

Os canais íons não são normalmente propriedade de uma única molécula de proteína, mas são os resultados da ligação não covalente de várias subunidades de lado oposto uns aos outros para formar a região de poro. Os canais podem ser *homoméricos*, onde todas as subunidades são idênticas; ou *heteroméricos*, isto é ter subunidades não idênticas com propriedades diferentes.

A região de poro pode ser seletiva ao Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Cl^- . Porém, alguns canais permitem que os três íons – Na^+ , K^+ e Ca^{2+} – passem por sua região de poro e são denominados de *canais de cátions controlados por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização* (HCN).

A maioria dos canais de íons têm três, quatro ou cinco subunidades, organizados em simetria circular, formando um único poro aquoso na interseção axial – como exemplo de quatro subunidades, veja a [Figura 2.4 – A](#). Além disso, a figura mostra que cada subunidade tem apenas um único domínio de poro. Em contrapartida, conforme mostra a [Figura 2.4 – B](#), o canal de vazamento do K^+ é composto de dois domínios no poro, denominado *canal de potássio de dois poros* (K_{2p}).

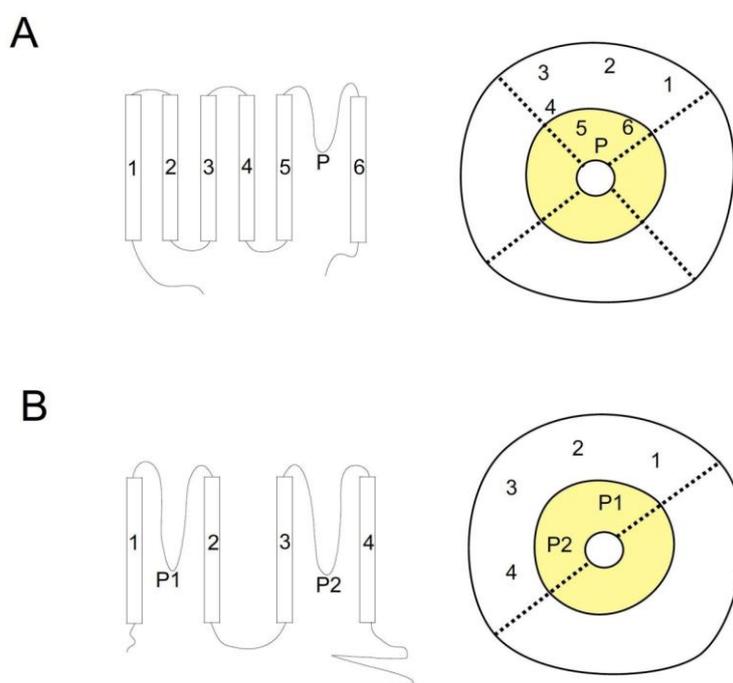


Fig. 2.4 – Ilustração da estrutura dos canais de íons.

A ilustração esquemática da estrutura dos canais, à **esquerda** a *subunidades do canal* e à **direita** o *canal funcional*, com domínio de poro, onde: **A** – um único domínio de poro e **B** – dois domínios de poro.

Os canais K_{2p} são essenciais à função neuromuscular, porque no estado de repouso da célula são mais permeáveis ao K^+ do que a Na^+ e normalmente estabilizam o potencial de membrana com voltagens hiperpolarizadas abaixo do limiar de disparo dos nervos e dos músculos. Nesses canais, como mostra a [Figura 2.4 – B](#), cada subunidade tem dois domínios de poros, organizado em tandem*.

* Conjunto de unidades alinhadas, uma atrás da outra.

Exceto para os casos onde a interação entre o ligante e o LGIC realmente diminui a permeabilidade do canal e diminui a condutância de membrana, o transmissor normalmente abre a comporta do canal, permitindo que os íons fluam, aumentando assim a condutância da membrana celular aos íons. A resposta ao ligante termina quando o ligante se dissocia e se difunde para fora da célula, e a comporta retorna à sua conformação fechada.

Expressão dos canais íons

Surpreendentemente, a biologia molecular revelou uma multiplicidade de genes para os canais ionotrópicos, os quais parecem ter funções essencialmente idênticas.

Por exemplo, o canal iônico nicotínico da *acetilcolina* (ACh) encontrado nos neurônios, que normalmente tem cinco subunidades – pentamérica – e é composto por apenas dois tipos de subunidades, dois alfas (α) e três betas (β). Acontece que existem pelo menos oito genes que codificam a subunidade α e quatro que codificam a β . Assim, existe um grande número de diferentes combinações possíveis entre as subunidades α e β , em um animal, cuja função não é compreendida.

A suposição aceita é que esses genes diferentes evoluíram porque atende a diferentes funções. As duas consequências óbvias são que, por possuírem diferentes afinidades para a ACh, abrem-se em concentrações diferentes ou têm propriedades de permeabilidade iônicas ligeiramente diferentes.

Tipos de receptores

Ao contrário dos *receptores ionotrópicos*, onde o receptor e o canal são a mesma molécula, a molécula receptora dos *receptores metabotrópicos* age indiretamente na comporta do canal, isto é, o receptor é uma molécula separada do canal de íon, a qual sustenta o potencial de receptor.

Os receptores metabotrópicos podem ser classificados em dois tipos:

- *Receptores acoplados à proteína G* (GPCRs)
- *Receptores da tirosina quinase* (RTKs)

A família dos GPCRs está acoplada a uma molécula efetora, via uma proteína de ligação do nucleotídeo guanosina, uma proteína G, daí seu nome. Ativação do componente efetor normalmente requer a participação de várias outras proteínas, além da proteína G. Usualmente a molécula efetora é uma enzima que produz um segundo mensageiro difusível, por exemplo, *monofosfato de adenosina cíclico* (cAMP), *guanosina monofosfato cíclico* (cGMP), *ácido araquidônico* (AA), *diacilglicerol* (DAG) ou polifosfato inositol.

Os segundo mensageiros podem agir diretamente na comporta do canal de íon – veja na [Figura 2.3 – B](#) ou podem disparar uma cascata bioquímica. Por exemplo, o segundo mensageiro pode mobilizar Ca^{2+} dos reservatórios intracelulares e a $[\text{Ca}^{2+}]$ elevada possibilita ao Ca^{2+} agir diretamente na comporta do canal de íon. Outra possibilidade é que o segundo mensageiro ative as proteínas quinases específicas – proteínas de transferência do fosfato – que fosforilando o canal de íon ou outras proteínas celulares – assim, alterando suas atividades – iniciam ou modulam o potencial de receptor. Em alguns casos, a proteína G do segundo mensageiro pode atuar diretamente no canal de íon.

Os RTKs podem agir na comporta do canal de íon direta ou indiretamente, via fosforilação, isto é, transferindo um grupo fosfato ao canal ou a outras proteínas celulares.

Os canais encontrados na região de codificação e no axônio – reveja na [Figura 1.4](#), os quais convertem o potencial de receptor em uma série de propagação dos potenciais de ação, são controlados por despolarização da membrana – veja a [Figura 2.3 – C](#) – *os canais de íons controlados por voltagem* (VGICs). *Os canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa* (Na_v) e *os canais de potássio controlados por voltagem* (K_v) desempenham um papel importante na geração e na propagação dos potenciais de ação. *Os canais de cálcio controlados por voltagem* (Ca_v) desempenham um importante papel na terminação pré-sináptica, onde funcionam na liberação do transmissor sináptico.

Estímulos Sensoriais

Antes de examinar os mecanismos moleculares subjacentes à transdução de sinal do nociceptor, é útil considerar brevemente os tipos de estímulos que ocorrem no tecido durante a lesão. Com ênfase nos estímulos que frequentemente podem estar envolvidos na transdução de sinal.

Em primeiro lugar, existem os estímulos próprios, tais como: *deformação mecânica no tecido e aumento ou diminuição da temperatura no tecido*. Esses estímulos podem regular diretamente os canais de íons – veja a [Figura 2.2](#) – na membrana plasmática do nociceptor, dando assim origem ao potencial do receptor. Em seguida, existem as alterações locais no meio extracelular resultante da *liberação ou da exposição de moléculas do tecido ferido*. Ou seja, moléculas que normalmente são encontradas no interior das células ou na membrana celular podem agora ser encontradas em ou expostas ao fluido extracelular, onde podem se ligar aos receptores do nociceptor. Finalmente, existem *moléculas que entram na região ferida*, como parte da resposta inflamatória do organismo ao estímulo, onde se podem ligar aos receptores de membrana do nociceptor.

Quaisquer umas destas três possibilidades podem participar na transdução de sinal do nociceptor. Idealmente, seria importante identificar o papel específico na transdução de sinal do nociceptor de todas as substâncias que aparecem no tecido ferido durante os estímulos nocivos. No entanto, como assinalado na [Parte – I](#), não é possível isolar as terminações nervosas sensoriais dos nociceptores, em um estado não estimulado e estudar como respondem a estímulos dolorosos. Em vez disso, como vimos, somos forçados a usar métodos indiretos. Dessa maneira, os corpos celulares neuronais de um GRD, ao invés das terminações nervosas livres, são frequentemente utilizados após serem isolados e cultivados com esse objetivo.

III – TRP

A família dos canais de cátions do *receptor de potencial transitório* (TRP) é de interesse porque vários de seus membros foram implicados na transdução de sinal do nociceptor. Limitar as considerações relativas aos canais TRP ao seu papel na nocicepção resultaria em análise superficial de todas as suas propriedades já conhecidas.

TRP em Fotorreceptores de *Drosophila*

O mutante *trp*, originalmente isolado em fotorreceptores de *Drosophila melanogaster*^{*}, quando estimulado apresenta resposta luminosa – potencial de receptor – cuja linha de base decai durante a iluminação prolongada, veja a [Figura 3.1](#), daí o nome *receptor de potencial transitório*.

Posteriormente, foi encontrado um gene para codificar o canal de cálcio responsável pelo componente principal da resposta luminosa. Outros dois membros proteicos da família TRP – TRPL e TRP γ – foram encontrados em fotorreceptores de *Drosophila* que seriam responsáveis pela resposta luminosa residual no mutante *trp*.

A cascata de fototransdução na *Drosophila* é iniciada quando a luz atinge a *rodopsina* (Rho), a qual leva à estimulação de uma proteína G heterotrimérica que ativa a *fosfolipase C* (PLC). A ativação do canal que leva ao influxo de cátions no fotorreceptor é mediada, *in vivo*, pelo *diacilglicerol* (DAG) ou seus metabólitos, denominados *ácidos graxos poli-insaturados* (PUFAs).

Usando a terminologia discutida na [Parte – II](#), a família de TRP na *Drosophila* são os canais de íons controlados por segundo mensageiro – reveja a [Figura 2.3 – B](#), e ativados em processo dependente da Rho de *receptor acoplado à proteína G* (GPCR).

* Conhecida como mosca das frutas.

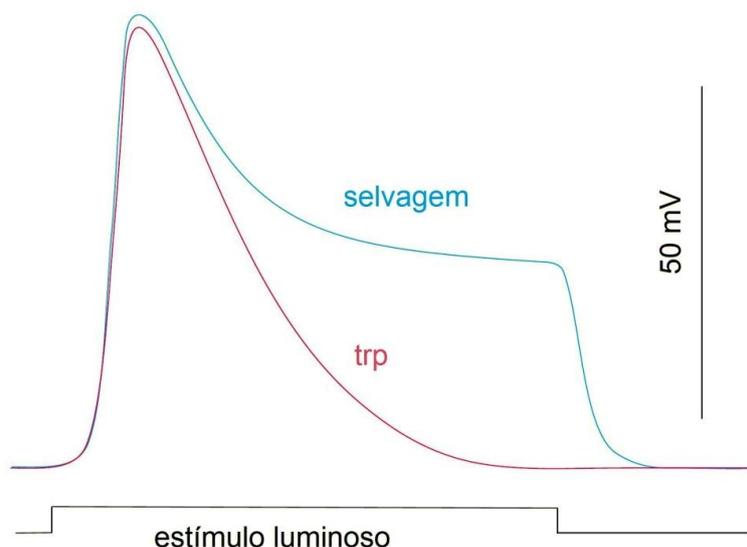


Fig. 3.1 – Resposta luminosa em fotorreceptores de *Drosophila*.

Comparação entre a evolução temporal da resposta em fotorreceptores de *Drosophila melanogaster* para o estímulo luminoso – 50 milivots (mV) – no selvagem e no mutante *trp*. Observe que durante a resposta luminosa do mutante *trp*, a linha de base durante o estímulo prolongado decai rapidamente, enquanto do selvagem apresenta uma despolarização mantida durante o estímulo luminoso.

TRP nos Mamíferos

Baseando-se na homologia, foram identificados numerosos membros da família do TRP, nos vertebrados. Em mamíferos, os membros dessa família foram classificados em seis subfamílias:

- TRPC canônico;
- TRPV vaniloide;
- TRPA anquirina;
- TRPM melastatina;
- TRPP policistina;
- TRPML mucolipina.

Os canais TRP, nos mamíferos, são permeáveis aos *cátions* e têm seis domínios transmembrana ladeados por regiões intracelulares de *carboxi-terminal* (C-terminal) e *amino-terminal* (N-terminal). O canal funcional contém quatro subunidades formando a região de poro – reveja a [Figura 2.4 – A](#), e consideradas para se classificar como homo e/ou heterotetrâmeros. Embora, os canais TRP possam ser dependentes de baixa voltagem, faltam o sensor de voltagem dos *canais controlados por voltagem* (VGICs) – reveja a [Figura 2.3 – C](#).

Sabor e quimioestesia

A sensação de sabor – paladar – é a capacidade de sentir o gosto das substâncias, como os constituintes dos alimentos e bebidas. As sensações de sabor incluem: doce, salgado, azedo, amargo e umami*. O sabor umami é o que ocorre quando os alimentos são consumidos com o aminoácido glutamato. Em contraste com as sensações de sabor, o nervo trigêmeo transmite informações sobre moléculas irritantes e nocivas que entram em contacto com a boca.

A sensação quimioestésica está relacionada com a nocicepção quando uma substância química ativa os nociceptores em qualquer parte do corpo. Dessa maneira, a sensação transmitida ao cérebro quando uma molécula nociva ativa o nervo trigêmeo é denominada quimioestesia. Por exemplo, a *queimação* da pimenta malagueta e o *esfriamento* do antisséptico bucal com mentol.

Capsaicina

A *capsaicina* (8-metil-*N*-vanilil-6-nonenamida), ingrediente pungente ou quente da pimenta chili[†] que dá a sensação de queimação ou picante, foi isolada pela primeira vez no século XIX. O interesse nos efeitos sensoriais da capsaicina tem uma longa história. Cristovão Colombo descreve ter comido pimenta chili com nativos no Novo Mundo, há mais de quinhentos anos. Wilbur Scoville desenvolveu um teste e uma escala, em 1912, para medir o picante ou o calor da pimenta chili. A escala de Scoville ainda está em uso.

Os efeitos da capsaicina são melhores entendidos, em termos de suas ações excitatórias e dessensibilizantes em *nociceptores polimodais* – reveja na [Parte – I](#). Estudos eletrofisiológicos revelaram que a capsaicina despolariza os neurônios do GRD – reveja a [Figura 1.1](#). Sugeriu-se que o efeito excitatório específico da capsaicina nos neurônios nociceptivos envolve um aumento da permeabilidade da membrana aos íons Na⁺ e/ou Ca²⁺, pela diminuição da resistência nos neurônios à entrada desses íons, de maneira concentração dependente. Pesquisas subsequentes mostraram que a via de permeabilidade iônica discrimina mal entre os cátions, a qual é relativamente mais permeável aos bivalentes do que aos monovalentes.

A descoberta da *resiniferatoxina* – um análogo ultrapotente da capsaicina que imita suas ações celulares e de um antagonista potente – *capsazepina* – sugeriram fortemente a existência de receptor específico para a capsaicina.

* Significa saboroso, na língua japonesa.

† Pimenta malagueta

TRPV1

O canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide* (TRPV), membro *um* (TRPV1) é o *receptor da capsaicina*. Foi clonado usando um ensaio de influxo do Ca^{2+} em células não neuronais, transfectada com *ácido desoxirribonucleico complementar* (cDNA) construído a partir do *ácido ribonucleico* (RNA) do GRD⁵. A análise eletrofisiológica provou que o receptor clonado era semelhante ao receptor da capsaicina nos neurônios sensoriais, de várias maneiras. As correntes evocadas pela capsaicina foram reversíveis à remoção do ligante e às concentrações inferiores em respostas máximas evocadas pela resiniferatoxina, a qual persiste após a remoção do ligante. As curvas de ativação para a corrente induzida pela capsaicina nos canais naturais e nos receptores clonados revelaram o coeficiente igual a dois – na equação de Hill – sugerindo a existência de mais de um sítio de ligação da capsaicina.

Os canais TRPV1 não são ativados somente pela capsaicina, mas também por prótons com *potencial hidrogeniônico* (pH) abaixo de 6,5 e por temperaturas elevadas, que confirmaram pesquisas anteriores ao mostrar que as correntes evocadas pelo calor, pH baixo e capsaicina são comumente encontradas no mesmo neurônio sensorial. Interessantemente, o TRPV1 é o único membro da subfamília vaniloide que é ativado pela capsaicina: o nocaute, técnica genética que consiste em desabilitar a expressão de um gene específico num organismo, para TRPV1, em humanos e camundongos, resulta em insensibilidade à capsaicina^{6,7}. Analisaremos os efeitos do baixo pH no canal TRPV1, juntamente com seu efeito em outros canais de íons, na [Parte – IV](#).

Pesquisas anteriores mostraram que as correntes evocadas pelo calor e pela capsaicina são encontradas comumente no mesmo neurônio sensorial. Isto levantou a possibilidade de que o canal de cátions do TRPV1 era um detector de temperatura, o que habilita os nociceptores térmicos a responderem em uma faixa de temperatura mais alta. Se fosse mesmo assim, em animais no qual o TRPV1 foi nocauteado, esperar-se-ia um déficit na resposta para aquelas altas temperaturas que ativam o TRPV1. Paradoxalmente, nos camundongos em que o TRPV1 é nocauteado, os déficits são exibidos em temperaturas acima de 50 °C, enquanto o canal TRPV1 é ativado em temperatura igual ou superior a 42 °C. Embora, estes animais tivessem sido prejudicados no processo de detecção do calor doloroso, utilizaram um mecanismo alternativo, diferente do canal de cátions do TRPV1, para detectar calor nocivo a temperaturas inferiores a 50 °C ou outro mecanismo de auxílio.

Vale lembrar que os estímulos nocivos intensos que ocasionam a lesão tecidual, frequentemente conduzem a um aumento na resposta a estímulos dolorosos subsequentes, denominado hiperalgisia, sendo que a hiperalgisia primária ocorre devido à sensibilização do nociceptor ou a hipersensibilidade. Interessantemente, os camundongos nocautes para TRPV1 exibiram pouca hipersensibilidade no local da inflamação tecidual em comparação aos selvagens expostos ao estímulo térmico. Retornaremos a esta conclusão em parte posterior quando considerarmos os mecanismos de hiperalgisia.

Todos nós, provavelmente, estamos familiarizados com a dor em queimação produzida pela aplicação de tinturas alcoólicas, tal como a tintura de iodo em feridas na pele. A sensação de queimação levantou a possibilidade de que o etanol poderia ativar o canal de cátions do TRPV1. Para testar essa ideia, foi investigado o efeito do etanol nos neurônios isolados do gânglio trigeminal ou GRD, como também nas *células embrionárias humanas de rim* (HEK293) expressando o TRPV1⁸. Verificou-se que o etanol ativa o TRPV1 e potencializa as respostas à capsaicina e outros ativadores do TRPV1; apoiando a noção de que o álcool provoca uma sensação de queimação, através da ativação do TRPV1.

As incertezas e os pressupostos associados à utilização de neurônios isolados ou cultivados, como aqueles provenientes do gânglio trigeminal ou do GRD, como também de células especialmente preparadas para expressar o TRPV1, reforçam o fato de que estas conclusões devem ser verificadas cuidadosamente para refletir o que realmente acontece *in vivo*.

TRPV1 como alvo terapêutico

Em contraste com a hiperalgesia – sensibilidade excessiva ou sensibilidade à dor – após estímulos nocivos intensos, a exposição à capsaicina pode resultar em dessensibilização subsequente.

Considerando-se comparativamente que a dessensibilização às doses baixas pode ser específica à capsaicina e seus congêneres, as doses altas estão associadas com perda da capacidade de resposta também a outros estímulos mecânicos nocivos – limiar alto, químicos ou calor. Esta dessensibilização cruzada aos estímulos nocivos sugere o uso da capsaicina ou de um análogo, como analgésico. Evidentemente, o objetivo final ainda não alcançado, é encontrar um análogo à capsaicina que induz a analgesia, sem inicialmente causar dor.

A dessensibilização pela capsaicina está bem documentada e seu grau depende da concentração, com que frequência é aplicada e por quanto tempo. A dessensibilização induzida pela capsaicina foi observada tanto por registro de atividade nos neurônios do GRD – reveja a [Figura 1.1](#), assim como pelo monitoramento da reação comportamental – à dor. Com uso de baixas doses de capsaicina, aplicada em intervalos de tempo adequados, a dessensibilização não ocorre obrigatoriamente, de maneira que a excitação dolorosa pode ser reproduzida a cada aplicação. Por uso de altas doses ou exposição prolongada, a dessensibilização decorre de aplicações consecutivas de capsaicina, a qual se torna menos eficaz ou deixa de produzir qualquer efeito.

Recentemente, foi descrito um novo método para a produção de analgesia, utilizando a capsaicina em combinação com um *anestésico local impermeável à membrana* (QX-314)⁹. O QX-314 é um bloqueador de carga positiva dos *canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa* (Na_v), que inibe os potenciais de ação quando aplicado intracelularmente, mas o bloqueio falha quando aplicado no meio extracelular. A ideia era introduzir o QX-314 em neurônios nociceptivos através dos canais de cátions TRPV1 abertos, evitando assim os efeitos táteis e motores que ocorrem com aplicação no meio extracelular de um anestésico local, como a lidocaína. Provavelmente, todos nós já experimentamos o bloqueio da sensação tátil e motora com o uso de anestésico local durante um procedimento odontológico. Uma limitação desse tratamento da combinação é o mesmo com o uso da capsaicina por si só, ou seja, a própria capsaicina provoca uma sensação dolorosa, que se esperaria ser bloqueada pelo efeito do QX-314.

A inibição do canal de cátions do TRPV1 parece ser uma abordagem lógica para produção de analgesia. Entretanto, a situação não é simples; após a identificação do canal TRPV1 em nociceptores, uma variedade de outros dos tipos de células, incluindo: os queratinócitos, as células β pancreáticas, as células endoteliais, os linfócitos, os macrófagos e as células de diferentes regiões do cérebro, também expressam o TRPV1. Sua presença, em todos esses tipos de células e em diferentes partes do corpo, sugere que o TRPV1 é estimulado normalmente por um ligante endógeno – um endovaniloide – e não por estimulação térmica.

Neste contexto é importante salientar, que existem evidências acumuladas sugerindo que ativação do TRPV1 por seu ligante endógeno é essencial para a manutenção da temperatura corporal. A capsaicina, além de causar a sensação de queimação, provoca também hipotermia, em uma variedade de animais e a introdução dos antagonistas do canal de cátions do TRPV1 levam a hipertermia em ratos, camundongos e macacos. Uma conclusão resultante destas pesquisas é que os canais TRPV1, na função da regulação de temperatura corporal, podem ser ativados tonicamente via um ligante endógeno. Porque os antagonistas do canal de cátions TRPV1 causaram hipertermia, é improvável que possam ser desenvolvidos para utilização sistêmica, como agente específico no tratamento da dor.

A possibilidade que deve ser considerada é de um endovaniloide ser produzido durante a lesão tecidual e assim contribuir para a mediação na ativação do nociceptor. Por exemplo, o suposto endovaniloide *N-araquidonoildopamina* (NADA) foi identificado como uma molécula endógena no sistema nervoso de mamífero e ocorre em vários núcleos do cérebro e do GRD. Foi estudado originalmente porque ativa os receptores canabinoides; posteriormente verificou-se que podia ativar o canal de cátions do TRPV1. Como seria esperado para um ligante endógeno do canal TRPV1, apurou-se que o NADA aumenta a frequência de disparos do potencial de ação dos neurônios nociceptivos espinhais e melhora a resposta aos estímulos térmicos. É necessário, no entanto, mais investigação para determinar se o NADA ou outro endovaniloide é de fato o ativador endógeno dos canais TRPV1.

TRPV2

O canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide*, membro *dois* (TRPV2), está intimamente relacionado com o receptor da capsaicina – TRPV1 – com o qual compartilha 49% de identidade na sequência de aminoácidos.

Entretanto, o canal TRPV1 é ativado pela capsaicina e responde a temperatura igual ou superior a 42 °C e o canal TRPV2 não responde a capsaicina e é ativado à temperatura igual ou superior a 52 °C. O TRPV2 é expresso em uma variedade de tecidos, incluindo várias regiões do cérebro, da medula espinhal e do gânglio sensorial. Sua expressão nos tecidos que nunca são expostos a temperaturas tão elevadas, como a 52 °C, assim sugere que o canal de cátions do TRPV2 possua outra função e seja ativado normalmente por outros estímulos e não o calor nocivo nessas regiões do corpo.

No entanto, com base em sua similaridade com o TRPV1 e sua capacidade de detectar estímulos de calor elevado igual ou superior a 52 °C, o canal de cátions do TRPV2 parece ser um candidato provável para detecção da sensação de calor nocivo nos nociceptores.

Para tanto, foi avaliado em estudo utilizando uma preparação *ex vivo* de medula espinhal, de gânglios da raiz dorsal da região torácica e lombar superior, de nervos cutâneos dorsais e de pele dorsolateral do tronco, o papel do TRPV2 na sensação térmica. Em preparação *ex vivo* cujas terminações sensoriais do nociceptor permanecem conectadas ao corpo celular no GRD, espera-se que os nociceptores tenham propriedades mais próximas das células *in vivo* em relação às células isoladas do GRD por tratamento enzimático e cultivadas antes da sua utilização – reveja na [Parte – I](#). Dessa maneira, usando essa preparação com o TRPV1 nocauteado, uma maior população de nociceptores em que o TRPV2 não foi expresso, conforme determinado pela coloração imuno-histológica, responde normalmente ao calor nocivo de 31 °C a 52 °C. Esta pesquisa mostra que existe uma população de nociceptores que, em condições normais, não exige a presença do canal de cátions do TRPV1 funcional ou do TRPV2 para detectar calor nocivo.

Até que um camundongo em que o TRPV2 nocauteado seja relatado, o papel do canal de cátions do TRPV2 na sensação de calor nocivo permanecerá indeterminado.

TRPV3

Foi demonstrado que a cânfora aumenta a intensidade das sensações cutâneas produzidas durante o aquecimento da pele, consistente com a ativação do canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide*, membro *três* (TRPV3). A cânfora, um composto obtido da natureza, é atualmente utilizada comercialmente como ingrediente ativo em gel antioceira.

O canal TRPV3 está intimamente relacionado com TRPV1 e TRPV2, com os quais se identifica com 43% e 41% na sequência de aminoácidos, respectivamente. O canal de cátions do TRPV3 possui um limiar único: é ativado a temperaturas inócuas com limiar de ativação em torno de 33 °C a 35 °C e apresenta respostas crescentes em temperaturas nocivas mais altas. Em conformidade com as pesquisas, os camundongos nocautes para TRPV1 e para TRPV3 exibem déficits comportamentais em resposta a temperatura igual ou superior a 50 °C.

Esta constatação sugere que as funções do TRPV3 e do TRPV1 se sobrepõem em relação à sensação de calor nocivo. Em contraste aos camundongos nocautes para TRPV1, o déficit em hiperalgesia ao calor não foi observado em camundongos nocautes para TRPV3.

TRPV4

O canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide*, membro *quatro* (TRPV4) é um canal não seletivo permeável ao Ca^{2+} que compartilha 40% da identidade de aminoácidos com TRPV1. Exibe propriedades de comporta excepcionais sendo ativado por soluções hipotônicas, por certos derivados do éster de forbol e por temperaturas inócuas, na faixa de 27 °C a 34 °C.

A ativação por soluções hipotônicas sugere que serve como um sensor para osmolaridade e/ou do estiramento mecânico associados com o *edema celular*. Além disso, o canal de cátion do TRPV4 é ativado por um processo envolvendo o citocromo P450, cuja formação depende da epoxigenase dos ácidos epoxieicosatrienoicos: concentrações submicromolares do ácido 5',6'-epoxieicosatrienoico ativa o canal TRPV4. Estes resultados indicam que o TRPV4 pode ser ativado por uma variedade de estímulos físicos e químicos, os quais podem ou não compartilhar um mecanismo comum.

Os camundongos nocautes para TRPV4 exibem várias anormalidades nas funções fisiológicas que são equiparáveis com o que se sabe sobre as propriedades de comporta no canal. Também, apresentavam anormalidades na regulação osmótica e uma acentuada redução à sensibilidade à pressão da cauda. Se o canal de cátions do TRPV4 desempenha um papel na hiperalgesia térmica é controverso.

Uma pesquisa concluiu que os camundongos nocautes para TRPV4 apresentam hiperalgesia reduzida entre 35 °C a 45 °C, mas não a 50 °C¹⁰, enquanto outro grupo de pesquisa não conseguiu encontrar um papel para o canal TRPV4 na hiperalgesia térmica¹¹. Além disso, a primeira pesquisa não conseguiu encontrar alterações no comportamento térmico agudo em camundongos nocautes para TRPV4, sendo que a última pesquisa encontrou uma latência mais longa de retirada durante o aquecimento agudo da cauda de 45 °C a 46 °C, sugerindo algum papel de TRPV4 na nocicepção ao calor.

Consideraremos o papel do canal de cátions do TRPV4 na detecção de estímulos mecânicos nocivos, na [Parte – IV](#), quando considerarmos o papel do *receptor ativado por protease dois* (PAR2) na hiperalgesia mecânica.

Resumo dos Nocautes para TRPV

Em resumo, veja a [Tabela 3.1](#), os canais de cátions do TRPV analisados por estudos dos nocautes genéticos, o TRPV1 e o TRPV3 mostraram desempenhar um papel comum na nocicepção térmica nociva. O TRPV1 é necessário na hiperalgesia térmica, enquanto o TRPV3 é dispensável nesta função. Até que mais pesquisas sejam realizadas, o papel do TRPV4 nessas respostas continuará a ser controverso.

Tab. 3.1 – Os déficits em camundongos nocautes para TRPV.

Canais	Temperaturas nocivas	Hiperalgesia
TRPV1	> 50 °C	Pequena (térmica)
TRPV2	Não relatado	Não relatado
TRPV3	> 50 °C	Não observado
TRPV4	Controverso	Controverso

Estas conclusões deixam claro que os nocautes combinados desses canais – TRPV1/TRPV3, TRPV3/TRPV4 e TRPV1/TRPV3/TRPV4 – é desejável se quisermos entender mais plenamente o papel dos canais de cátion do TRPV na nocicepção. Além disso, até que um mutante para TRPV2 seja relatado, o seu papel na sensação de calor nocivo permanecerá indeterminado.

TRPA1

Os canais de cátions do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *anquirina*, membro *um* (TRPA1) são de expressão heteróloga e ativados por compostos irritantes, como sementes de mostarda, wasabi*, raiz-forte, óleo de gaultéria, canela, alho, emissões do escapamento de veículos e gás lacrimogêneo, os quais despertam a sensação dolorosa em queimação ou em picada.

O canal TRPA1 é expresso em neurônios do GRD e no ouvido interno; no entanto, o TRPA1 não é aparentemente essencial à detecção inicial de som pelas células ciliadas. O papel do TRPA1 como sensor de frio nocivo se mostrou controverso.

Os canais TRPA1 quando expressos em células da linhagem *ovariana de hamster chinês* (CHO), são ativados a temperaturas próximas de 17 °C, o que está perto do limiar ao *frio nocivo de 15 °C para seres humanos*¹². Os genes ortólogos – de espécies diferentes – de rato e seres humanos, para expressar TRPA1 em linhagem de *células embrionárias humanas de rim* (HEK293) ou de *ovócitos de Xenopus* não foram ativados pelo frio¹³. Igualmente, não houve ativação pelo frio do canal TRPA1 de expressão heteróloga em HEK293¹⁴. Contudo, outra pesquisa concluiu que os canais TRPA1 de camundongos expressos em HEK293 são ativados pelo frio¹⁵. A resposta comportamental, em camundongos nocautes para TRPA1, ao contato com uma superfície fria ou ao esfriamento evocado pela evaporação da acetona demonstrou uma falta de envolvimento da detecção ao frio^{16,17}. Essas conclusões contraditórias foram esclarecidas pelas pesquisas subsequentes.

Um estudo, em camundongos, nos quais todos os neurônios sensoriais expressando os *canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa do tipo VIII* (Na_v1.8) *resistente à tetrodotoxina* (TTX-R) foram eliminados – consulte na [Parte – V](#), mostraram resistência ao frio nocivo por ensaio de uma placa fria a 0 °C¹⁸. Interessantemente, os camundongos nocautes para Na_v1.8 também exibiram uma significativa redução na expressão para TRPA1 em neurônios do GRD e a falta de uma resposta nociceptiva mediada ao TRPA1 para o teste da formalina – consulte a [Parte – IV](#). Além disso, outro estudo posterior forneceu uma explicação plausível às discrepâncias das pesquisas anteriores descritas acima e concluiu que o TRPA1 atua como um sensor ao frio, *in vitro* e *in vivo*¹⁹.

Em contraste ao debate sobre o papel do canal de cátion do TRPA1 como um sensor de frio nocivo, o papel na excitação do nociceptor evocado pela *bradicinina* (BK) e hipersensibilidade à dor, não ficou controverso.

* Rabanete japonês

A BK é um peptídeo contendo nove resíduos de aminoácidos – nonapeptídeo, que é liberado em tecidos inflamados onde induz dor e hipersensibilidade mecânica e térmica. As injeções de BK em camundongos nocautes para TRPA1 foram muito menos dolorosas, que mostraram pouca ou nenhuma hipersensibilidade térmica ou mecânica frente a esse mediador. Ambas as consequências são esperadas se o canal TRPA1 faz mediação às ações da BK. Veremos mais profundamente os efeitos da BK no TRPA1, junto com seu efeito sobre TRPV1 e outros canais de cátions na [Parte – IV](#).

TRPM8

A capacidade do canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *melastatina*, membro *oito* (TRPM8) recombinante em ser ativado pelo frio é amplamente aceito. O canal TRPM8 é ativado por agentes de esfriamento, como mentol ou temperaturas abaixo de 26 °C. Além disso, três pesquisas independentes utilizando os camundongos nocautes para TRPM8 indicam que o canal TRPM8 está envolvido na sensação de frio nocivo.

A dor induzida pelo esfriamento de evaporação na pata foi determinada com observação das respostas de lambida e encolhimento da pata estimulada, entre os camundongos nocautes para TRPM8 e normais: camundongos nocautes manifestaram, significativamente, comportamento reduzido em comparação aos normais²⁰. Um resultado semelhante foi encontrado por outros pesquisadores que, além disso, descobriram que a injeção de icilina, um composto sintético que ativa o TRPM8 e em menor intensidade o TRPA1, na pata traseira de camundongos selvagens causou a indução rápida de retirada da pata traseira, enquanto os camundongos são colocados sobre uma placa fria de 1 °C. Tal comportamento está ausente em camundongos nocautes para TRPM8, sugerindo que a ativação do TRPM8 pode ser deduzida como resposta de nocicepção²¹.

Um terceiro grupo de pesquisadores encontrou uma resposta nociceptiva reduzida ao esfriamento por evaporação na pata, em camundongos nocautes para TRPM8²². Estes pesquisadores também verificaram que após o ferimento causado pela constrição da ligadura do nervo ciático de camundongos normais, tais animais apresentaram maior sensibilidade à acetona, com resposta de lambida prolongada e agitação da pata. Por outro lado, os camundongos nocautes para TRPM8 não exibiram aumento significativo na resposta ao esfriamento pela evaporação na pata. Estes dados indicam claramente que o canal TRPM8 está envolvido na sensação de frio nocivo.

Os camundongos nocautes para TRPM8 ainda apresentam neurônios sensibilizáveis, indicando que o TRPM8 não é o único receptor ativado pelo frio. A combinação de nocautes para TRPA1 e TRPM8 pode ajudar a esclarecer a função relativa do TRPA1 e do TRPM8 na detecção do frio.

IV – Mediadores Químicos

Uma das metas de longo prazo na investigação da dor é identificar os mediadores químicos que são liberados nos tecidos feridos ou doentes e são responsáveis pela ativação e sensibilização dos nociceptores.

Os mediadores químicos interagem com canais de íons na membrana plasmática do nociceptor utilizando os mecanismos de sinalização, como os usados em outra parte do sistema nervoso. Esses mediadores podem agir quer diretamente nos *canais de íons controlados por ligante* (LGICs) – os ionotrópicos ou indiretamente via *receptores acoplados à proteína G* (GPCRs) ou *receptores da tirosina quinase* (RTKs) – os metabotrópicos, revejam na [Parte – II](#).

Os pesquisadores do estudo da dor distinguem dois aspectos da sensibilização: *alodínia* – dor resultante do estímulo normalmente inócuo e *hiperalgesia* – uma resposta aumentada ao estímulo normalmente não doloroso – reveja na [Parte – I](#).

Serotonina

A injeção de *serotonina* (5-hidroxitriptamina – 5-HT) produz dor e hiperalgesia, em seres humanos. Como veremos a seguir, uma das fontes da 5-HT humana são as plaquetas que são conhecidas por desempenhar um papel importante na inflamação, *in vivo*.

Em suporte a essa ideia é a constatação de que a injeção cutânea de concentrado de plaquetas provoca dor aguda e hiperalgesia²³. De maneira diferente das terminações nervosas dos neurônios contendo 5-HT, as plaquetas não sintetizam 5-HT e, pelo contrário, dependem de sua absorção do plasma. De modo interessante, a proteína responsável pela absorção da 5-HT na plaqueta é idêntica ao transportador da 5-HT no cérebro. Os *inibidores seletivos da recaptação de serotonina* usados no tratamento da depressão reduzem significativamente a concentração da 5-HT nas plaquetas, em pacientes deprimidos²⁴. Pode-se então fazer uma suposição razoável: de que nos pacientes deprimidos e tratados com inibidores da recaptação da serotonina exista uma redução significativa de liberação da 5-HT das plaquetas, no tecido lesado ou inflamado resultando em redução na dor que seria induzida pela 5-HT.

A família dos receptores da 5-HT nos mamíferos é ampla, agrupados em sete tipos – 5-HT₁ a 5HT₇ – consistindo de 14 subtipos de receptores diferentes. Embora a 5-HT seja conhecida por desempenhar um papel importante na nocicepção, existe apenas uma avaliação limitada dos subtipos do receptor da 5-HT envolvidos no processo e que ainda interagem entre si e com outros mediadores químicos da nocicepção.

Receptor 5-HT_{2A}

A injeção intraplantar de 5-HT ou α -metil-5HT – um agonista do *receptor 5-hidroxitriptamina do tipo dois subtipo A* (5-HT_{2A}) – em ratos reduz significativamente a latência de retirada da pata à estimulação ao calor radiante. Além disso, o pré-tratamento com *cetanserina* – um antagonista do receptor 5-HT_{2A} – atenua a resposta de dor comportamental após a injeção da 5-HT²⁵.

Estes resultados sugerem que o receptor 5-HT_{2A} está envolvido na hiperalgesia induzida pela 5-HT em ferimentos agudos ou na inflamação. Estas conclusões foram ampliadas, demonstrando que a inibição do receptor 5-HT_{2A}, em ratos: por injeção intraplantar de *sarpogrelata* – outro antagonista dos receptores 5-HT_{2A} – bloqueia a hiperalgesia primária térmica²⁶. A injeção sistêmica de *sarpogrelata* bloqueia a hiperalgesia térmica induzida por *adjuvante completo de Freund* (CFA)²⁷. A injeção local de *cetanserina* produziu inibição dose dependente da hiperalgesia evocada pela *carragenina*²⁸. Juntos estes resultados sugerem que a 5-HT tem um papel importante na hiperalgesia resultante do ferimento tecidual, por ativação dos receptores 5-HT_{2A} nos terminais nervosos do nociceptor.

O receptor 5-HT_{2A} é um GPCR e sua ativação leva à despolarização da membrana dos neurônios do GRD isolados de ratos. Nas células que exibem uma resposta mediada pelo receptor 5-HT_{2A}, a 5-HT e a α -metil-5-HT despolarizam a membrana e diminuem sua permeabilidade, como veremos a seguir medido eletrofisiologicamente, por um aumento em relação à voltagem da corrente de membrana.

Nas células agudamente isoladas que revelaram uma despolarização mediada pelo receptor 5-HT_{2A}, com o *potencial de reversão* (E_{rev}), ou seja, quando não há fluxo de íons pela membrana, a despolarização foi linearmente relacionada ao $\log [K^+]_e$ indicando que a despolarização resultou de uma diminuição da *permeabilidade ao íon potássio* (P_K)²⁹.

Potencial de receptor

A fim de entender os diferentes mecanismos pelos quais os canais de íons despolarizam a membrana plasmática – o potencial de receptor – analisemos a [Figura 4.1](#).

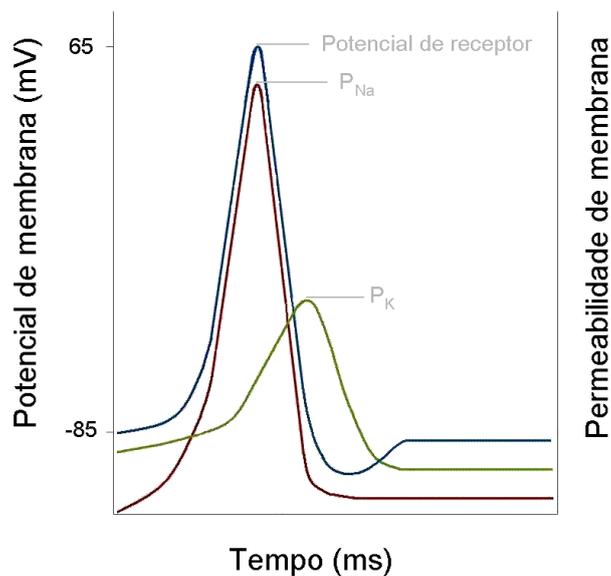


Fig. 4.1 – Potencial de receptor.

Alterações na permeabilidade de membrana ao sódio (P_{Na}) e ao potássio (P_K) subjacente a um potencial de membrana, em relação ao tempo.

O neurônio tem permeabilidade aos Na^+ e K^+ , seu potencial de repouso está situado entre os potenciais de equilíbrio ao sódio (E_{Na}) e ao potássio (E_K) – reveja na [Figura 2.1](#). A despolarização da membrana resulta de um *aumento do quociente de permeabilidade ao sódio* (P_{Na}) em relação a *permeabilidade ao potássio* (P_K), isto é, a permeabilidade aumentada ao Na^+ em relação ao K^+ .

Idealmente, o potencial de receptor pode acontecer quando: P_{Na} *aumenta* e P_K *permanece a mesma*, isto é eletrofisiologicamente, *maior permeabilidade* provoca uma *menor resistência à entrada da membrana*; ou P_{Na} *permanece o mesmo* e P_K *diminui*, *menor permeabilidade* provoca uma *maior resistência à entrada da membrana*.

Canais K_{2P}

Os *canais de potássio de dois poros* (K_{2P}) – reveja a [Figura 2.4 – B](#) – são considerados responsáveis pela P_K nas células em repouso. Portanto, parece razoável *especular sobre a hipótese* que a diminuição da P_K resulta do fechamento dos canais K_{2P} nas células do GRD avaliadas.

Tem-se demonstrado que os efeitos excitatórios em GPCRs ocorrem via inibição de alguns canais K_{2p} num sistema de expressão heterólogo³⁰. O canal de potássio de dois poros membro dois ($K_{2p2.1}$) - [TASK-1] é amplamente colocalizado com o canal TRPV1, tornando-se um candidato a um dos canais responsáveis pela P_K em repouso dos nociceptores. Além disso, quando o canal $K_{2p2.1}$ é nocauteado, “os animais são mais sensíveis aos estímulos mecânicos de limiar baixo e exibem um aumento na hiperalgesia mecânica e térmica em condições de inflamação”³¹.

Seria interessante determinar se o canal $K_{2p2.1}$ ou algum outro da família do canal K_{2p} está envolvido na resposta mediada por 5-HT_{2A}. Se o fechamento dos canais de potássio pode causar dor como estas conclusões indicam, em seguida, outra conclusão a tirar desta pesquisa é que a abertura dos canais de potássio em nociceptores é, potencialmente, um mecanismo importante de antinocicepção. Voltaremos a esta ideia, na [Parte – V](#), quando considerarmos o papel dos canais de potássio na antinocicepção induzida por agonistas do receptor opioide.

Receptores 5-HT₃

O receptor 5-hidroxitriptamina do tipo três (5-HT₃) é um LGIC constituído de cinco monômeros, formando uma região central de poro – consulte a [Figura 2.4 – A](#). Em contraste com todos os outros receptores da serotonina que são GPCRs. Foram identificados cinco subunidades, os subtipos 5-HT_{3A} a 5-HT_{3E}, sendo que os receptores funcionais 5-HT_{3A} homoméricos e o 5-HT_{3A/B} heteroméricos foram encontrados em neurônios.

A 5-HT e α -metil-5HT produziram uma despolarização com menor resistência à entrada da membrana, em neurônios do GRD que exibiram uma resposta ao receptor 5-HT₃. Além disso, o E_{rev} para a resposta da despolarização ficou menos negativo quando a $[K^+]_e$ foi elevada a 10 mM e a despolarização foi convertida em hiperpolarização em uma solução livre de sódio, indicando que a resposta do receptor 5-HT₃ resultou de um *aumento* da permeabilidade ao Na^+ e K^+ .

As pesquisas em camundongos nocautes para 5-HT_{3A} levaram os pesquisadores à interpretação de que os receptores 5-HT₃ não estão envolvidos na dor aguda, mas são necessários na *dor persistente*. Usando o teste da formalina, como veremos abaixo, descobriram que a primeira fase no comportamento de dor não difere entre os camundongos selvagens e os mutantes. Em contraste, a segunda fase no comportamento de dor foi significativamente reduzida em animais mutantes, indicando que os receptores 5-HT₃ são importantes à *dor persistente*³². Além do mais, observou-se uma redução significativa no comportamento da segunda fase do teste da formalina após a administração intratecal, espaço subaracnoide, de um antagonista de receptor 5-HT₃, sugerindo que os receptores 5-HT₃ afetados se encontram na medula espinhal.

Teste da formalina

O teste da formalina é amplamente usado para avaliar os efeitos dos compostos analgésicos em animais de laboratório. O estímulo nocivo em camundongo consiste de uma injeção de solução diluída de formalina debaixo da pele na superfície dorsal da pata traseira. A resposta é a quantidade de tempo que os animais passam a lamber a pata injetada. Existem dois períodos distintos de lambida: uma *fase precoce*, que dura os primeiros 5 minutos; e outra *fase tardia*, que dura de 20 a 30 minutos após a injeção. Em geral, acredita-se que a fase precoce é devido a um efeito direto nos nociceptores, e a fase tardia é resultante da ação de mediadores inflamatórios liberados pelo estímulo.

Bradicinina

A injeção intradérmica de *bradicinina* (BK) produz dor e hiperalgesia térmica dose dependente em seres humanos, indicando que a BK tanto excita como sensibiliza os nociceptores³³.

A BK é um polipeptídeo formado no sangue que provoca contração do músculo liso não vascular, e é um potente vasodilatador de alguns vasos sanguíneos, aumentando a permeabilidade vascular e, o mais importante ao nosso propósito, está envolvido nos mecanismos de dor.

A inflamação que se segue à lesão tecidual aciona a liberação de BK (nonapeptídeo H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH), pela calicreína, que medeia a clivagem enzimática do bradicininogênio no local do ferimento ou inflamação tecidual. As calicreínas são proteases de serina que liberam as cininas – BK e calidina – dos cininogênios – cininogênio de alto peso molecular e de baixo peso molecular. A calicreína dos tecidos humanos preferencialmente libera a *calidina* (decapeptídeo Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH) dos cininogênios. A pré-calicreína é a precursora da calicreína e só pode ativar as cininas depois de ativada durante o ferimento ou inflamação tecidual.

Uma vez formada, a BK é degradada por duas enzimas: a enzima carboxipeptidase-N, conhecida também como cininase-I; e a *enzima conversora de angiotensina* (ECA), também chamada cininase-II. A cininase-I transforma BK e calidina em seus metabólitos ativos, des-Arg⁹-BK e Lis-des-Arg⁹-BK, ou seja, BK e calidina sem seus resíduos de arginina na região C-terminal. A ECA remove o dipeptídeo da região C-terminal da BK ou Lis-BK, que conduz à sua desativação.

Os inibidores da ECA conduzem a um aumento de BK devido à diminuição da degradação e também uma *diminuição da angiotensina* – um vasoconstrictor endógeno potente – que são utilizados no *tratamento da hipertensão arterial*. Sugeriu-se que alguns efeitos da redução da pressão arterial causada pelos inibidores da ECA podem ser devidos a seus efeitos sobre a BK.

Receptores de bradicinina

As ações da BK são mediadas por meio de dois GPCRs – o *receptor um de bradicinina* (B_1) e o *receptor dois de bradicinina* (B_2). A BK ativa os receptores B_2 enquanto os receptores B_1 apresentam maior afinidade a des-Arg⁹-BK, ou seja, o receptor B_1 é seletivo ao metabólito da cinina, sem o resíduo de arginina na região C-terminal.

Os *receptores B_2* são constitutivamente expressos em neurônios do GRD e acredita-se que seja o *subtipo do receptor da bradicinina funcional predominante nos tecidos não traumatizados*. Por outro lado, os *receptores B_1* não são normalmente expressos constitutivamente de extensão significativa, mas são de forma ascendente durante a *inflamação crônica*. Como o receptor B_1 não está presente em tecidos não inflamados é um alvo atraente ao desenvolvimento de antagonistas, como poderiam ser esperados a causar poucos efeitos indesejados.

Uma vez que o receptor B_2 é um GPCR, tem de haver um canal de íon que seja ativado descendentemente no B_2 . Além disso, dado que a ativação do receptor B_2 provoca hiperalgesia térmica e os camundongos nocautes para TRPV1 apresentam pouca hipersensibilidade térmica no local da inflamação tecidual, é plausível que o TRPV1 pode ser o canal de íons que age descendentemente a partir da BK.

Em duas pesquisas com camundongos nocautes para TRPV1, a BK obteve disparos do potencial de ação em fibras C, em ambos os casos não houve nenhuma diferença na resposta inicial aos camundongos nocautes em comparação aos camundongos normais. Em uma das pesquisas a resposta dos camundongos nocautes foram menos persistentes do que dos camundongos normais³⁴, enquanto na outra não houve nenhuma diferença significativa³⁵. Estas conclusões sugerem que o canal TRPV1 contribui, mas não é necessário para que o receptor B_2 medeie a excitação do nociceptor.

Por outro lado, a injeção de BK intraplantar produziu hipersensibilidade térmica substancial em camundongos selvagens, mas não em camundongos nocautes para TRPV1, demonstrando que o canal TRPV1 é necessário, *in vivo*, ao desenvolvimento da hipersensibilidade térmica induzida pela BK³⁶.

Modelos moleculares

A ativação da maioria das células pela *bradicinina* (BK) é mediada pela *fosfolipase C* (PLC) e/ou *fosfolipase A₂* (PLA₂); por consequência, estas são as vias bioquímicas ativadas entre o receptor B₂ e o canal TRPV1 – veja os modelos esquemáticos na Figura 4.2 – A – B.

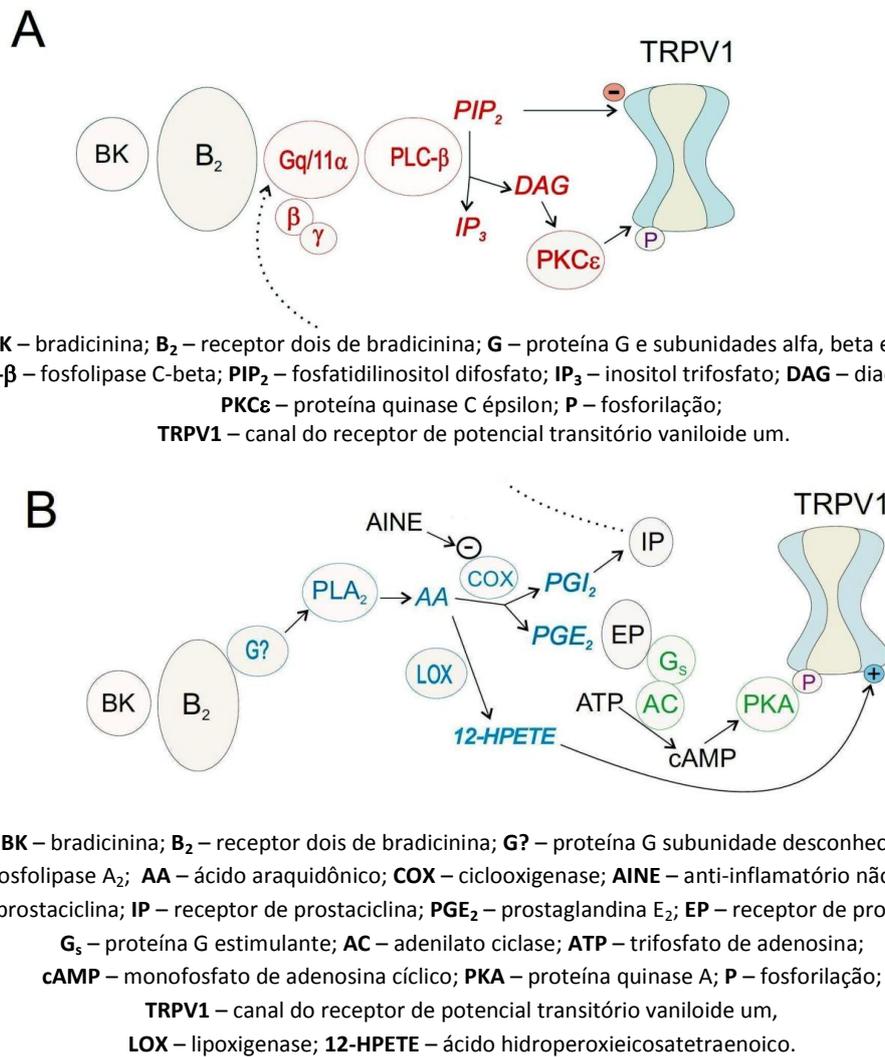
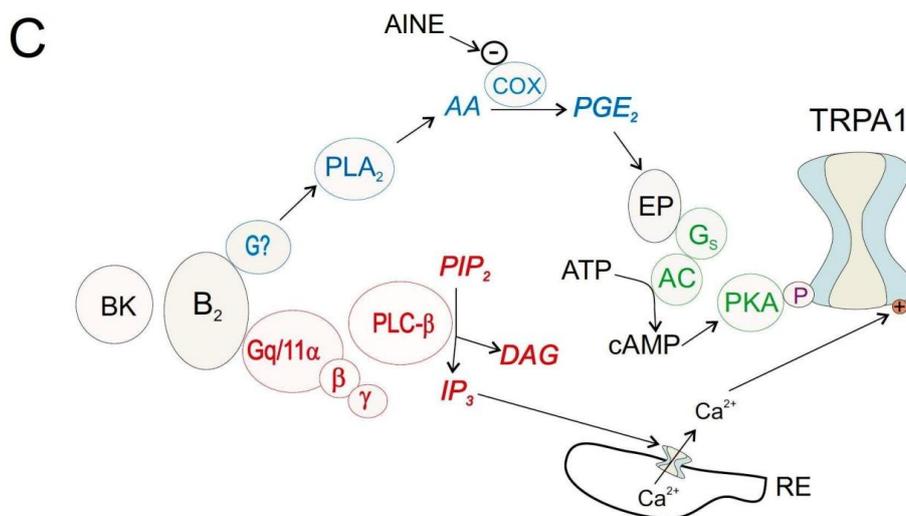


Fig. 4.2 – A – B. Modelos esquemáticos de vias na modulação dos efeitos induzidos pela bradicinina. O esquema mostra as vias que estão envolvidas na modulação pela bradicinina do receptor B₂, através das vias: A – PLC-β ao TRPV1; B – PLA₂ ao TRPV1.



BK – bradicinina; B₂ – receptor dois de bradicinina; G – proteína G e subunidades alfa, beta e gama;
 PLA₂ – fosfolipase A₂; AA – ácido araquidônico; COX – ciclooxigenase; AINE – anti-inflamatório não esteroidal;
 PGE₂ – prostaglandina E₂; EP – receptor de prostanóide E; G_s – proteína G estimulante;
 AC – adenilato ciclase; ATP – trifosfato de adenosina; cAMP – monofosfato de adenosina cíclico;
 PKA – proteína quinase A; P – fosforilação;
 PLC-β – fosfolipase C-beta; PIP₂ – fosfatidilinositol difosfato; DAG – diacilglicerol; IP₃ – inositol trifosfato;
 Ca²⁺ – cátion cálcio; RE – retículo endoplasmático;
 TRPA1 – canal do receptor de potencial transitório anquirina um.

Fig. 4.2 – C. Modelos esquemáticos de vias na modulação dos efeitos induzidos pela bradicinina. O esquema mostra as vias que estão envolvidas na modulação pela bradicinina do receptor B₂, através das vias: C- PLA₂ e PLC-β ao TRPA1.

A grande parte das evidências que suportam esse modelo vem de experimentos usando os corpos celulares neuronais do GRD ou os sistemas de expressão heterólogos. Vale ainda lembrar, com tal número de incertezas e suposições associadas com esses procedimentos experimentais, torna-se imprescindível que as conclusões sejam verificadas cuidadosamente para que de fato reflitam o que realmente ocorre *in vivo*.

B₂ → PLC-β → TRPV1

O receptor B₂ é acoplado à enzima *fosfolipase C-beta* (PLC-β) via *proteína de ligação nucleotídeo guanosina subunidade alfa* (Gα).

Os trímeros da *proteína de ligação guanosina* (G), alfa (α) beta (β) gama (γ), são estimulados pela PLC- β via membros da família $G\alpha$ ($G11\alpha$, $G14\alpha$ e $G15/16\alpha$). Foram descritos diferentes subunidades, cinco β e doze γ , o que permite inúmeras possibilidades de coexpressão às subunidades α , β e γ . A composição exata da subunidade $G\alpha$ acoplada ao receptor B_2 é desconhecida e indicada na ilustração como $Gq/11\alpha$ e as subunidades $\beta\gamma$.

Na **Figura 4.2 – A**, a ligação da BK ao receptor B_2 leva a ativação da $Gq/11\alpha$, via troca da *guanosina trifosfato* (GTP) por *guanosina difosfato* (GDP) no sítio da ligação do nucleotídeo, seguida pela dissociação das subunidades $\beta\gamma$. Ao transformar $Gq/11\alpha$ ligada com a GTP ativa a enzima PLC- β que hidrolisa *fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato* (PIP_2) a forma *inositol 1,4,5-trisfosfato* (IP_3) e *diacilglicerol* (DAG).

A subunidade $Gq/11\alpha$ é uma *GTPase intrínseca* que hidrolisa o fosfato terminal da GTP para restaurar a GDP no sítio da ligação do nucleotídeo. Desse modo ocorre a reassociação de $Gq/11\alpha$ com as subunidades $\beta\gamma$, retornando assim $Gq/11\alpha$ ao estado inativo.

As evidências disponíveis até agora sugerem dois mecanismos possíveis pelas quais a hidrólise modula a atividade do PIP_2 no canal de cátion do TRPV1: quer por fosforilação do canal TRPV1 com ativação da *proteína quinase C* (PKC) via DAG ou por depleção do PIP_2 , que normalmente inibe o canal TRPV1.

Resumidamente, a evidência dos neurônios isolados do GRD e das células HEK293 expressando o canal de cátion do TRPV1 e o receptor B_2 demonstra que a estimulação com BK, ou ativação da PKC, reduz o limiar de sensibilidade à temperatura por ativação das correntes no canal TRPV1^{37,38}. Além disso, a inibição da *proteína quinase C épsilon* ($PKC\epsilon$) resulta em diminuição de 70% na sensibilização do TRPV1 por BK³⁹. Esta constatação não exclui um papel para outras isoformas da PKC atuarem na sensibilização do TRPV1 por BK. Já que a $PKC\epsilon$ é normalmente ativada pelo DAG, é razoável se supor que este seja o mecanismo de ativação da $PKC\epsilon$ em nociceptores.

No segundo mecanismo, na pesquisa usando sistemas de expressão heterólogos, ficou demonstrada que a diminuição dos níveis de PIP_2 na membrana plasmática imita os efeitos da potencialização da BK no canal de cátion do TRPV1. O papel do PIP_2 na regulação do TRPV1 pode ser mais complicado do que mostrado na ilustração: as evidências sugerem um modelo em que o PIP_2 tem um efeito inibidor e ativador sobre o canal TRPV1⁴⁰. Um efeito inibidor e ativador concomitante é o resultado de uma dependência na distribuição normal de atividade do TRPV1 sobre os níveis do PIP_2 . Se os níveis do PIP_2 estão elevados em repouso, isto é à direita do pico de curva dose resposta na distribuição normal, uma moderada diminuição nos níveis do PIP_2 resultará em ativação do TRPV1, ainda considerando que uma diminuição nos níveis do PIP_2 à esquerda do pico resultará na inibição do canal.

As exposições dos nociceptores, contendo canais de cátion do TRPV1, às altas doses de capsaicina estão associadas com a perda de capacidade da sua resposta, bem como a outros estímulos mecânicos nocivos, químicos ou térmicos – reveja na [Parte – III](#). Tem-se sugerido que altas doses de capsaicina no máximo ativa o canal TRPV1 causando um grande influxo de Ca^{2+} que ativa a PLC, por meio disso a depleção do PIP_2 causa uma inibição profunda do TRPV1, que é responsável pela perda de capacidade da resposta à capsaicina e a outros estímulos.

$B_2 \rightarrow \text{PLA}_2 \rightarrow \text{TRPV1}$

Evidências cumulativas têm demonstrado que os GPCRs podem acoplar a PLA_2 . No entanto, qual proteína G é usada para acoplar o receptor B_2 à PLA_2 no nociceptor ainda não foi determinada. Esse fato está assinalado pela interrogação entre B_2 e PLA_2 – veja a [Figura 4.2 – B](#).

A PLA_2 , ativada cataliticamente, hidrolisa os fosfolípidios da membrana, liberando o *ácido araquidônico* (AA). As duas vias importantes envolvidas no metabolismo do AA são as vias da *ciclooxigenase* (COX) e da *lipoxigenase* (LOX). A via da COX forma compostos intermediários que, rapidamente, são convertidos em compostos ativos biologicamente, os quais incluem as prostaglandinas – *prostaglandina E₂* (PGE_2) e *prostaciclina* (PGI_2) – enquanto a via da 12-LOX produz o *ácido 12-hidroperoxieicosatetraenoico* (12-HPETE). Assim, conjectura-se que os mediadores lipídicos – PGE_2 , PGI_2 e 12-HPETE – possam ser produzidos no nociceptor em resposta à BK.

Apesar de considerarmos o papel da PGE_2 , PGI_2 e 12-HPETE como mediadores dos efeitos da BK, vale ainda lembrar que esses mediadores lipídicos podem não ser produzidos apenas no nociceptor onde atuarão. Também podem ser produzidos por células próximas ao sítio de lesão – não necessariamente em resposta a BK e se difundirem ao nociceptor. Esse processo de ativação indireta do nociceptor é denominado *sinalização parácrina*.

12-HPETE

Primeiro, considere as evidências que apoiam a via $\text{AA} \rightarrow \text{LOX} \rightarrow 12\text{-HPETE}$.

Os experimentos com neurônios do GRD cultivados e de fibras nervosas cutâneas na preparação de pele-nervo, *in vitro*, mostraram que a BK agindo através do receptor B_2 , excita terminações nervosas sensoriais ativando o canal de cátions de TRPV1 via produção de metabólitos pela LOX do AA⁴¹. Além disso, a BK estimulou diretamente a produção do ácido 12-HPETE, demonstrado num sistema de expressão que ativa diretamente o canal TRPV1⁴².

Não está claro até que ponto esta via normalmente contribui para a excitação do nociceptor mediada pelo receptor B_2 . Devido à evidência, discutidas acima, de camundongos nocautes para TRPV1, que a ativação do canal TRPV1 não é necessária para excitação do nociceptor pela BK.

PGE₂

É preciso considerar que a *prostaglandina E₂* (PGE₂) por si só provoca dor e hiperalgisia térmica.

Injeção intraplantar de PGE₂, em pata traseira de camundongos, induz de maneira dose dependente, o comportamento de lamber a pata – nocicepção – de curta duração, quando comparado com os animais controles⁴³. Além disso, houve uma redução na latência da retirada de pata – denominada hiperalgisia térmica – após a injeção de PGE₂ intraplantar, que foi significativamente reduzida em camundongos nocautes para TRPV1⁴⁴. Além do mais, usando uma preparação de nervo-pele isolada, mostrou-se que a hiperalgisia térmica induzida pela BK era mediada por ativação da COX⁴⁵.

A diversidade das ações da PGE₂ é supostamente resultante da sua interação com uma família de GPCRs, os *receptores de prostanoide E* (EP), designados EP₁ a EP₄, os quais são também encontrados em neurônios do GRD⁴⁶. A identidade do receptor ou dos receptores EP que acopla a PGE₂ à hiperalgisia térmica é ainda controversa. A ativação dos receptores EP pela PGE₂ pode estimular a PKA, PKC e as *proteínas quinases ativada por mitógeno* (MAPKs).

As correntes ativadas pelo calor foram muito potencializadas pela ativação de PKA, em células transfectadas com o canal TRPV1. A potenciação foi muito reduzida nas células transfectadas com TRPV1, em animais, apresentando mutações em sítios de fosforilação da PKA⁴⁷. Além disso, o bloqueio da *proteína quinase A âncora cinco* (AKAP5), em camundongos, diminuiu a redução da latência de retirada da pata, aos estímulos térmicos, induzida pela injeção de PGE₂ intraplantar, mas afetou a sensibilidade térmica em condições basais⁴⁸. Estes resultados sugerem que a hiperalgisia térmica induzida pela PGE₂ é em parte mediada pela PKA. O receptor EP está acoplado à PKA via *proteína G estimulante* (G_s), que ativa a enzima adenilato ciclase (AC). A enzima AC catalisa a conversão de *trifosfato de adenosina* (ATP) em *monofosfato de adenosina cíclico* (cAMP) que, por sua vez ativa a PKA.

A hiperalgisia térmica induzida por injeção intraplantar de PGE₂ não foi afetada pelo nocaute para PKCε, em outra pesquisa⁴⁹.

PGI₂

A *prostaciclina* (PGI₂) tem um único *receptor de prostaciclina* (IP) em contraste com a família dos receptores EP para a PGE₂.

Usando o *ensaio de contorção abdominal* induzido pelo ácido acético, onde uma injeção intraperitoneal de solução do ácido acético diluído provoca respostas consecutivas de contrações abdominais, em camundongo selvagem, os camundongos nocautes para IP mostraram redução das respostas de contorção em comparação com os selvagens⁵⁰.

Além do mais, a hiperalgesia térmica induzida pela injeção de PGI₂ intraplantar foi significativamente diminuída em camundongos nocautes para TRPV1 e também em nocautes para IP, indicando que a PGI₂ sensibiliza o canal TRPV1 via receptores IP. Além disso, a potenciação induzida pela PGI₂, pela capsaicina, nos neurônios do GRD contendo TRPV1 foi suprimida por um inibidor da PLC e igualmente por um inibidor da PKCε. Estes resultados sugeriram o envolvimento de uma via dependente de PLC e PKCε. Isso está indicado por uma linha pontilhada partindo do IP, na [Figura 4.2 – B](#), para Gq/11α, da [Figura 4.2 – A](#).

Canal TRPV1 e TRPA1

É importante verificar se o modelo utilizado descreve realmente, *in vivo*, o acoplamento entre o receptor B₂ e o canal TRPV1. Nesse sentido, o mecanismo de nocicepção induzido pela BK – *lamber a pata* – foi pesquisado através da injeção de BK em pata de camundongos na presença de diferentes inibidores de enzimas. Os inibidores seletivos da PLC, PKC, PLA₂ ou LOX diminuíram acentuadamente a nocicepção causada por BK, mas não por capsaicina⁵¹. Até agora estas conclusões são coerentes com o modelo apresentado na [Figura 4.2 – A – B](#).

O TRPV1 não é o único canal de cátions do TRP que desempenha um papel na ativação e sensibilização dos nociceptores pela BK; o TRPA1 também foi envolvido. Nos camundongos nocautes para TRPA1, as respostas induzidas pela BK em neurônios do GRD foram reduzidas significativamente, mas não desapareceram e foram comparáveis aos camundongos nocautes para TRPV1. Em estudo comportamental, em camundongos, verificou-se que após injeção intraplantar de BK, os camundongos selvagens passaram quase três vezes mais tempo cuidando da pata afetada que os camundongos nocautes para TRPA1. Estes resultados sugerem que a ativação do TRPA1 desempenha algum papel na dor aguda causada por BK. Com relação à hipersensibilidade a dor, não existem evidências da hipersensibilidade térmica induzida pela injeção intraplantar BK em camundongos nocautes para TRPA1. Assim, os canais TRPV1 e TRPA1 são necessários para o desenvolvimento da hiperalgesia térmica induzida pela BK.

Pesquisas de colocalização, utilizando anticorpos para TRPA1 e TRPV1 revelaram que todos os neurônios com TRPA1 positivos também expressam o canal TRPV1⁵², indicando que as vias bioquímicas, mostradas na [Figura 4.2 – A – B](#), são também utilizadas na modulação do canal de cátion do TRPA1.

B₂ → PLA₂ / PLC-β → TRPA1

Embora as evidências experimentais não sejam tão numerosas quanto em relação ao canal de cátions do TRPV1, pode-se sugerir que as mesmas vias na modulação do TRPV1 também afetam o canal de cátion do TRPA1 – veja na [Figura 4.2 – C](#).

Usando um sistema de expressão heterólogo e neurônios do GRD, mostrou-se que a via utiliza tanto a PLC como a PKA potencializam as correntes promovidas pela abertura do canal TRPA1⁵³. Portanto, as vias para ativação da PLC e da PKA são as mesmas – veja na [Figura 4.2 – A – B](#). No entanto, o inibidor da PKC não preveniu a potenciação pela BK dos transportes de correntes pelo TRPA1 e o ativador da PKC não potencializou a resposta do TRPA1. Estas conclusões indicam que a PKC não contribui para a sensibilização do canal TRPA1, que por sua vez, é diferente do mecanismo para sensibilização do TRPV1; por isso, a PKCε não está presente na [Figura 4.2 – C](#).

O *cátion cálcio* (Ca²⁺) intracelular é um importante mensageiro intracelular e a liberação do Ca²⁺ dos reservatórios intracelulares – *retículo endoplasmático* (RE) – ativam diretamente o TRPA1⁵⁴. Dessa maneira, como esquematizado na [Figura 4.2 – C](#), o *inositol trifosfato* (IP₃) induz a via de liberação do Ca²⁺. Pesquisas complementares serão necessárias para elucidar a natureza exata da interação funcional entre TRPV1 e TRPA1. Uma possibilidade é que o TRPV1 e o TRPA1 se combinem para formar canais hetero e multiméricos.

A ação analgésica dos *anti-inflamatórios não esteroides* (AINEs), como a *aspirina*, é produzida por meio da inibição da COX, a enzima que produz as prostaglandinas. Baseados no modelo molecular, podemos concluir que um dos sítios de ação do AINE é a COX ativada pela BK presente nos nociceptores – veja na [Figura 4.2 – B](#) e [Figura 4.2 – C](#).

Trifosfato de Adenosina

O *trifosfato de adenosina* (ATP) é uma importante fonte de energia intracelular, onde é produzido durante a respiração celular e consumido por muitos processos celulares. Os experimentos em seres humanos têm mostrado que a liberação do ATP na pele provoca dor de forma dose dependente⁵⁵.

Já que o ATP é impermeável à membrana, os receptores do ATP localizado na membrana plasmática do nociceptor são necessários para detectar a liberação do ATP no espaço extracelular das células lesadas. O ATP dirige-se a dois tipos de receptores distintos da *família de receptores purinérgicos* (P2): ativa o *purinoceptor do canal de íons controlado por ligante* (P2X) e o *purinoceptor acoplado à proteína G* (P2Y). Atualmente, foram identificados sete subtipos do receptor P2X e oito subtipos do P2Y.

Receptores P2X

Normalmente, o *purinoceptor do canal de íons controlado por ligante dois* (P2X₂) e o *três* (P2X₃) são expressos por pequenos neurônios sensoriais do GRD. Os resultados experimentais sugerem que as correntes induzidas pelo ATP em neurônios do GRD são mediadas por receptores homoméricos P2X₃ e heteroméricos P2X_{2/3}.

Em camundongos nocautes para P2X₃ houve uma perda da resposta ao ATP de aproximadamente 90 % nos neurônios do GRD⁵⁶. Uma pequena resposta residual sustentada ao ATP foi vista em alguns neurônios do GRD em camundongos nocautes duplos para P2X_{2/3} indicando a presença de baixos níveis de outras subunidades de receptores P2X ou P2Y em alguns neurônios⁵⁷.

A fase precoce no comportamento da dor induzida pela formalina foi significativamente reduzida em camundongos nocautes para P2X₃, embora as respostas a outros estímulos nocivos fossem normais⁵⁸. Por outro lado, a fase precoce no comportamento da dor induzida pela formalina não foi atenuada em camundongos nocautes para P2X₂. Estas conclusões trazidas, *in vivo*, conjuntamente com os resultados, *in vitro*, discutidas acima sustentam a noção de que o canal P2X₃ ionotrópico sinaliza a *dor aguda* do tecido ferido.

Um *antagonista não nucleotídeo dos canais P2X₃ e P2X_{2/3}* (A-317491) causa redução da dor, na mesma situação, encontrada nos camundongos nocautes para P2X₃ e P2X_{2/3} induzida pela formalina⁵⁹. Além disso, as respostas ao estímulo mecânico nocivo e térmico estavam normais como nos camundongos nocautes para P2X₃ e P2X_{2/3}. Simultaneamente, os resultados *in vitro* obtidos em camundongos nocautes e com A-317491, constituem fortes evidências de que os canais contendo P2X₃ contribuem para a nocicepção.

Canal TRPA1

Curiosamente, os camundongos nocautes para TRPA1 apresentam uma redução significativa em todas as fases do comportamento da dor induzida pela formalina, inclusive a fase precoce⁶⁰. A atenuação da fase precoce do comportamento da dor induzida pela formalina em camundongos nocautes para TRPA1 é muito maior do que em camundongos nocautes para P2X₃. No momento, não está claro que tipo de interação, e se existe, entre o P2X₃ e o canal de cátion do TRPA1.

O formaldeído, ingrediente ativo da formalina, é um fixador covalente não específico de ligações cruzadas de proteínas. Esta fixação das ligações cruzadas leva a uma variedade de efeitos, incluindo a lesão tecidual geral. Considerou-se a lesão tecidual libera o ATP das células e a liberação do ATP ativa os receptores P2X₃. Por outro lado, a constatação com o TRPA1 indica que existe um efeito direto da formalina no canal TRPA1 ao invés de um efeito indireto através da lesão tecidual inespecífica.

Os canais de cátions do TRPA1 são ativados por uma variedade de compostos irritantes; é provável que a formalina provoque ativação de maneira semelhante a estes compostos, que constituem o conceito da modificação covalente induzida do canal TRPA1 – reveja a [Parte – III](#).

Receptores P2Y

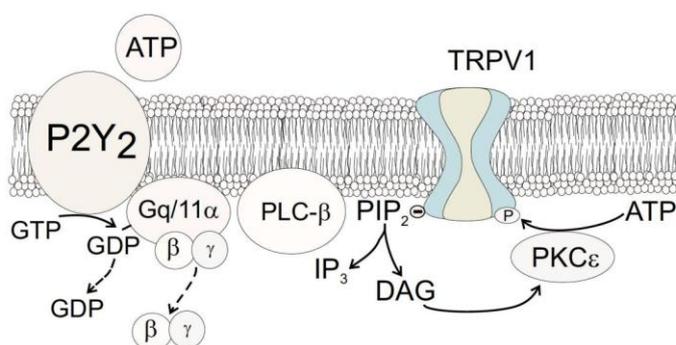
Os neurônios do GRD expressam ainda o *purinoceptor acoplado à proteína G um* (P2Y₁) e o *dois* (P2Y₂) que também foram envolvidos na potenciação da dor.

Tem-se demonstrado que a injeção de ATP induz a hiperalgesia térmica em camundongos. A hiperalgesia térmica foi perdida em camundongos nocautes para TRPV1 e preservada em camundongos nocautes para P2Y₁⁶¹, enquanto camundongos nocautes para P2Y₂ não apresentaram hiperalgesia térmica significativa⁶². Além disso, camundongos nocautes para P2Y₂ mostram déficits na sensação de calor nocivo – mas não ao frio – em comparação com os camundongos selvagens.

Canal TRPV1

A próxima pergunta óbvia é como a ativação do *purinoceptor acoplado à proteína G dois* (P2Y₂) leva à hipersensibilidade térmica, a qual foi perdida nos camundongos nocautes para TRPV1. Uma explicação simples seria que a ativação do receptor P2Y₂ faz com que o canal de cátions do TRPV1 seja modificado de modo que sua sensibilidade térmica é aumentada.

A melhor evidência disponível sugere que o receptor P2Y₂ está acoplado à enzima PLC-β via proteína de ligação nucleotídeo guanosina Gq/11 – veja a [Figura 4.3](#). A ligação do ATP ao receptor P2Y₂ leva a ativação do Gq/11α, via troca da GTP por GDP no sítio da ligação do nucleotídeo, seguida pela dissociação das subunidades βγ. A Gq/11α ativada e ligada com a GTP ativa a enzima PLC-β que hidrolisa PIP₂ e forma IP₃ e DAG.



ATP – trifosfato de adenosina; **P2Y₂** – purinoceptor acoplado à proteína G dois; **GTP** – guanosina trifosfato;
GDP – guanosina difosfato; **Gq/11α** – proteína G – subunidade α; **βγ** – subunidades β e γ;
PLC-β – fosfolipase C beta; **PIP₂** – fosfatidilinositol difosfato; **IP₃** – inositol trifosfato;
DAG – diacilglicerol; **PKCε** – proteína quinase C épsilon; **P** – fosforilação;
TRPV1 – canal do receptor de potencial transitório vaniloide um.

Fig. 4.3 - Ativação do receptor P2Y₂ pelo ATP causa hipersensibilidade térmica.

Os dois mecanismos possíveis de ativação do receptor P2Y₂ pelo ATP: quer por fosforilação do canal de cátions do TRPV1 ou pela desinibição do canal por depleção do PIP₂.

Os dois mecanismos possíveis – esquematizados na [Figura 4.3](#) – que a hidrólise do PIP₂ modula a atividade do canal de cátions do TRPV1: quer a modulação do canal TRPV1 ocorra pela fosforilação através da ativação da PKC-ε via DAG ou pela depleção do PIP₂, que normalmente atua inibindo o canal TRPV1.

Proteases

As proteases presentes na circulação sistêmica também são formadas em ferimentos teciduais, onde podem ativar uma família de receptores acoplados à proteína G, denominados *receptores ativados por proteases* (PARs). Estes receptores desempenham um papel na homeostasia, inflamação e dor.

Quatro PARs foram identificados – PAR1 a PAR4 – por clonagem molecular. Destes, o PAR1 e o PAR2 estão presentes em neurônios do GRD que desempenham um papel na inflamação neurogênica, como veremos a seguir, provocam os sintomas inflamatórios que resultam da liberação de substâncias dos terminais do nervo primário sensorial.

Inflamação neurogênica

Há mais de um século foi documentado que a *estimulação antidrômica* – condução dos potenciais de ação em sentido oposto ao normal – nas fibras aferentes sensoriais resulta em *eritema* – vermelhidão da pele. O resultado de que a ativação periférica dos neurônios aferentes sensoriais é capaz de produzir manifestações de uma resposta inflamatória, ficou conhecida como *inflamação neurogênica*.

A destruição dos neurônios sensíveis à capsaicina diminui extremamente a inflamação neurogênica produzida pela estimulação antidrômica das fibras aferentes sensoriais, envolvendo os nociceptores sensíveis à capsaicina na inflamação neurogênica. O resultado do estímulo doloroso na geração de uma série de potenciais de ação em nociceptores que são conduzidos por seus axônios para a medula espinhal e após o processamento pelo cérebro, uma sensação de dor ocorre – como descrito na [Parte – I](#). Por outro lado, esses mesmos potenciais de ação podem invadir retrogradamente os processos de ramificações terminais, denominado *arborização*, do nociceptor – veja na [Figura 4.4](#).

A despolarização resultante no terminal do nervo primário sensorial causa à liberação dos neuropeptídeos – *substância P* (SP) e *peptídeo relacionado ao gene da calcitonina* (CGRP) – que, por sua vez, atuam em células alvo na periferia, como os mastócitos e o músculo liso vascular, produzindo a inflamação caracterizada pela *vermelhidão, calor e inchaço*^{63,64}.

Em geral, o CGRP não induz a hiperalgesia térmica em nociceptores, porém em algumas linhagens especiais de camundongos, esse efeito pode ser verificado⁶⁵. Assim, dependendo da linhagem de camundongo, a inflamação neurogênica pode ser acompanhada de hiperalgesia. Presume-se que a mesma variabilidade na capacidade do CGRP em induzir hiperalgesia térmica em camundongos também ocorra em seres humanos.

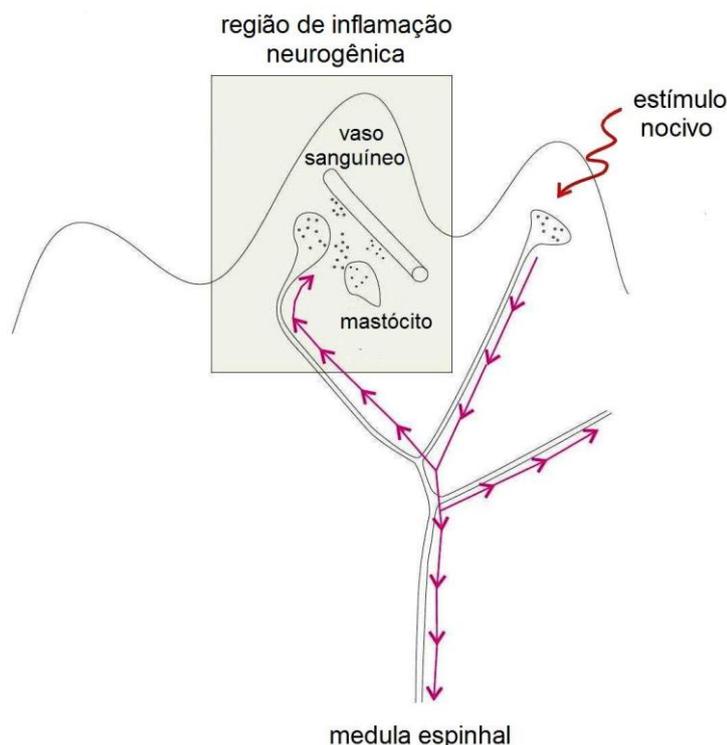


Fig. 4.4 – Esquema do processo de inflamação neurogênica.

Um estímulo nocivo causa a despolarização do terminal de um nociceptor, assim iniciando a propagação dos potenciais de ação no axônio. As setas mostram a direção da propagação. A propagação dos potenciais de ação ocorre ao longo do axônio no sentido da medula espinhal, mas também pode invadir os processos de ramificações terminais próximos – denominados *arborizações* – do nociceptor.

PAR2

As proteases clivam o domínio extracelular da região N-terminal dos receptores ativados por proteases para expor os ligantes atrelados, os quais ao serem expostos ativam os receptores – veja a [Figura 4.5](#).

O receptor ativado por proteases dois (PAR2) pode ser ativado pelas *proteases serina – triptase* e *tripsina*. Apesar de a tripsina ser capaz de ativar o PAR2, a tripsina propriamente dita não está presente na maioria dos tecidos, desse modo provavelmente não é uma enzima endógena que ativa o PAR2. Contrariamente, a *triptase é liberada durante a degranulação dos mastócitos* em seres humanos e também é capaz de clivar o PAR2, em células normalmente expressando PAR2 ou em células transfectadas com o receptor. Portanto, a triptase é uma candidata provável à enzima que ativa o PAR2 – veja a [Figura 4.5](#). A trombina parece ser o agonista mais provável a ativar o PAR1 neuronal.

O PAR2 pode ser também ativado por um peptídeo sintético curto, SLIGRL (SLIGRL-NH₂ – Ser-Leu-Ile-Gly-Arg-Leu-amida), derivado da sequência do ligante atrelado e que se mostrou capaz de ativar o receptor, e assim, imitar os efeitos das proteases – veja a [Figura 4.5](#). De fato, a injeção de SLIGRL na pata de rato provocou inflamação neurogênica, que depende da liberação do CGRP e da SP⁶⁶.

Algumas pesquisas têm tentado *excluir* a possibilidade de que o comportamento nociceptivo e os efeitos hiperalgésicos da ativação do PAR2 possam ser secundários à resposta inflamatória neurogênica. Entretanto, a injeção intraplantar de SLIGRL, em doses subinflamatórias, induziu hiperalgesia térmica, e o comportamento nociceptivo de morder e lamber a pata injetada.

Canal TRPV1

O canal de cátions do TRPV1 é necessário à hiperalgesia resultante dos estímulos nocivos intensos, que ocasionam lesão tecidual, reveja na [Parte – III](#), e no desenvolvimento da hipersensibilidade térmica induzida pela BK.

Da mesma forma, verificou-se que a hiperalgesia induzida pelo PAR2 resulta da sensibilização do canal TRPV1⁶⁷, mas foi abolido pela *capsazepina* – um antagonista do receptor da capsaicina, que apesar de inibir a hiperalgesia térmica, não inibiu a nocicepção – o tempo gasto em lamber e morder a pata injetada – induzida pelo PAR2⁶⁸. Outros experimentos, com neurônios do GRD e células HEK293 transfectadas, indicaram que o PAR2 ativa PKCε e PKA, e assim sensibilizam o canal TRPV1⁶⁹. Estes resultados têm analogia com a sensibilização do canal TRPV1 pela BK, que também ativa a via PKCε e PKA – consulte a [Figura 4.2 – A – B](#). Apesar de a capsazepina ter inibido a hiperalgesia térmica induzida pelo PAR2, não inibiu a resposta imediata, o que implica na existência de outra via que excita o nociceptor.

Uma pesquisa sobre a inervação de neurônios nociceptivos do cólon de camundongos mostrou que a superinfusão de SLIGRL durante 3 minutos induziu despolarização persistente, associada à maior resistência de entrada da membrana, que durou até 60 minutos. Foi bloqueada por calfofina – um inibidor da PKC – e com PD98059 – inibidor de ERK_{1/2}, que são *quinases reguladas por sinal extracelular um e dois*⁷⁰. A despolarização da membrana e o aumento na resistência de entrada da membrana após a ativação do PAR2, provavelmente resultou do fechamento dos canais de potássio, que participam do potencial de membrana em repouso.

Canais K_{2P}

Os canais de potássio de dois poros (K_{2P}) são considerados responsáveis pela P_K em repouso; portanto são os canais de potássio provavelmente, que são fechados após a ativação do PAR2.

O canal de potássio de dois poros membro dois ($K_{2P2.1}$) – [TASK-1] é expresso em nociceptores e animais nocautes para $K_{2P2.1}$ são hipersensíveis aos estímulos mecânicos. Talvez o $K_{2P2.1}$ ou algum outro canal K_{2P} está envolvido na despolarização mediada por PAR2. Além de bloquear a P_K em repouso, o SLIGRL suprime acentuadamente – 55 % – as correntes de potássio retificadoras tardias. A despolarização da membrana abre o canal retificador tardio, que tende a trazer o potencial de membrana de volta ao potencial de repouso. Portanto, esperar-se-ia que a supressão do canal retificador tardio melhoraria e prolongaria a despolarização da membrana causada por outros canais de íons.

Canal TRPV4

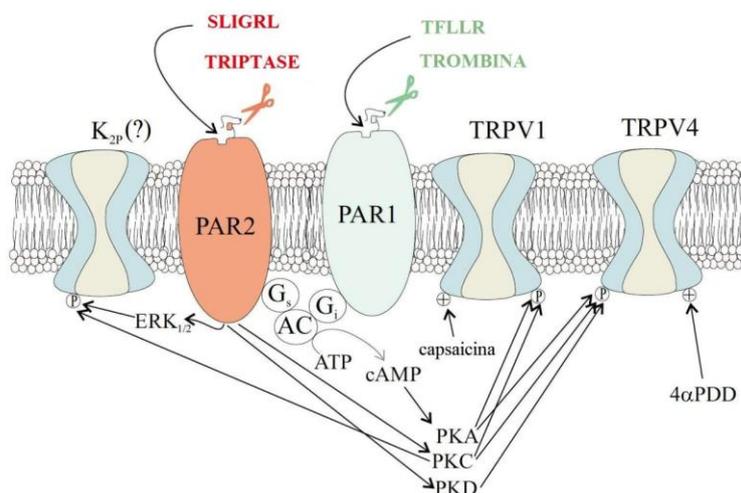
A injeção intraplantar, em rato, de uma dose subinflamatória de 10 μ g de SLIGRL induz a uma hiperalgesia térmica e mecânica prolongadas⁷¹, enquanto a injeção de uma dose muito inferior produz apenas hiperalgesia térmica⁷². Posteriormente, foi especulado que a hiperalgesia mecânica mediada por PAR2 requereria sensibilização do canal TRPV4. Foi observado que hiperalgesia mecânica mediada por PAR2 não ocorreu em camundongos nocautes para TRPV4. Além disso, a injeção intraplantar de agonista do TRPV4 – 4 α -forbol 12,13-didecanoato (4 α -PDD) produziu hiperalgesia mecânica em camundongos normais, que não foi observada em camundongos nocautes para TRPV4⁷³. Por último, inibidores da PLC- β e da PKA, PKC e PKD inibiram a sensibilização induzida por PAR2 da corrente de cálcio no TRPV4⁷⁴.

A Figura 4.5 procura resumir os diferentes mecanismos descritos acima, pelos quais a ativação do PAR2 ocasiona dor e hiperalgesia térmica e mecânica.

PAR1

Da mesma maneira que o PAR2 é ativado por um peptídeo sintético curto, o receptor ativado por proteases um (PAR1) pode ser ativado seletivamente por um peptídeo agonista, TFLLR (TFLLR-NH₂ – Thr-Phe-Leu-Leu-Arg-amida), correspondente ao ligante atrelado ao receptor PAR1.

A injeção intraplantar de TFLLR, em dose subinflamatória, aumenta o limiar e a latência da retirada da pata aos estímulos mecânico e térmico⁷⁵. A evidência disponível de outros sistemas sugere que o PAR1 é acoplado negativamente a *adenilato ciclase* (AC) via *proteína G inibitória* (G_i), assim inibindo a ativação da PKA. Deste modo, analgesia induzida no PAR1 possivelmente pode ser explicada pela inibição da AC – veja a Figura 4.5.



- SLIGRL** – SLIGRL-NH₂ – Ser-Leu-Ile-Gly-Arg-Leu-amida, **Triptase**;
PAR2 – receptor ativado por proteases dois; **ERK ½** – quinases reguladas por sinal extracelular um e dois;
K_{2p}2.1(?) – canal de potássio de dois poros; **P** – fosforilação;
PKA – proteína quinase A; **PKC** – proteína quinase C; **PKD** – proteína quinase D;
TFLLR – TFLLR-NH₂ – Thr-Phe-Leu-Leu-Arg-amida, **Trombina**;
PAR1 – receptor ativado por proteases um; **G_s** – proteína G estimulatória; **G_i** – proteína G inibitória;
AC – adenilato ciclase; **ATP** – trifosfato de adenosina; **cAMP** – monofosfato de adenosina cíclico;
TRPV1 – canal de cátions do receptor de potencial transitório vaniloide um, **Capsaicina**;
TRPV4 – canal do receptor transitório vaniloide quatro; **4α-PDD** – 4α-forbol 12,13-didecanoato.

Fig. 4.5 – Mecanismos de ativação e inibição do nociceptor pelo PAR1 e PAR2.

PAR4

Também, foi identificado o *receptor ativado por proteases quatro* (PAR4) como outro importante receptor envolvido com analgesia⁷⁶.

A injeção intraplantar de um peptídeo sintético curto, GYPGKF (GYPGKF-NH₂ – Gly-Tyr-Pro-Gly-Lys-Phe-amida), sintetizado com base na sequência do ligante atrelado ao PAR4, aumentou o limiar de nocicepção ao estímulo mecânico nocivo e térmico. Além disso, coinjeção de GYPGKF com carragenina reduziu significativamente a hiperalgesia e alodínia resultantes.

Potencial Hidrogeniônico

A injeção de soluções ácidas – *potencial hidrogeniônico* (pH) 5,0 a 6,0 – causa dor em queimação intensa⁷⁷ e uma diminuição substancial do pH – 6,6 a 7,4 – no líquido sinovial pode ser encontrada nas articulações inflamadas⁷⁸.

Não há consenso sobre a identidade do receptor molecular específico que é ativado por um potencial hidrogeniônico ácido, em nociceptores.

Canal TRPV1

Uma diminuição no pH extracelular tem dois efeitos no canal de cátions do TRPV1: primeiro, os prótons extracelulares reduzem o limiar de ativação do canal TRPV1 pela capsaicina e pelo calor; segundo, a acidificação – pH 6,0 – abre diretamente o canal.

É improvável que o canal TRPV1 seja o único sensor de prótons extracelulares porque as fibras nervosas individuais na pele de rato, que disparam os potenciais de ação em resposta a prótons, não são disparados sempre em resposta a capsaicina. Além disso, a resposta a prótons foi reduzida, mas não eliminada, nos neurônios do GRD dos camundongos nocautes para TRPV1.

Canais ASICs

Os *canais de íons sensíveis ao ácido* (ASICs) são codificados por quatro genes, produzindo subunidades designadas de ASIC1 a ASIC4, diversas variantes do ASIC também foram descobertas. Os ASICs são trímeros de proteínas e podem ser compostos de diferentes combinações de subunidades. Após a descoberta e clonagem, os ASICs tornaram-se os principais candidatos a sensor de prótons extracelulares.

Normalmente, uma fração significativa dos neurônios do GRD de ratos exibem correntes transitórias semelhante à ativação do ASIC em resposta aos prótons – pH 5,0 – por outro lado, em camundongos transgênicos expressando uma forma dominante negativa ASIC3, nenhum dos neurônios exibiu correntes transitórias semelhante ao ASIC⁷⁹. Surpreendentemente, em testes comportamentais, verificou-se que os camundongos transgênicos são *mais* sensíveis para um número de modalidades de dor do que os camundongos selvagens, tornando-se improvável que os ASICs sejam transdutores diretos de estímulos nocivos.

A sensibilidade aos prótons nos neurônios do GRD, de seres humanos, foi examinada pela acidificação rápida do fluido extracelular de pH 7,35 a 6,00 causando uma despolarização prolongada do potencial de membrana em todas as 40 células testadas⁸⁰. Surpreendendo, a despolarização da membrana foi associada a uma diminuição na condutância de membrana em 27 das 40 células testadas, em vez do aumento na condutância que seria esperado com a ativação do TRPV1 ou do ASICs – consulte a [Figura 4.1](#). Subseqüentes experimentos de substituição dos íons indicaram que a diminuição na condutância após a acidificação era devido a uma diminuição da permeabilidade ao íon potássio (P_K)⁸¹.

Canais K_{2p}

Na medida em que, os *canais de potássio de dois poros* (K_{2p}) são considerados responsáveis pela P_K nas células em repouso, é possível que um canal de K_{p2} seja também sensível ao ácido.

Dois canais K_{2p} – *canal de potássio de dois poros membro três* ($K_{2p3.1}$) - [TASK-1] e *membro cinco* ($K_{2p5.1}$) - [TASK-2] e um *canal de potássio de retificação interna* ($K_{ir2.3}$) que são bloqueados por prótons, foram identificados em neurônios GRD. Os canais K_{ir} não são retificadores perfeitos; podem passar algumas correntes para fora da célula na faixa de voltagem acima do potencial de repouso; portanto esperar-se-ia que na inibição poderia melhorar e prolongar a despolarização da membrana causada por outros canais de íons.

Os efeitos dos prótons considerados podem envolver o efeito direto em vários canais de íons diferentes acima expostos – TRPV1, ASICs, $K_{2p3.1}$, $K_{2p5.1}$, $K_{ir2.3}$. No entanto é possível que os efeitos dos prótons sejam mediados por uma molécula receptora, a qual é separada realmente do canal de íon que está sendo modulado. Recentemente, *receptores acoplados à proteína sensíveis ao próton* foram identificados⁸² e posteriormente demonstrados em neurônios do GRD de pequeno diâmetro responsáveis pela nocicepção⁸³.

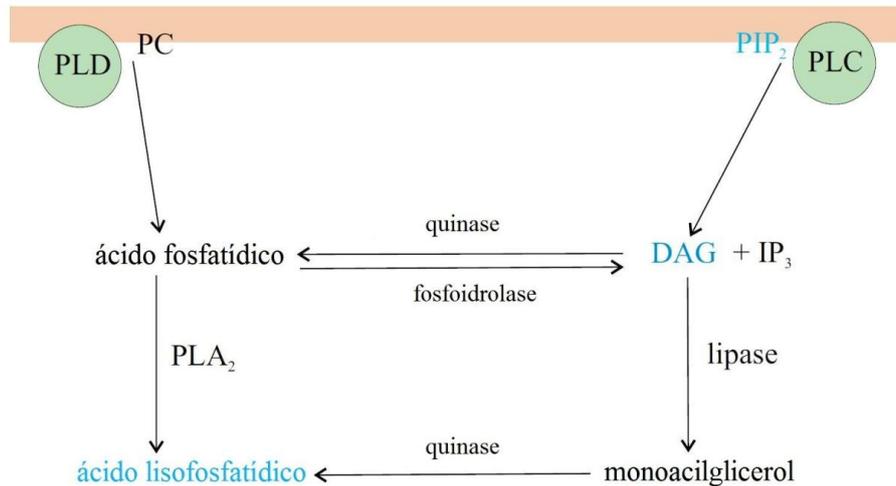
Usando um sistema de expressão em *ovócitos Xenopus*, a acidose externa foi demonstrada modular negativamente a atividade do canal $K_{2p2.1}$ de humanos⁸⁴. Os pesquisadores foram capazes de distinguir um componente rápido e outro lento de diminuição das correntes do canal $K_{2p2.1}$ resultante da exposição ao baixo pH externo. O componente rápido resultou da protonação de resíduos extracelulares no canal $K_{2p2.1}$. Enquanto o componente lento, da dessensibilização do canal $K_{2p2.1}$, foi mediado por um *GPCR sensível ao próton* que revelou-se ao ativar a PLC. Existe um número de vias em que a ativação da PLC poderia potencialmente modular a atividade do canal $K_{2p2.1}$ – consulte a [Figura 4.2 – C](#) para obter exemplos.

A pesquisa descrevendo *GPCRs sensíveis ao próton* mostra que o receptor se encontra inativo em pH 7,8 e totalmente ativado em pH 6,8. Assim, apenas a acidificação extracelular de fraco a moderado pode ativar totalmente *receptores acoplados à proteína G sensíveis ao próton*, tornando-os receptores ideais para a detecção da acidificação extracelular.

Ácido Lisofosfatídico

O *ácido lisofosfatídico* (LPA – 1-acil-*sn*-glicerol-3-fosfato), o glicerofosfolípido mais simples, é constituído por um mol de ácidos graxos por um mol de lípidos; sendo que o ácido graxo pode ser saturado ou insaturado, dependendo do tecido.

As vias que podem dar origem à produção do LPA estão ilustradas na [Figura 4.6](#). O LPA é rapidamente produzido e liberado das plaquetas ativadas e mais abundante no soro – concentração de 1 a 5 μM – do que no plasma. Onde o plasma é a parte líquida do sangue que é separada das células do sangue e o soro é o líquido restante após centrifugação do plasma, para precipitar o coágulo.



PC – fosfatidil colina; PLD – fosfolipase D; PLA₂ – fosfolipase A₂;
PIP₂ – fosfadilinositol bifosfato; PLC – fosfolipase C; DAG – diacilglicerol; IP₃ – inositol trifosfato.

Fig. 4.6 – Vias de produção do ácido lisofosfatídico a partir da membrana celular.

Até agora foram identificados sete GPCRs associados ao LPA, os receptores do ácido lisofosfatídico – LPA₁ a LPA₇. A injeção intraplantar de LPA provoca respostas de nocicepção em camundongos⁸⁵.

Canal K_{2p}

Os efeitos do LPA foram investigados nos canais K_{2p}2.1, utilizando-se como sistema de expressão em *ovócitos Xenopus*.

Numa concentração fisiológica de 1 μM, o LPA diminuiu drasticamente as correntes do canal K_{2p}2.1; um efeito que durou alguns minutos e mostrou-se reversível ao ser lavado. O pré-tratamento com um inibidor da PLC (U-733122) bloqueou completamente a diminuição das correntes do canal K_{2p}2.1 induzida pelo LPA.

Além disso, os experimentos indicaram que a PLC foi, provavelmente, ativada por receptores LPA endógenos e resistentes em *ovócitos Xenopus*.

Canal Na_v

Os efeitos do LPA sobre correntes do *canal de sódio controladas por voltagem de subunidade alfa* (Na_v) em neurônios do GRD de ratos também foram investigados⁸⁶. O LPA suprimiu as correntes do canal Na_v *sensíveis à tetrodotoxina* (TTX-S) e aumentou no canal Na_v *resistentes à tetrodotoxina* (TTX-R). Voltaremos a discutir o canal Na_v e a tetrodotoxina, na [Parte – V](#), quando considerarmos o papel dos *canais de íons controlados por voltagem* (VGICs).

Fator de Crescimento Neural

O *fator de crescimento neural* (NGF) é um *fator trófico* que promove a sobrevivência dos nociceptores. O receptor de alta afinidade ao NGF – *receptor da tirosina quinase neurotrófica tipo um* (TRK1) – é expresso em nociceptores de animais adultos, sendo que o nível do NGF está elevado na pele inflamada.

Receptor TRK1

Usando uma proteína sintética, TRK1-IgG, para sequestrar o NGF, verificou-se que a administração conjunta de TRK1-IgG com carragenina bloqueou a hiperalgesia resultante da inflamação induzida pela carragenina⁸⁷.

Além do mais, o receptor TRK1 medeia a hiperalgesia causada pelo NGF, porque o NGF ainda pode induzir hiperalgesia térmica em camundongos nocautes para LNGFR – *receptor de baixa afinidade ao fator de crescimento neural*⁸⁸.

Estes resultados sugerem fortemente que o NGF está envolvido na regulação da sensibilidade à dor em animais adultos. Além do mais, a hiperalgesia térmica na pata traseira dos animais desenvolveu-se em minutos após a injeção de NGF, sugerindo que a transcrição do gene não estava envolvida⁸⁹.

Canal TRPV1

A fim de examinar os efeitos diretos do NGF nos nociceptores em experiências de animais adultos, alguns experimentos com neurônios do GRD dissociados foram realizados.

Assim, observou-se um rápido aumento da corrente induzida pela capsaicina com a aplicação do NGF nesses neurônios do GRD isolados^{90,91}. Estes resultados indicaram claramente que um dos alvos do NGF é o canal TRPV1.

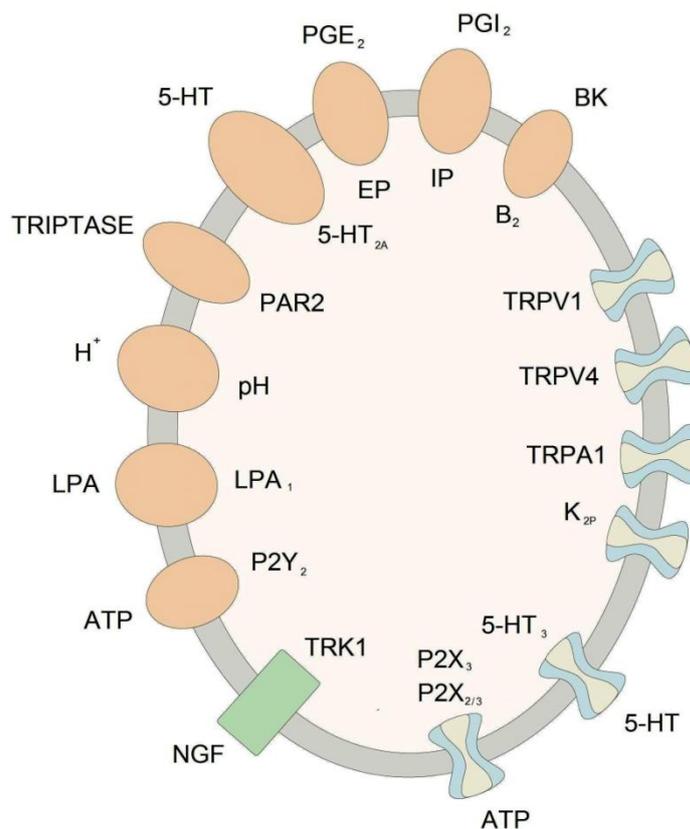
Experimentos subsequentes, usando neurônios do GRD e sistemas de expressão para tentar elucidar as vias de sinalização envolvidas na sensibilização pelo NGF, forneceram resultados conflitantes até agora.

Resumo

Nesta parte foram revistas sucintamente as evidências sobre os mediadores químicos que desempenham um papel importante no nociceptor.

No diagrama da [Figura 4.7](#), os canais de íons e os receptores – *receptores acoplados à proteína G* (GPCRs) e *receptor da tirosina quinase* (RTK) – considerados envolvidos na execução de ações dos mediadores químicos, são mostrados.

Finalmente, na [Tabela 4.1](#) a seguir, encontram-se listados os *receptores acoplados à proteína G* (GPCRs) de cada mediador, os canais de íons e os segundo mensageiros considerados importantes para os mecanismos de transdução de sinal que ocorrem nos nociceptores.



LGICs	Canais de Íons Controlados por Ligantes	Mediadores Químicos
5-HT ₃	receptor da serotonina do tipo três	5-HT serotonina
P2X ₃	purinoceptore de íons controlado por ligante três.	ATP trifosfato de adenosina
P2X _{2/3}	purinoceptores heteroméricos	ATP trifosfato de adenosina
RTK	Receptor da Tirosina Quinase	Mediador Químico
TRK1	receptor da tirosina quinase neurotrófica tipo um	NGF fator de crescimento neural
GPCRs	Receptores Acoplados à Proteína G	Mediadores Químicos
5-HT _{2A}	receptor da serotonina do tipo dois subtipo A	5-HT serotonina
B ₂	receptor dois de bradicinina	BK bradicinina
EP	receptor de prostanoide E	PGE ₂ prostaglandina E ₂
IP	receptor de prostaciclina	PGI ₂ prostaciclina
P2Y ₂	purinoceptor acoplado à proteína G dois	ATP trifosfato de adenosina
PAR2	receptor ativado por proteases dois	triptase
pH	potencial hidrogeniônico	H ⁺ próton
LPA ₁	receptor do ácido lisofosfatídico um	LPA ácido lisofosfatídico
TRPV1	receptor de potencial transitório vaniloide membro um	
TRPV4	receptor de potencial transitório vaniloide membro quatro	
TRPA1	receptor de potencial transitório anquirina membro um	
VGICs	Canais de Íons Controlados por Voltagem	
K _{2P}	canais de potássio de dois poros	

Fig. 4.7 – Os canais e receptores envolvidos na transdução de sinal do nociceptor.

Tab. 4.1 – Mecanismos envolvidos na transdução de sinal do nociceptor.

Mediador Químico	Dor Aguda	Hiper- algesia	GPCRs	Canais de Íons		Vias dos Segundo Mensageiros		
				Ionotrópicos	Metabotrópicos			
5-HT	Sim	Sim	5-HT _{2A}		K _{2p} 2.1(?)			
				5-HT _{3A}				
BK	Sim	Sim	B ₂			TRPV1	PLC-β → DAG → PKCε ↓ PIP ₂	
							PLA ₂ → COX → PGE ₂ → PKA LOX → 12-HPETE	
						TRPA1	PLC-β → ↓ PIP ₂ ↑ IP ₃ → ↑ Ca ²⁺	
							PLA ₂ → COX → PGE ₂ → PKA	
12-HPETE	Sim	----			TRPV1			
PGE ₂	Sim	Sim	EP(?)		TRPV1	PLA ₂ →	PKA	
PGI ₂	Sim	Sim	IP			TRPV1	PLC-β →	PKCε
						TRPA1		
ATP	Sim	Sim				P2X ₃	TRPA1	
						P2X _{2/3}		
						P2Y ₂		
Proteases	Sim	Sim	PAR2			TRPV1		PKA
						TRPV4		PKC
								PKA
								PKC
						K _{2p} 2.1(?)		PKD
								PKC
								ERK ½
pH	Sim	Sim	Próton			ASIC	PLC-β	
LPA	Sim	----	LPA ₁			K _{2p} 2.1(?)	TRPV1	PLC
NGF	----	Sim				TRPV1	(?)	

V – VGICs

Subsequente à ocorrência da transdução sensorial do estímulo nocivo em potencial de receptor, a resposta deve ser transformada ou codificada em uma série de potenciais de ação, que ao chegar ao terminal sináptico, culminam na liberação do neurotransmissor – ou seja, a informação é transmitida à medula espinhal.

Os canais de íons controlados por voltagem (VGICs) entre eles; os canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa (Na_v), os canais de potássio controlados por voltagem (K_v), os canais de cálcio controlados por voltagem (Ca_v) e os canais de cátions controlados por nucleotídeos cíclicos ativados por hiperpolarização (HCN), participam desse processo de codificação.

Na medida em que existem mais VGICs nos nociceptores em comparação com outras regiões do sistema nervoso e do organismo, tornaram-se alvos para o desenvolvimento de novos fármacos anestésicos ou analgésicos.

Na_v

Os canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa (Na_v) são essenciais para codificar o potencial do receptor em uma série de potenciais de ação e conduzi-los ao longo do axônio.

Os canais Na_v são compostos de uma subunidade alfa (α) na formação da região de poro e pelo menos uma subunidade beta (β) auxiliar. As subunidades β são multifuncionais: modulam a comporta do canal, regulam o nível de expressão do canal e o modo como às moléculas de adesão celular interagem com a matriz extracelular e o citoesqueleto. A família da subunidade α formadora da região de poros tem nove tipos conhecidos, denominados $\text{Na}_v1.1$ a $\text{Na}_v1.9$; entretanto nem todos estão presentes nos neurônios do GRD.

Os neurônios diferem na forma dos seus potenciais de ação e também na taxa e regularidade no qual disparam os potenciais de ação. De modo que o nociceptor mecanotérmico dispara os potenciais de ação com uma duração mais longa, vários *milissegundos* (ms), e uma taxa relativamente lenta, normalmente num intervalo menor do que 10 por segundo – reveja na [Parte – I](#).

Uma maneira de distinguir as duas classes gerais dos canais Na_v se dá com base na sua sensibilidade à *tetrodotoxina* (TTX) – uma neurotoxina potente* que bloqueia os potenciais de ação nos nervos por ligação aos poros da subunidade α . Nem todas as subunidades α são sensíveis a TTX; por consequência, podemos distinguir entre os canais *sensíveis* (TTX-S) e os *resistentes* (TTX-R) à tetrodotoxina. Os neurônios nociceptivos expressam tanto os canais Na_v TTX-R como TTX-S. Os canais Na_v TTX-S – $Na_v1.1$, $Na_v1.3$, $Na_v1.6$ e $Na_v1.7$ – e os TTX-R – $Na_v1.8$ e $Na_v1.9$ – estão envolvidos no funcionamento dos nociceptores em estados normais e patológicos.

A caracterização da contribuição específica dos canais Na_v ao funcionamento dos neurônios do GRD é limitada pela falta de bloqueadores seletivos dos canais. A geração de camundongos nocautes para Na_v específicos oferece uma solução opcional para essa questão e assim estes animais podem ser caracterizados pelo comportamento nociceptivo. Além disso, os registros eletrofisiológicos podem ser realizados nesses animais para caracterizar ainda mais a contribuição dos canais específicos à detecção de estímulos nocivos.

Os canais Na_v TTX-R – $Na_v1.8$ e $Na_v1.9$ – são expressos predominantemente em pequenos neurônios do GRD, que incluem células nociceptivas e parecem desempenhar um papel importante nos mecanismos da dor. Também, a expressão preferencial do canal $Na_v1.8$ e do $Na_v1.9$ em pequenos neurônios do GRD sugere que estes canais são bons alvos para o tratamento farmacológico de dor.

$Na_v1.8$

O canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo VIII ($Na_v1.8$) é expresso principalmente em aferentes nociceptivos de pequeno diâmetro e os camundongos nocautes para $Na_v1.8$ apresentam um aumento pronunciado no limiar a estímulos mecânicos nocivos⁹². Os camundongos em que a *toxina diftérica A* (DTA) foi usada para eliminar os neurônios que expressam o canal $Na_v1.8$, também mostraram um aumento pronunciado no limiar aos estímulos mecânicos nocivos.

* Conhecida como “toxina do baiacu”

Interessante, nestes animais, as respostas ao calor nocivo eram semelhantes aos camundongos normais e o desenvolvimento da hiperalgesia inflamatória apareceu tardiamente. Estes resultados podem ser explicados se os canais $Na_v1.8$ estiverem especificamente localizados em nociceptores mecanossensitivos, que determinam sua excitabilidade.

Neste contexto, os canais Na_v TTX-R foram encontrados em densidades suficientemente elevadas nos terminais periféricos dos nociceptores, que determinaram sua excitabilidade⁹³. Alternativamente, o nocaute para $Na_v1.8$ pode interromper o aparelho mecanossensitivo localizado no terminal nociceptor. Além do mais, as pesquisas sobre o papel exato do canal $Na_v1.8$ na nocicepção mecanossensitiva e o desenvolvimento de bloqueadores dos canais $Na_v1.8$ mais específicos ajudaria a esclarecer a situação.

Complementando, além do aumento do limiar aos estímulos mecânicos nocivos, os camundongos nocautes para $Na_v1.8$ também exibiram perda da sensibilidade aos estímulos de frio nocivo. A perda da sensibilidade ao frio nocivo provavelmente ocorre porque o canal $Na_v1.8$ parece ser o único dos canais Na_v que permanece funcional em temperaturas muito baixas⁹⁴. Adicionalmente, a *corrente de sódio* (I_{Na}) muito reduzida era necessária para disparar o canal $Na_v1.8$ e gerar potencial de ação no frio do que a 30 °C para os terminais nociceptivos tratados com TTX⁹⁵.

Canais K_{2p}

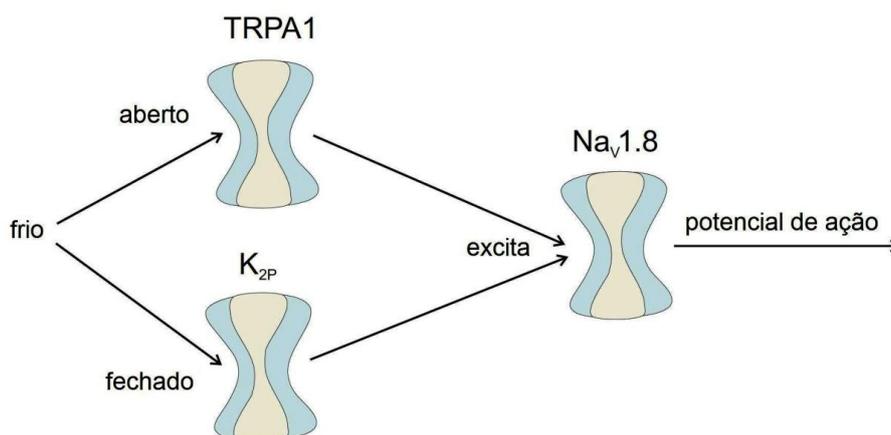
A diminuição do limiar para desencadear potenciais de ação em temperaturas baixas, provavelmente, resulta de um aumento na resistência de entrada da membrana, devido ao fechamento dos *canais de potássio de dois poros* (K_{2p})^{96,97}.

O fechamento dos canais K_{2p} promove a despolarização da membrana como também aumenta a resistência de entrada da membrana. Assim, menor quantidade de corrente iniciada por estímulos nocivos será necessária para desencadear o potencial de ação – consulte a [Figura 4.1](#).

Canais TRP

Em relação aos canais TRP serem considerados sensores ao frio, os camundongos DTA apresentam uma expressão reduzida do sensor ao frio – TRPA1 – e apresenta uma supressão quase completa da segunda fase da resposta à formalina, que foi atribuída por alguns pesquisadores, como resultado da ativação do canal TRPA1. Por outro lado, a expressão de outro sensor ao frio, o TRPM8, parece ser normal em camundongos DTA.

Baseado nesses resultados pode-se fazer um modelo preliminar para a transdução do frio nocivo no nociceptor mecanotérmico, em camundongos – conforme ilustrado na [Figura 5.1](#). A exposição a uma temperatura baixa nociva, em torno de 0 °C, resulta na ativação dos canais TRPA1 e a inibição dos canais K_{2p} , a resultante despolarização excita os canais $Na_v1.8$ e os potenciais de ação se propagam até a medula espinhal. O aparelho mecanossensitivo constituído pela contra corrente $Na_v1.8$ foram retirados da ilustração para simplificar.



TRPA1 – canal do receptor de potencial transitório anquirina um; **K_{2p}** – canal de potássio de dois poros; **$Na_v1.8$** – canal de sódio controlado por voltagem alfa do tipo VIII.

Fig. 5.1 – Modelo da exposição do nociceptor ao frio.

Uma exposição do nociceptor mecanotérmico a temperatura baixa, em torno de 0 °C abre os canais TRPA1 e fecha os canais K_{2p} , que por sua vez ativam os canais $Na_v1.8$ excitando o nociceptor.

$Na_v1.9$

O canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo IX ($Na_v1.9$) é expresso na maior parte dos neurônios do GRD que também expressam o canal $Na_v1.8$, embora um número muito pequeno de células do GRD expressem outros canais Na_v ⁹⁸.

A resposta comportamental a estímulos nocivos – mecânico, calor ou frio – não foram diferentes em camundongos nocautes para $Na_v1.9$ quando comparados aos camundongos selvagens^{99,100}. Além disso, os experimentos em que se utilizam uma preparação de pele-nervo indicam que os limiares aos estímulos mecânico e térmico foram os mesmos nos camundongos nocautes e selvagens. Em contraste, a hipersensibilidade resultante da inflamação periférica produzida pela injeção intraplantar do *adjuvante completo de Freund* (CFA) foi substancialmente reduzida nos camundongos nocautes, assim como a hipersensibilidade resultante da injeção intraplantar de formalina ou carragenina.

Na [Parte – IV](#) foi demonstrado que o limiar ao estímulo nocivo é reduzido por múltiplos mediadores inflamatórios – como PGE_2 , BK, ATP e 5-HT – que agem através de múltiplas vias de sinalização intracelulares – por exemplo, PLC- β , PKA e PKC. Também, foram apresentadas evidências de que estas vias intracelulares constituem alvos dos canais TRPV1, TRPA1, TRPV4 e $\text{K}_{2\text{P}}$ para produzir a hipersensibilidade.

As pesquisas apresentadas acima sugerem que o canal $\text{Na}_v1.9$ também pode ser um alvo para esses mediadores inflamatórios e via de sinalização intracelulares. Porque os mediadores inflamatórios mencionados acima agem através dos GPCRs, a hipótese de que a ativação da proteína G seria necessária para regular o canal $\text{Na}_v1.9$ foi avaliada. Descobriram que a amplitude de uma *corrente de sódio* (I_{Na}) TTX-R, atribuída ao canal $\text{Na}_v1.9$, registrado em pequenos neurônios do GRD com menos de 25 μm de diâmetro, foi aumentada mais de três vezes por 500 μM intracelular de GTP- γ -S – um análogo da GTP não hidrolisável¹⁰¹. Provavelmente, o GTP- γ -S está funcionando por ligação a uma proteína G, e é mantido no estado ativo porque o GTP- γ -S é resistente à hidrólise da GDP – reveja na [Parte – IV](#).

Uma pesquisa mais recente demonstrou que a natureza da *corrente de sódio* (I_{Na}) TTX-R de regulação positiva ocorreu, realmente, no canal $\text{Na}_v1.9$ ¹⁰². Ainda que estas conclusões indiquem a participação de uma proteína G, não apontam para a via de sinalização intracelular que é ativada pela proteína G. Uma possibilidade é que a proteína G ativada, pela ligação GTP- γ -S, interage por mecanismo direto com o canal $\text{Na}_v1.9$.

$\text{Na}_v1.7$

Em 2006, foi relatada a existência de um grupo de indivíduos em três famílias que exibiam uma incapacidade congênita de sentir dor, comportando-se por outro lado, de maneira aparentemente normal¹⁰³. A perda da capacidade de sentir dor foi demonstrada como resultado da disparidade de mutações no gene SCN9A que codifica a subunidade α do *canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo VII* ($\text{Na}_v1.7$) TTX-S que são expressos em níveis elevados nos neurônios nociceptivos do GRD.

Antes desta constatação, os camundongos nocautes para $\text{Na}_v1.7$ foram encontrados mortos logo após o nascimento, assim o canal $\text{Na}_v1.7$ foi excluído e não trouxe informações úteis do que as conclusões do nocaute global para $\text{Na}_v1.7$, em seres humanos¹⁰⁴. Consequentemente, o canal $\text{Na}_v1.7$ é um alvo excelente para o desenvolvimento de novos analgésicos para o tratamento de dor.

Há evidência que as mutações pontuais no gene SCN9A podem resultar num aumento da sensação de dor. Na eritromelalgia ou eritermalgia primária, uma neuropatia crônica dolorosa, com episódios de dor em queimação e vermelhidão das extremidades, sobretudo orelhas, apresentam mutações no gene SCN9A que codifica a subunidade α do canal $\text{Na}_v1.7$ ¹⁰⁵.

As propriedades eletrofisiológicas do canal $\text{Na}_v1.7$ foram avaliadas em mutantes e são as mesmas encontradas em pacientes com eritromelalgia¹⁰⁶. Os canais mutantes exibiram hiperexcitabilidade provocada por uma mudança de hiperpolarização na ativação e por uma lentidão na desativação e inativação.

$\text{Na}_v1.3$

A dor crônica, algumas vezes, se desenvolve após o ferimento ou doença que lese um nervo. Uma variedade de alterações ocorre tanto em nível de nociceptores como, também, no sistema nervoso central após a lesão do nervo. Entre essas alterações, hiperexcitabilidade dos neurônios do GRD está documentada após o ferimento dos axônios periféricos do GRD.

Logo, foi proposto que a hiperexcitabilidade dos neurônios do GRD podem contribuir para a dor neuropática¹⁰⁷ e que a regulação positiva do *canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo III* ($\text{Na}_v1.3$) contribui para a hiperexcitabilidade anormal dos neurônios do GRD que inervam o ferimento¹⁰⁸.

O canal $\text{Na}_v1.3$ TTX-S expresso em neurônios por todo o sistema nervoso embrionário, o qual é regulado negativamente em animais adultos. Entretanto, o comportamento normal se desenvolve em camundongos nocautes para $\text{Na}_v1.3$, sugerindo que a expressão do canal $\text{Na}_v1.3$ não é necessária para o desenvolvimento da dor neuropática¹⁰⁹.

$\text{Na}_v1.1$ e $\text{Na}_v1.6$

Se bem que os *canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa do tipo I* ($\text{Na}_v1.1$) e *do tipo VI* ($\text{Na}_v1.6$) serem expressos em nociceptores, as suas funções específicas, na nocicepção e na sensação de dor, não foram esclarecidas ainda.

K_v

Na **Parte – IV** consideramos um número de situações nos quais os mediadores químicos parecem excitar – despolarizar – os nociceptores por bloquear a P_K em repouso.

O fechamento de *canais de potássio de dois poros* (K_{2P}), além de despolarizar a membrana, também aumenta a resistência de entrada da membrana, assim menos corrente exógena é necessária para desencadear o potencial de ação. Outra forma de aumentar a eficácia das correntes internas iniciada por estímulos nocivos no disparo de potenciais de ação é inibir a despolarização ativada por *canais de potássio controlado por voltagem* (K_V). Nos neurônios do GRD de ratos, a PGE_2 e o análogo estável da PGI_2 – carba PGI_2 – suprimiram a corrente externa dos canais de potássio controlada por voltagem¹¹⁰.

K_{2P}

Os *canais de potássio de dois poros* (K_{2P}) podem desempenhar outro papel na nocicepção, tendo-se verificado que os membros da subfamília dos canais K_{2P} – *membro um* ($K_{2P}2.1$) - [TREK-1], *quatro* ($K_{2P}4.1$) - [TRAAK] e *dez* ($K_{2P}10.1$) - [TREK-2] – são ativados por estímulos mecânicos e térmicos¹¹¹. Além disso, estes canais são colocalizados com os canais de cátions do receptor de potencial transitório – TRPV1, TRPV2 e TRPM8 – em neurônios do gânglio trigeminal¹¹².

Por outro lado, atividade dos canais K_{2P} – $K_{2P}2.1$, $K_{2P}4.1$ e $K_{2P}10.1$ – é muito baixa com temperatura em torno de 24 °C e aumenta a 37 °C. Adicionalmente, o estiramento de membrana aumenta a atividade desses canais a 37 °C. A atividade desses canais continua a aumentar até 42 °C, temperatura máxima para a quais medições precisas poderiam ser feita em sistemas de expressão. O canal TRPV1 é ativado a temperaturas acima de 42 °C – reveja na [Parte – III](#).

Supondo-se que a atividade dos canais K_{2P} – $K_{2P}2.1$, $K_{2P}4.1$ e $K_{2P}10.1$ – continue a aumentar com temperaturas superiores a 42 °C, assim a ativação desses canais aumenta a P_K e tende a neutralizar a excitação, em nociceptores. Dessa maneira, foi sugerido que os estímulos nocivos mecânicos ou térmicos ativariam esses canais promovendo ajustes ou se contrapondo à excitação^{113,114}. Isto é, a ativação do nociceptor por estímulo, mecânico ou térmico, nocivo é um equilíbrio entre a despolarização causada pela ativação de um dos canais de íons excitatórios, mecanossensorial ou termossensorial, e a hiperpolarização causada pela ativação de um desses canais K_{2P} .

Morfina

A morfina alivia a dor e o principal ingrediente ativo do ópio tem sido conhecido por séculos. O efeito analgésico da morfina é principalmente atribuído por ativação dos receptores opioides no sistema nervoso central (SNC). Entretanto, a morfina atua no SNC e no sistema nervoso periférico (SNP) provomendo analgesia.

Uma variedade de experimentos sugeriu a existência de pelo menos três tipos de receptores opioides: mu (μ), delta (δ) e kappa (κ); designados respectivamente: MOR, DOR e KOR. Os efeitos analgésicos da morfina são drasticamente reduzidos em camundongos nocautes para MOR, sugerindo que os MORs medeiam primariamente analgesia¹¹⁵. Além do mais, os estudos comportamentais em rato mostraram que os efeitos analgésicos da morfina administrada periféricamente também parecem ser mediados pelo MOR, mas não são facilmente detectáveis no tecido normal; os efeitos são apenas aparentes quando os receptores estão sensibilizados, como em casos de hiperalgesia¹¹⁶.

Utilizando uma preparação de pele-nervo de rato, foram comparados os efeitos da morfina sobre as propriedades da resposta dos nociceptores que inervam a pele normal e a pele inflamada¹¹⁷. A morfina não teve nenhum efeito significativo sobre a resposta dos nociceptores aos estímulos mecânicos ou térmicos na pele normal. No entanto, os nociceptores que inervavam a pele inflamada apresentavam limiares mais baixos aos estímulos mecânicos nocivos, sendo que as respostas aos estímulos nocivos, mecânico e térmico, foram elevadas pela administração periférica de morfina, inibindo a atividade dos nociceptores cutâneos nas condições de inflamação.

Estes resultados indicam que a morfina agiu sobre os receptores opioides, localizados na região de transdução sensorial do nociceptor – consulte na [Figura 1.3](#) – que fazem a mediação analgésica durante a inflamação local.

Sabe-se há algum tempo que altos níveis de glicose no sangue antagonizam a analgesia da morfina e sugeriu-se que o efeito poderia ser devido aos níveis elevados do ATP intracelular¹¹⁸.

K_{ir}

Posteriormente, foi demonstrado que a *glibenclamida* – um hipoglicemiante oral – bloqueador dos *canais de potássio de retificação interna* (K_{ir}) sensível ao ATP [K_{ATP}], antagoniza analgesia da morfina induzida em camundongos, sugerindo que a morfina atuaria ativando esses canais¹¹⁹.

Os canais K_{ir} ($K_{ir6.1}$ ou $K_{ir6.2}$) constituem um tipo do canal de potássio – composto por quatro subunidades regulatórias dos *receptores sulfonilureia* (SURs) e quatro poros sensíveis ao ATP que geram as *correntes de retificação interna do potássio* ($I_{K_{ir}}$). Os canais K_{ir} atuam como sensores metabólicos e quando os níveis do ATP intracelular são elevados, os canais se fecham.

Em neurônios do GRD de ratos sensíveis à capsaicina, o *diazóxido* – um relaxante da musculatura lisa – agonista dos canais K_{ir} , reverte à sensibilização produzida pela PGE_2 , indicando que a ativação dos canais K_{ir} pode reverter à excitabilidade exacerbada nos neurônios do GRD¹²⁰.

Os receptores opioides são GPCRs, o que levanta a questão de qual via o segundo mensageiro intracelular medeia à via de ação da morfina aos canais K_{ir} . Exatamente para isso, foi sugerido que a morfina ativa canais K_{ir} através da via do *óxido nítrico* (NO) → *guanosina monofosfato cíclico* (cGMP) → *proteína quinase G* (PKG)^{121, 122}.

Ca_v

Os MORs também foram localizados no terminal sináptico dos neurônios do GRD na medula espinhal^{123,124}. Além do mais, a morfina aplicada na medula espinhal reduziu a liberação da *substância P* (SP) evocada pela estimulação do nervo ciático¹²⁵. Adicionalmente, os receptores opioides ativados suprimiram a transmissão sináptica excitatória, mas não a transmissão inibitória em neurônios da medula espinhal de ratos adultos¹²⁶. Em conjunto, estas constatações indicam que os receptores opioides desempenham um papel na regulação da liberação do transmissor no terminal pré-sináptico dos nociceptores.

Dois mecanismos poderiam contribuir para a inibição pré-sináptica da liberação do transmissor pelo agonista opioide: em primeiro lugar, como discutido acima, a morfina poderia ativar os canais K_{ir} no terminal pré-sináptico, e deste modo provocar a hiperpolarização do terminal e a diminuição da resistência de entrada no terminal. Isto reduziria a capacidade dos potenciais de ação para despolarizar o terminal e ativar os canais de cálcio, que por sua vez reduziria o influxo do cátion cálcio (Ca^{2+}) resultante e a consequente liberação do transmissor. Em segundo lugar, os opioides poderiam inibir diretamente os *canais de cálcio controlados por voltagem* (Ca_v) no terminal sináptico.

Usando o sistema de expressão em *ovócitos Xenopus* para os canais de cálcio neuronal e os receptores opioides, a ativação do receptor da morfina com uma encefalina sintética – DAMGO – resultou numa inibição rápida das *correntes de cálcio* (I_{Ca})¹²⁷. Os MORs dos neurônios do GRD, em ratos, são acoplados negativamente a três tipos de canais de cálcio de alto limiar, que desempenham um papel na transmissão sináptica¹²⁸. Sugeriu-se que os receptores opioides inibem os canais de cálcio por meio de uma ação direta na proteína G associada ao canal de cálcio, e não via segundo mensageiro¹²⁹.

Em resumo, as evidências disponíveis indicam que a ação inibitória dos opioides sobre a liberação do transmissor ocorre através da ativação dos canais K_{ir} e/ou inibição dos canais de cálcio no terminal sináptico.

HCN

As correntes de membrana resultante da ativação dos *canais de cátions controlados por nucleotídeos cíclicos ativados por hiperpolarização* (HCN) foram primeiramente descritas em neurônios do GRD isolados, há mais de 25 anos¹³⁰.

Não era conhecido até os últimos anos qual o possível papel dos canais de cátions HCN na dor neuropática¹³¹. Vamos considerar a seguir, as propriedades gerais dos canais HCN, seu papel na regulação da frequência de disparo em alguns neurônios do GRD e também aquelas propriedades que irão se revelar úteis para compreender o possível papel dos canais HCN na dor crônica, que veremos na [Parte – VI](#).

Registro intracelular

O registro intracelular envolve a medição de voltagem e/ou de corrente através da membrana celular – veja a [Figura 5.2](#).

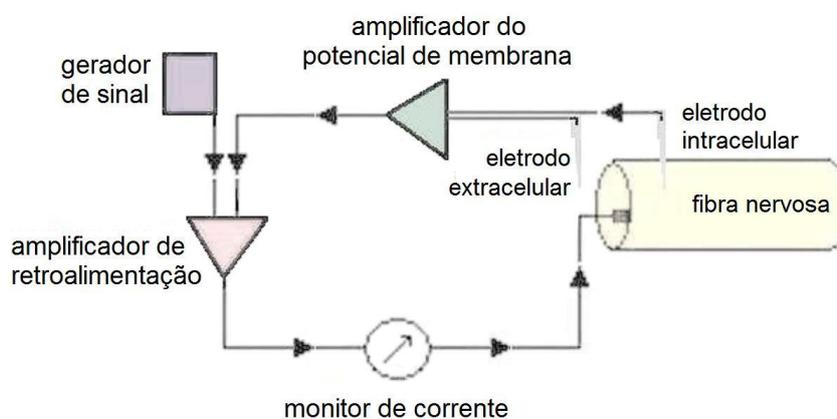


Fig. 5.2 – Esquema para medidas de voltagem e de corrente em nervos.

Os microeletrodos usados para o registro são micropipetas de vidro, preenchidas com uma solução de composição iônica semelhante ao líquido intracelular. Um filamento de prata está inserido na micropipeta, e conecta eletricamente o eletrólito ao amplificador e ao circuito de processamento do sinal. A voltagem medida pelo microeletrodo é comparada com a voltagem de um microeletrodo referência, geralmente um filamento revestido de prata em contato com o fluido extracelular ao redor da fibra nervosa.

Grampeamento de voltagem

A técnica grampeamento de voltagem permite ao experimentador um pulso de voltagem num valor escolhido. Dessa maneira, torna-se possível medir quanto de corrente iônica atravessa a membrana neuronal com uma voltagem determinada. Isto é importante porque muitos dos canais iônicos de um neurônio são *canais de íons controlados por voltagem* (VGICs), os quais abrem somente quando a voltagem de membrana está dentro de determinado intervalo de tempo – reveja na [Figura 4.1](#).

Grampeamento de corrente

A técnica grampeamento de corrente registra o potencial de membrana quando é injetada uma corrente no axônio através do eletrodo de registro, ou seja, como um neurônio responde quando uma corrente elétrica é inserida no seu interior. Isto é importante, por exemplo, para entender como os neurônios respondem aos neurotransmissores que atuam abrindo os canais de íons na membrana.

Ao contrário do modo anterior, o potencial de membrana é livre para variar e o amplificador registra qualquer voltagem gerada no neurônio por conta própria ou por estimulação.

Corrente de hiperpolarização

Os canais de cátions HCN são ativados por um pulso de voltagem em hiperpolarização para potenciais mais negativos entre -50 mV a -60 mV, o qual é próximo dos potenciais de repouso da maioria das células. Estas *correntes de hiperpolarização* (I_h) dos canais HCN foram primariamente denominadas de I_f “engraçado” e I_q “esquisito”, porque ao contrário da maioria VGICs, foram ativadas em hiperpolarização ao invés da despolarização.

Utilizando o grampeamento de voltagem – veja a [Figura 5.3 – A](#), um pulso de voltagem em hiperpolarização ativa uma corrente interna de desenvolvimento lento – a *corrente de hiperpolarização* (I_h) – sendo que sua amplitude aumenta com o aumento da hiperpolarização – não mostrado. Logo, se a magnitude da I_h é registrada em função do potencial de membrana – relação V_M/I_h – então aparentemente há uma região de retificação interna “anormal”.

Entende-se por retificação interna, os canais que passam correntes – carga positiva – mais facilmente para dentro – em direção interna – da célula do que para fora – em direção externa. Quando descoberta pela primeira vez, a retificação interna foi chamada de retificação anômala para distingui-la das correntes de retificação externa, mais comumente encontradas.

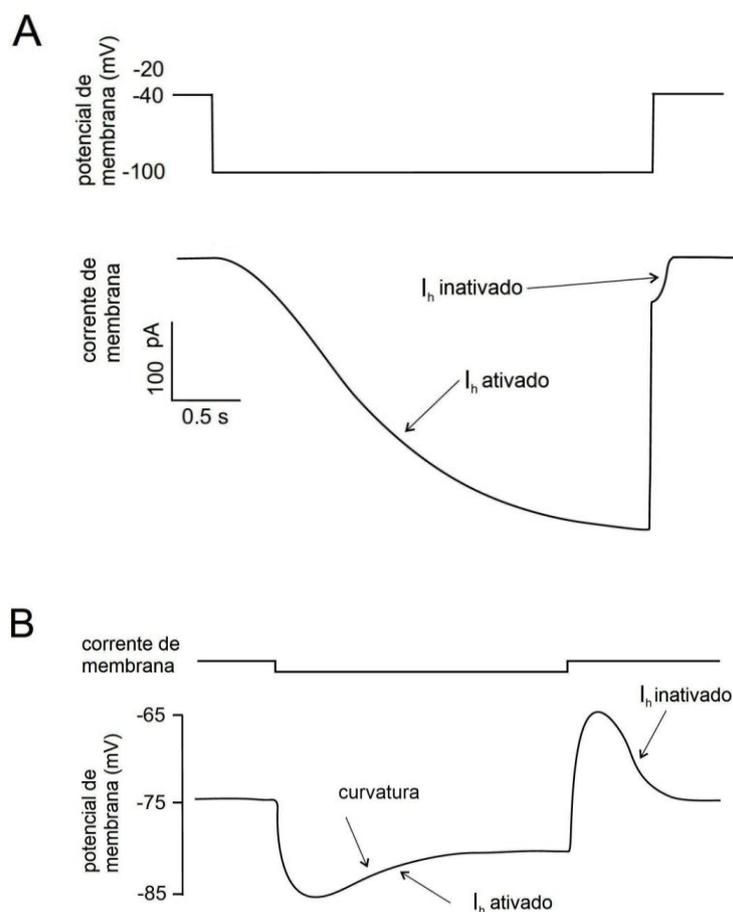


Fig. 5.3 – Ativação e desativação da corrente de hiperpolarização.

- A – grampeamento de voltagem** – a corrente de hiperpolarização (I_h) é ativada com um pulso e voltagem de -40 mV para -100 mV e inativada quando a voltagem retorna a -40 mV.
- B – grampeamento de corrente** – um pulso de corrente ativa I_h causando uma curvatura de despolarização durante a hiperpolarização da membrana.

Vale ainda lembrar que as correntes de retificação interna também estão presentes nos canais K_{ir} , sendo que os canais de cátions HCN são permeáveis ao Na^+ e K^+ enquanto os canais K_{ir} são permeáveis a K^+ . Por um lado, ativação da I_{kir} tenderá a inibir o disparo dos potenciais de ação, porque o potencial de membrana irá se deslocar em direção ao E_K , de aproximadamente oitenta e cinco milivolts negativos. Em contrapartida, a ativação da I_h tenderá excitar o nociceptor: dependendo do quociente entre P_K/P_{Na} deslocará o V_M a um valor entre E_K e E_{Na} , o qual despolarizará a membrana no sentido do limiar de disparo dos potenciais de ação – reveja na [Parte – II](#).

Em grampeamento de corrente – veja a [Figura 5.3 – B](#), durante a *corrente de hiperpolarização* (I_h), uma corrente interna é ativada em hiperpolarização subsequente ao potencial de repouso, que se manifesta como uma curvatura de despolarização do potencial de membrana. Desde que, a I_h não se inative numa determinada voltagem, esta sustentada corrente interna irá desempenhar um papel determinante no potencial de repouso e na resistência de entrada da membrana.

Porque a rede de corrente da membrana no potencial de repouso é zero, a corrente interna deve ser equilibrada por uma corrente externa. Essa corrente externa pode ser colaborada por uma *corrente de potássio* (I_k) transportada por canais K_{2p} . A participação da I_h para determinar o potencial de repouso tem uma consequência que pode desempenhar um papel determinante na excitabilidade dos neurônios. Quando a I_h está presente num axônio, que contém canais Na_v de baixo limiar e uma quantidade adequada de canais K_{2p} ocorre o disparo rítmico do potencial de ação.

Num potencial de repouso permissivo após a hiperpolarização seguindo um potencial de ação pode ser suficiente para ativar a I_h que pode despolarizar a membrana de volta ao limiar do potencial de ação¹³². É este potencial de disparo rítmico que desempenha um papel importante na neuralgia, que veremos na [Parte – VI](#).

HCN2 e HCN4

Uma família de quatro genes, em mamíferos, codifica as subunidades dos canais de cátions controlados por nucleotídeos cíclicos ativados por hiperpolarização – denominados de HCN1 a HCN4 – responsáveis pela *corrente de hiperpolarização* (I_h). Cada subunidade do canal HCN é composta por seis segmentos transmembrana, com um sensor de voltagem e uma região formadora de poro. Uma importante característica dos canais HCN é seu domínio de ligação com o nucleotídeo cíclico regulado pelo *monofosfato de adenosina cíclico* (cAMP), e não requer a fosforilação de proteína.

Os canais HCN2 e HCN4 são fortemente modulados por aumento das concentrações de cAMP, com a voltagem de ativação deslocamento para potenciais mais positivos, perto de 10 mV a 20 mV, enquanto canais HCN1 e HCN3 são relativamente insensíveis ao cAMP. Consequentemente, com aumento do cAMP, um pulso de voltagem de hiperpolarização ativam os canais HCN2 e HCN4.

Vale ainda lembrar que a PGE_2 e o PAR2 ativam a PKA por um aumento do cAMP – como discutido na [Parte – IV](#). Isto levanta a possibilidade de que esses mediadores químicos podem sensibilizar os nociceptores deslocando a voltagem de ativação dos canais HCN2 ou HCN4 por um aumento no cAMP. Esta possibilidade foi avaliada em neurônios do GRD usando uma variedade de técnicas – incluindo um bloqueador da I_h potente não seletivo entre HCN1 a HCN4 (ZD7288)¹³³. Estes pesquisadores descobriram que havia uma população de neurônios do GRD de diâmetro menores, os quais apresentavam uma I_h sensível ao cAMP.

Além disso, encontraram para estes pequenos neurônios nociceptivos, que aumentar os níveis de cAMP desloca a curva de ativação de voltagem da I_h para mais potenciais de despolarização e causa uma despolarização constante do potencial de membrana em repouso, que foi bloqueado por ZD7288. Estes resultados sugerem que modulação da I_h , via aumento do cAMP, desempenha um papel importante na sensibilização dos nociceptores.

VI – Dor Crônica

A capacidade de sentir dor tem uma função protetora: adverte-nos da existência de lesão no organismo ou sua eminência, evoca as respostas que minimizam seu prejuízo – reveja [Parte – I](#). Isto é, a *dor por nocicepção aguda* é um mecanismo de proteção necessário; em contrapartida, a *dor nociceptiva crônica* não auxilia evidentemente a sobrevivência.

Entre diferentes tipos de dor crônica, a dor neuropática está caracterizada por hiperalgesia e alodínia, resultante de ferimento ou lesão do nociceptor. As dores crônicas são frequentemente intensas, implacáveis e resistentes ao alívio pelas terapias analgésicas disponíveis. A dor crônica sem evidência de lesão, como na enxaqueca, não é considerada uma neuralgia.

O ferimento pode ocorrer em qualquer local do nociceptor e pode ser o resultado de qualquer tipo de uma série de lesões possíveis ao nociceptor. Embora a lesão, na neuropatia periférica, seja primariamente no nociceptor, as alterações subjacentes à neuralgia podem incluir alterações no sistema nervoso periférico (SNP), na medula espinhal e no sistema nervoso central (SNC).

Nessa parte final, desta edição eletrônica, continuaremos a focar nossa atenção nas alterações que ocorrem no SNP.

Mecanismos Básicos

As síndromes de dor crônica podem incluir algia *persistente* ou *paroxística*, com sensação de: *choque ou pontada, queimação, latejamento, espasmo ou contratura, dormência, calor ou frio, edema, prurido*; as quais podem, aparentemente, ser independentes de qualquer estímulo óbvio. Também podem apresentar sensações alteradas, como: alodínia e hiperalgesia – reveja na [Parte – IV](#).

Intuitivamente, poderíamos pensar que quando um nervo aferente é ferido, irá falhar a transmissão de informações para medula espinhal. Isto é, poder-se-ia sensatamente, esperar uma perda das sensações, ao invés de uma sensação aumentada ou persistente. Isso é o que acontece quando uma linha de telefone é cortada; não se pode fazer ou receber chamadas telefônicas. Na medida em que pode existir alguma perda de sensibilidade associada à neuralgia, a analogia com a linha de telefone poderia ser verdadeira. No entanto, a resposta aumentada ou a presença de dor sem estimulação, implicam diferenças entre um axônio neuronal ferido e um cabo de telefone cortado.

A questão torna-se: quais os tipos de alterações ocorrem quando um nervo é machucado, que possam dar origem à neuralgia?

Fisiologicamente, as raízes nervosas espinhais são divididas em raízes dorsais para transmissão sensorial e raízes ventrais para transmissão motora. As raízes ventrais são compostas de axônios dos neurônios motores mielinizados. No entanto, nos seres humanos e outros mamíferos, aproximadamente um terço de todos os axônios das raízes ventrais são amielinizadas, têm seus corpos celulares no GRD e são predominantemente nociceptivas – veja na [Figura 6.1](#).

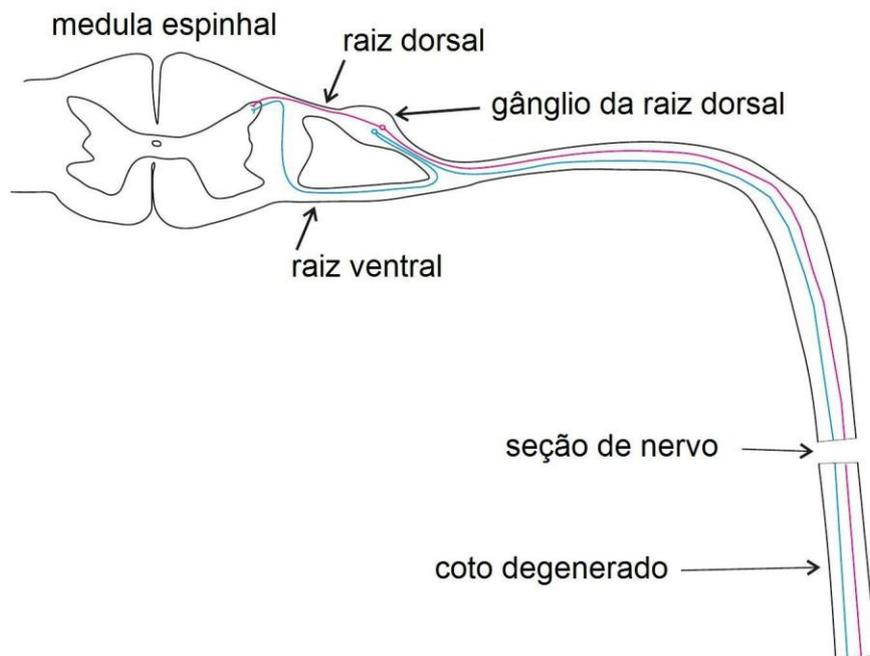


Fig. 6.1 – Gânglio da raiz dorsal com os corpos celulares dos nociceptores.

Na cor vermelha, o axônio entra na medula espinhal através da raiz dorsal; e na cor azul, o axônio entra através da raiz ventral. O nervo formado pelas duas raízes foi seccionado distalmente.

Numa seção de um feixe nervoso distalmente ao GRD – como na [Figura 6.1](#), o coto proximal que é a porção ainda conectada ao corpo celular e se encontra em condições mais favoráveis, irá se regenerar e processar as conexões periféricas. Entretanto, se o processo de regeneração não atingir os axônios distais, surgirá no local, uma massa emaranhada, denominada *neuroma*. Na porção do coto distal não regenerada ocorrerá um processo, denominado *degeneração Walleriana*, anterógrado. Assim, se uma porção das fibras num feixe nervoso for ferida e submetida à degeneração, os macrófagos se movem para seu interior para eliminar os restos celulares. Dessa maneira, estimulam a proliferação das células de Schwann, que por sua vez produzem fatores tróficos, como o *fator de crescimento neural* (NGF) – reveja na [Parte – IV](#), os quais ativam programas genéticos relacionados ao crescimento e estimulam a regeneração dos segmentos neurais.

Modelos de Lesões Neurais

Os modelos de lesões neurais em animais são usados para estudar as neuropatias periféricas.

Em animais, onde um *neuroma* experimental é produzido por seção de axônio, a *axotomia*, do nervo ciático, a atividade espontânea anormal pode ser registrada nas raízes dorsais e nas fibras nervosas localizadas acima do *neuroma*. As descargas espontâneas são também ectópicas: originam-se em lugares anormais, ou seja, das terminações nervosas periféricas. A atividade espontânea pode estar relacionada ao desenvolvimento de dor *persistente* ou *paroxística* que ocorre em condições de neuralgia. Após *axotomia* do nervo ciático, um grande número de genes é regulado positivamente ou negativamente em neurônios do GRD^{134,135}. Estas mudanças na expressão dos genes provavelmente levam a um aumento na excitabilidade dos neurônios do GRD, que é a explicação mais simples para atividade espontânea anormal observada.

Essa possibilidade incluiria a regulação positiva dos canais de sódio (Na_v) e de cálcio controlados por voltagem (Ca_v), além de regulação negativa dos canais de potássio controlados por voltagem (K_v), os quais se opõem aos canais excitatórios, e explicariam a excitabilidade aumentada dos neurônios do GRD após lesão de nervos periféricos. Vale ainda lembrar que foi sugerido que a regulação específica do canal $Na_v1.3$ contribuiria para a hiperexcitabilidade anormal e atividade espontânea dos neurônios feridos do GRD. No entanto, a alodínia e a hiperalgesia desenvolve-se em camundongos nocautes para $Na_v1.3$, sugerindo que a expressão aumentada do canal $Na_v1.3$ não é necessária ao desenvolvimento da dor neuropática – reveja na [Parte – V](#).

Os efeitos da axotomia do ciático nas correntes dos canais de cálcio (I_{Ca}), dos canais de potássio (I_K) e dos canais de cátions controlados por nucleotídeos cíclicos ativados por hiperpolarização (I_h) foram avaliados em neurônios do GRD isolados de ratos, das raízes – L4 e L5 – que dão origem ao nervo ciático¹³⁶. As correntes transportadas pelos três tipos de canais foram reduzidas em neurônios do GRD após a axotomia do ciático, sugerindo que o aumento da excitabilidade neuronal está associado com a redução nas correntes do canal de potássio (I_K) – reveja na [Parte – V](#).

Uma das dificuldades em estudar a neuralgia experimental e tratá-la clinicamente é que pode ser causada por várias neuropatias; conseqüentemente, as sensações e as terapias podem depender da causa particular e qual nervo ou nervos estão envolvidos. O ferimento mecânico do nervo pode resultar em compressão aguda ou crônica do nervo ou se for mais severo, com a seção parcial ou total de um nervo.

Alguns modelos de ferimentos mecânicos em nervos foram desenvolvidos e se revelaram úteis no estudo experimental de neuralgia, nos roedores – veja a [Figura 6.2](#).

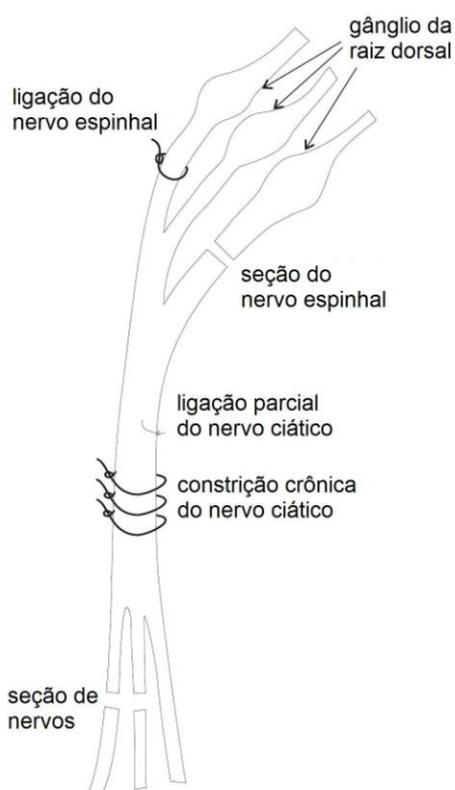


Fig. 6.2 – Modelos de ferimentos mecânicos no nervo ciático de roedores.

O nervo ciático pode ser parcialmente ligado ou uma constricção crônica pode ser feita no mesmo. Também podem ser seccionados os nervos provenientes do ciático. Estes procedimentos têm em comum o fato de algumas das fibras nervosas da inervação da pata dos animais permanecerem intactas e permitirem testes de alodínia e de hiperalgesia.

O trauma mecânico não é a única maneira pela qual um nervo pode ser ferido. O ferimento também pode ocorrer como resultado de uma doença metabólica – *diabetes mellitus*, uma infecção – *neuralgia pós-herpética*, uma doença autoimune – *lúpus eritematoso* ou um trauma de nervo induzido quimicamente. Complicando mais a situação, cerca de um terço das neuropatias periféricas são consideradas de origem *idiopática* – ou seja, resultado de causa obscura ou desconhecida. É pouco provável que alterações moleculares únicas e/ou uniformes possam explicar os casos de neuropatias acompanhadas de neuralgia com hiperalgesia e alodínia.

Vale ainda lembrar que a alodínia e a hiperalgesia podem ocorrer no nociceptor e/ou SNC, conseqüentemente é necessário determinar se a hipersensibilidade derivada da neuralgia induzida pela lesão parcial ou total do nervo é devida a alterações nas propriedades fisiológicas dos próprios nociceptores.

Em ratos com ligação unilateral dos nervos espinhais lombares – L5/L6, a qual produziu alodínia e hipersensibilidade no membro ipsilateral, os registros foram obtidos de fibra única localizada distalmente à ligação dos nervos do membro¹³⁷. Os limiares das respostas aos estímulos mecânicos foram menores e a amplitude das respostas aos estímulos mecânicos supralimiais foram maiores nas fibras C e A δ nesses animais do que em animais *sham* operados. Somente as fibras C eram sensíveis aos estímulos de calor e seus limiares menores, em animais com ligação do nervo que nos animais *sham* operados. Estes resultados indicam que os segmentos feridos dos nociceptores na pele se tornam sensibilizados aos estímulos mecânicos e térmicos, proporcionando evidências de que a sensibilização do nociceptor pode contribuir para a dor neuropática.

Dois exemplos de síndromes de dor crônica:

Síndrome de dor regional complexa

O termo causalgia foi utilizado pela primeira vez pelo médico Silas Weir Mitchell, em 1864, para descrever a dor em queimação intensa e profunda sensibilidade às vibrações ou ao toque, na região de distribuição de um nervo periférico ferido, ocorrido durante a guerra.

Entre 1930 a 1940, a causalgia foi associada ao sistema nervoso simpático e se estabeleceu que esse tipo de dor está associado à função eferente simpática, a qual foi classificada como *dor de manutenção simpática*. Recentemente foi denominada *síndrome de dor regional complexa* (SDRC); sendo que sem seção de nervo – tipo I – classificada como *algoneurodistrofia*, e na ocorrência de seção do nervo – tipo II – como *causalgia*.

Em condições normais, a atividade nas fibras simpáticas pós-ganglionares não produz dor, nem é capaz de ativar os nociceptores; no entanto, após ferimento, os nociceptores do nervo ferido podem tornar-se excitados com a epinefrina ou a estimulação do tronco simpático. Todavia não está claro se existe um efeito direto do simpático sobre o nociceptor ou se o efeito é indireto.

Neuralgia do trigêmeo

A neuralgia do trigêmeo, também chamada de *tic douloureux*, é uma condição de dor crônica caracterizada por ataques repentinos – *paroxismo* – de dor facial, com sensação de choque, nas áreas de distribuição do nervo trigêmeo que inclui: a mandíbula, os dentes, a gengiva, os lábios, as maxilas e menos frequentemente em torno dos olhos e da fronte.

Estes episódios de sensação em choque intensos podem ser disparados por um leve toque em torno da boca ou da face, ou ainda pelo fato de falar ou comer. Pode ser causado por irritação ou estimulação do nervo trigêmeo por pressão de um vaso sanguíneo sobre a saída do tronco cerebral. A neuralgia secundária pode estar associada com a *esclerose múltipla* ou um *tumor*.

A primeira opção de tratamento para a neuralgia do trigêmeo é a farmacológica: os anticonvulsivantes, como *carbamazepina*, são geralmente eficazes. Pacientes impossibilitados de tolerar os efeitos colaterais desses medicamentos ou que se tornam resistentes à medicação, a neurocirurgia é a próxima opção.

Alguns exemplos da diversidade dos tratamentos para a neuralgia:

Gabapentina

O fármaco anticonvulsivante gabapentina foi inicialmente sintetizado para imitar a estrutura química do neurotransmissor *ácido gama-aminobutírico* (GABA). No entanto, considera-se atualmente, que a gabapentina não atua no mesmo receptor do cérebro para o GABA. O uso como analgésico para o tratamento de neuralgia resultou do relato de casos clínicos sobre seu efeito analgésico em pacientes com histórias bem documentadas de dor neuropática.

Pregabalina

A pregabalina foi projetada como um sucessor mais potente da gabapentina e igualmente foi considerada útil no tratamento de dor neuropática.

Uma proteína de ligação de alta afinidade à [³H]gabapentina foi subseqüentemente isolada e em seguida identificada como a subunidade *alfa dois delta um* ($\alpha 2\delta-1$) do *canal de cálcio controlado por voltagem* (Ca_v)¹³⁸. A expressão da subunidade $\alpha 2\delta-1$ foi aumentada 17 vezes no GRD ipsilateral de lesões nervosas, mas não no GRD contralateral¹³⁹. A maior expressão da subunidade $\alpha 2\delta-1$ precedeu o aparecimento da alodínia em animais experimentais e diminuiu quando os animais se recuperavam. Estes resultados sugerem que a regulação positiva da subunidade $\alpha 2\delta-1$ em nociceptores pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento da dor neuropática após lesão de nervo.

Se os efeitos analgésicos da gabapentina e da pregabalina resultam de sua ligação com a subunidade $\alpha 2\delta-1$ do canal Ca_v e se a ligação pode ser bloqueada ou eliminada, o efeito analgésico deve desaparecer. Foi observado que a substituição de alanina por arginina na posição 217 da molécula $\alpha 2\delta-1$ previne a ligação da gabapentina e da pregabalina. Utilizando técnicas de gene alvo, camundongos mutantes foram produzidos tendo alanina na posição 217 da molécula $\alpha 2\delta-1$ ¹⁴⁰. Os camundongos mutantes exibiram respostas normais à dor, no entanto o efeito analgésico da pregabalina durante a fase tardia da dor induzida pela formalina ou alodínia após constrição crônica do nervo ciático foi perdida, demonstrando conclusivamente que as ações analgésicas da pregabalina são mediadas pela subunidade $\alpha 2\delta-1$ dos canais Ca_v . Observou-se também nesses experimentos, que a mutação na subunidade $\alpha 2\delta-1$ diminuiu extremamente a ligação da pregabalina em todo o sistema nervoso e não apenas no GRD ipsilateral à lesão do nervo.

Na pesquisa mostrando que a maior expressão da subunidade $\alpha 2\delta-1$ precedeu o aparecimento de alodínia após o ferimento nervo, a lesão foi produzida por ligação de um dos nervos espinhais das raízes L5/L6 em um ponto distal do GRD e proximal à formação do nervo ciático. Em pesquisa subseqüente, três tipos de ferimentos mecânicos nervosos foram utilizados para determinar se a regulação positiva da subunidade $\alpha 2\delta-1$ no GRD correlaciona com a alodínia induzida¹⁴¹. Adicionalmente, a ligação de um dos nervos das raízes L5/L6 conforme descrito acima, foi seccionado outro nervo espinhal das raízes de L5/L6 no mesmo local e, em terceiro lugar, houve constrição do nervo ciático de um lado por uma série de ligações. Em todas as três situações, houve um aumento significativo na expressão da subunidade $\alpha 2\delta-1$ no GRD e alodínia tátil correspondente que foi inibida por gabapentina.

Estes pesquisadores também estudaram animais exibindo alodinia tátil resultante da neuropatia diabética e neuropatia tóxica induzida por *vincristina* – um agente utilizado na quimioterapia do câncer que funciona por inibição da polimerização de microtúbulos, cujo principal efeito colateral é a neuropatia periférica. Nesses animais, não houve nenhuma alteração significativa na expressão da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 no GRD, sugerindo que o nível da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 no GRD não é o fator determinante de alodinia tátil durante essas condições de dor neuropática.

Interessantemente, animais com neuropatia diabética apresentaram alodinia tátil que foi inibida pela gabapentina, sugerindo o envolvimento da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 em outros locais além do GRD. Apesar de a gabapentina e a pregabalina agirem pela subunidade $\alpha 2\delta$ -1 do canal Ca_v e a expressão desta subunidade ser regulada positivamente no GRD, não existe ainda nenhuma evidência convincente de que seu local de ação, como analgésico na dor neuropática seja no nociceptor e não na medula espinhal ou no sistema nervoso central.

Artemin

As terapias atuais para o tratamento de neuralgia têm sido descritas como insuficientes, uma vez que em muitos casos são apenas benefícios limitados e têm uma alta incidência de efeitos indesejáveis.

Na busca contínua de novas terapias, *artemin* (ARTN) um dos membros da família do *fator neurotrófico derivado da célula glial* (GDNF), foi avaliado. Sinaliza através do *coreceptor alfa três da família do GDNF* ($GFR\alpha 3$), os complexos com a molécula RET “rearranjado durante a transfeção” do receptor da tirosina quinase. A expressão do $GFR\alpha 3$ em adultos está em grande parte restrita a células do GRD de pequeno diâmetro, os quais têm muitos axônios amielinizados que são nociceptores.

Os efeitos do ARTN na hipersensibilidade térmica e tátil, por via subcutânea, como resultado de ligação do nervo espinhal, em ratos foram pesquisados. Verificou-se que o efeito sistêmico, pela administração intermitente, produziu uma reversão dose dependente na hipersensibilidade, a qual foi restabelecida após a cessação da administração¹⁴². Em pesquisa subsequente, os efeitos do ARTN, após ferimento neuronal, foram especificamente avaliados em fibras C, já que a expressão do receptor $GFR\alpha 3$ é encontrada predominantemente em neurônios do GRD de pequeno diâmetro tendo axônios amielinizados. Nesses estudos, o ARTN protegeu o ferimento, induzindo alterações nas propriedades histoquímica e eletrofisiológica das fibras C¹⁴³.

Canabinoide

A maconha foi amplamente utilizada para fins medicinais, incluindo a analgesia, nos Estados Unidos, antes de ser classificada como entorpecente e psicotrópica. Como psicotrópica, a maconha está sujeita à lei das substâncias controladas; e como entorpecente, a maconha é uma droga com alto risco de abuso e não aceita para uso médico. No entanto, aprovação de referendo a maconha, passou a ser utilizada com fins medicinais por diversos estados da América do Norte.

Pesquisas em animais têm indicado que os *canabinoides* (CB) produzem efeitos analgésicos em sítio periférico, bem como espinhal e supraespinhal. No entanto, o uso de CB como analgésicos em seres humanos é prejudicado por seu potencial de efeitos adversos, tais como alucinações, euforia ou disforia, em pacientes que usam tais medicamentos. Seria necessário, antes disso, obter um agonista CB com eficácia analgésica, porém com efeitos adversos mínimos.

Receptores CB

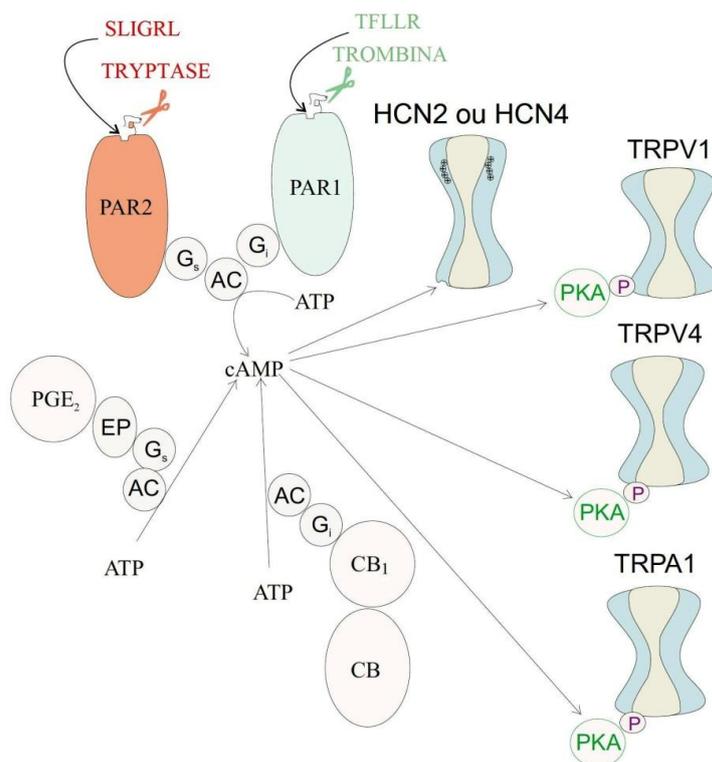
Os efeitos dos CB são mediados por ligação a dois GPCRs, o *receptor canabinoide tipo um* (CB₁) e o *tipo dois* (CB₂), que inibem a enzima *adenilato ciclase* (AC) levando a diminuição dos níveis de *monofosfato de adenosina cíclico* (cAMP) na maioria dos tecidos e células.

Receptor CB₁

A fim de determinar em que medida os receptores CB₁ localizados nos nociceptores promoveriam analgesia em modelos de neuralgia e dor inflamatória, o CB₁ foi nocauteado dos nociceptores do SNP de camundongos, preservando-se sua expressão no SNC¹⁴⁴.

O modelo de neuralgia utilizado consiste da seção de dois ou três ramos terminais do nervo ciático – o nervo tibial e o fibular comum, deixando intacto o nervo sural remanescente. Os efeitos analgésicos do *agonista canabinoide* (WIN 55,212-2) administrado via sistêmica, sobre a latência da resposta aos estímulos térmicos, bem como o limiar de sensibilidade ao estímulo mecânico, foram analisados após o ferimento do nervo. A resposta da latência ao WIN 55,212-2 foi significativamente aumentada ao estímulo térmico, assim como o limiar mecânico foi aumentado. No entanto, os efeitos foram significativamente mais fracos do que em camundongos nocautes para CB₁. Concluiu-se que os receptores CB₁ expressos em nociceptores medeiam uma parte significativa da produção da analgesia induzida pelo CB na neuralgia. Também, chegou-se a mesma conclusão para a analgesia produzida por WIN 55,212-2 durante a dor inflamatória. Estas conclusões constituem forte argumento para o desenvolvimento de novos analgésicos de ação periférica, a partir de CB sintéticos que não cruzem a barreira hematoencefálica.

Finalmente, vale a pena considerar como os agonistas do CB₁, que inibem a AC, levam à diminuição dos níveis do cAMP, que se refletem em analgesia nos modelos de neuralgia e dor inflamatória – veja na Figura 6.3.



CB – canabinoides; **CB₁** – receptor canabinoide tipo um; **Gi** – proteína G inibitória;
AC – adenilato ciclase; **ATP** – trifosfato de adenosina; **cAMP** – monofosfato de adenosina cíclico;
PGE₂ – prostaglandina E₂; **EP** – receptor de prostanoide E; **G_s** – proteína G estimuladora;
PAR2 – receptor ativado por proteases dois; **PAR1** – receptor ativado por proteases um;
HCN2 – canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização dois;
HCN4 – canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização quatro;
PKA – proteína quinase A; **P** – fosforilação;
TRPV1 – canal do receptor de potencial transitório vaniloide um;
TRPV4 – canal do receptor de potencial transitório vaniloide quatro;
TRPA1 – canal do receptor de potencial transitório da anquirina um;

Fig. 6.3 – Regulação da função do nociceptor pelo cAMP e PKA.

PAR2 e PGE₂ ativam AC via G_s, assim levam ao aumento na concentração do cAMP e à ativação da PKA. Em contraste, PAR1 e CB₁ inibem AC via G_i, assim, levando a uma diminuição na concentração do cAMP e uma diminuição na atividade de PKA.

Na *Parte – IV*, consideramos os mediadores inflamatórios que ativam a enzima AC através da *proteína G estimuladora* (G_s). Os ativadores da enzima AC são a *prostaglandina E₂* (PGE_2) e o *receptor ativado por proteases dois* (PAR2). A enzima AC ativada catalisa a conversão do *trifosfato de adenosina* (ATP) em cAMP que, por sua vez, modula a atividade de quatro canais – HCN, TRPV1, TRPV4 e TRPA1. A atividade dos canais de cátions do TRPV1, TRPV4 e TRPA1 são modulados por *fosforilação* (P) da *proteína quinase A* (PKA) ativada pelo cAMP. Por outro lado, os canais de cátions HCN têm um domínio de ligação do cAMP, o qual regula o canal e não requer a fosforilação de proteína. O PAR1 e o CB_1 inibem a AC através da *proteína G inibitória* (G_i), e assim, tendem a inibir a ativação do nociceptor pelos mediadores inflamatórios PGE_2 e do PAR2, dessa forma inibindo a dor inflamatória.

De que maneira, então, os agonistas do CB_1 podem causar analgesia na neuralgia?

Um mecanismo possível é pelos *canais de cátions controlados por nucleotídeos cíclicos ativados por hiperpolarização* (HCN) que já foram também envolvidos na neuralgia, como veremos a seguir.

Correntes em Marcapasso

O procedimento de colocação de ligadura em torno de um nervo espinhal foi originalmente desenvolvido para se ter um modelo animal de neuropatia periférica em que a neuralgia fosse acompanhada de alodínia e hiperalgesia¹⁴⁵.

Portanto, usando esse modelo foi demonstrado que as fibras A parecem mediar a alodínia mecânica e a hipersensibilidade enquanto as fibras C a hiperalgesia térmica¹⁴⁶. Um mecanismo que poderia explicar a origem da neuralgia é a presença de atividade espontânea, que poderia ativar e/ou sensibilizar os neurônios espinhais e, deste modo, contribuir para a dor crônica, bem como explicar a alodínia e a hiperalgesia. Como mencionado anteriormente, nos animais em que um *neuroma* experimental é desenvolvido a partir da seção do nervo ciático, os níveis elevados de atividade neuronal ectópica espontânea podem ser registrados.

A fim de determinar o tipo das fibras que contribuem para a atividade espontânea durante a neuralgia com alodínia e hiperalgesia, um experimento simples foi realizado¹⁴⁷. As ligaduras foram colocadas em torno do nervo ciático e os registros da fibra em diferentes tempos pós-procedimento foram realizados em raízes lombares, que fazem parte do nervo ciático – como mostra a [Figura 6.4](#).

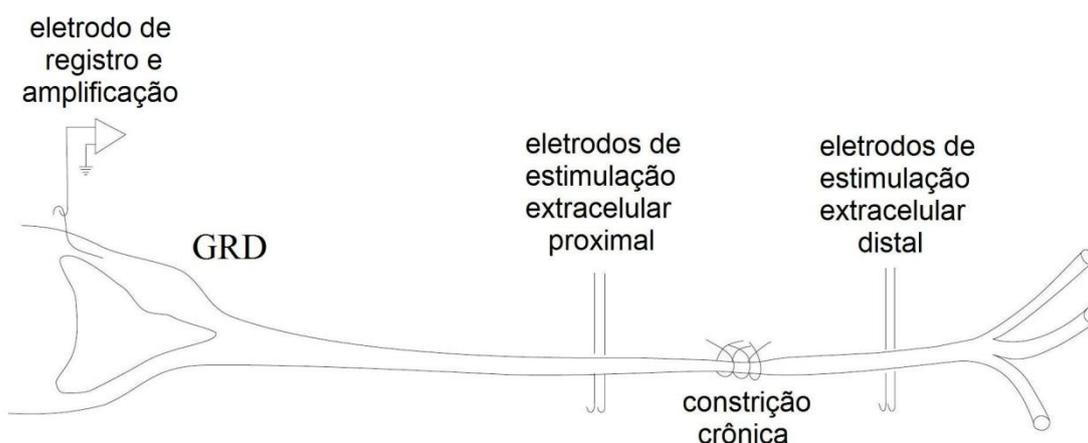


Fig. 6.4 – Sistema experimental de detecção de disparo espontâneo.

Sistema experimental utilizado para determinar o tipo das fibras nervosas que disparam espontaneamente durante a neuralgia.

Os eletrodos estimulantes foram colocados distalmente e proximalmente ao local de ligação do nervo. Desse modo, a velocidade de condução da atividade espontânea e de axônios silenciosos pode ser determinada usando-se os eletrodos estimulantes proximais. Os eletrodos estimulantes distais foram utilizados para determinar o tipo de fibras que conduziram através do local de ligação. As descargas espontâneas foram observadas em 35 % das fibras A β (55), 89 % das quais não conduzem através do local de ligação, 15 % das fibras A δ (20), 65 % das quais não conduzem através do local de ligação e apenas 3 % das fibras C (2), as quais conduzem através do local de ligação.

Um experimento subsequente determinou que a atividade espontânea, algumas vezes, se originava perto ou no próprio local da ligação, além do GRD¹⁴⁸. Estes resultados indicaram que, após o trauma mecânico, várias fibras A β e A δ e algumas fibras C dos nervos feridos tornam-se espontaneamente ativas e essa atividade pode se originar no GRD, perto ou no local do ferimento. Além disso, algumas fibras com atividade espontânea também inervavam diretamente a região afetada pelo nervo machucado.

Muitas das atividades espontâneas das fibras A β e A δ , descritas acima, exibiram um padrão de disparo rítmico, sugerindo fortemente a possibilidade de que o padrão de disparo resulta de uma corrente em marcapasso localizada de maneira subjacente. As correntes de hiperpolarização (I_h) dos canais HCN são correntes em marcapasso encontradas em neurônios do GRD – discutido na [Parte – V](#).

Em ratos, nos quais os nervos espinhais L5 e L6 estavam ligados, a alodinia tátil resultante foi suprimida de maneira dose dependente por ZD7288 – um fármaco originalmente considerado como um bloqueador específico de I_h , não seletivo entre HCN1 e HCN4¹⁴⁹. Por outro lado, o ZD7288 diminuiu as descargas espontâneas das fibras A β e A δ . Finalmente, o ferimento neural aumentou as correntes em marcapasso nos grandes neurônios do GRD e o potencial de membrana em repouso desses neurônios foi significativamente mais positivo do que nos ratos controles. Estes resultados sugerem que um aumento da I_h desempenha um papel importante no desenvolvimento de alodínia tátil na dor neuropática. Além disso, estas conclusões apoiam a hipótese de que as descargas espontâneas em neurônios do GRD desempenham um papel causal na neuralgia.

Em contraste com as conclusões dos estudos comportamentais e eletrofisiológicos descritas acima, o *ácido ribonucleico mensageiro* (mRNA) do canal HCN e a proteína resultante foram reduzidos em neurônios do GRD ipsilateral à ligação. Em pesquisa subsequente, o acúmulo de proteína do canal HCN axonal foi encontrada nos locais de ferimento juntamente com uma ligeira diminuição nos corpos celulares do GRD.¹⁵⁰ Estes resultados sugerem que acumulação de canais HCN no local do ferimento axonal ocasionam os disparos ectópicos espontâneos em potenciais de ação, que contribuem para a alodínia mecânica na neuralgia.

As conclusões ligando I_h à indução de alodínia tátil na neuralgia dependem do nível de especificidade do ZD7288, o qual foi questionado pela descoberta de efeitos não específicos. Resultados futuros devem ser aguardados até que se conclua se I_h desempenha, de fato, um papel causal no início da alodínia tátil na neuralgia.

O papel do HCN1 na neuralgia foi investigado no modelo de ligação do nervo ciático em camundongos nocautes para HCN1. Depois da ligação do nervo, a hiperalgesia mecânica e alodínia ao frio foram detectadas em animais controle e nos camundongos nocautes para HCN1: os níveis de hiperalgesia mecânica foram semelhantes, mas houve uma diminuição significativa da alodínia ao frio em mais de 50 % dos camundongos nocautes. Estes resultados sugerem um papel causal para HCN1 na indução da alodínia ao frio no modelo de neuralgia.

Atividade Espontânea

Foi mencionado anteriormente que após ferimento do nervo, os nociceptores que inervam a pele tornam-se sensibilizados a estímulos mecânicos e térmicos. Desse modo, a sensibilização do nociceptor pode contribuir para a neuralgia. Como a alodínia e a hiperalgesia podem resultar de alterações que ocorrem no SNC, pode ser que a atividade espontânea leve à hiperalgesia também centralmente.

Demonstrou-se que a estimulação elétrica das fibras C nos seres humanos pode levar a hiperalgesia, indicando que a atividade elétrica aumentada em fibras C é suficiente para produzir hiperalgesia central¹⁵¹. Ainda que a atividade espontânea contínua seja suficiente para produzir hiperalgesia mecânica, não é necessária; a gangliectomia de L5 no qual os aferentes são removidos resultou em hiperalgesia mecânica comparável a ligação do nervo espinhal¹⁵².

Em ratos, foi pesquisada a possibilidade da dor espontânea contínua na neuralgia ser causada por disparo espontâneo dos neurônios nociceptivos. O comportamento de elevação espontânea da pata, como um resultado da lesão do nervo, foi utilizado como indicador de dor espontânea¹⁵³. Correlação entre a elevação espontânea da pata e a taxa de disparo de nociceptores C, após o ferimento ou no modelo que utiliza o *adjuvante completo de Freund* (CFA), foi verificada consistente com a possibilidade de uma relação causal entre os dois¹⁵⁴.

Embora possam existir situações em que a neuralgia é o resultado do disparo espontâneo de aferentes nociceptivos, o inverso em que todos os casos de neuralgia resultam do disparo espontâneo contínuo dos nociceptores, pode não ser verdadeiro.

No entanto, o que acontece com a atividade espontânea dos aferentes A β acima descrita: poderia o disparo espontâneo nesses neurônios ser a causa da neuralgia, bem como alodínia e hiperalgesia secundárias?

Uma fração substancial dos nociceptores das fibras A parecem conduzir na faixa de velocidade de condução A β – reveja na [Parte – I](#). Desse modo, o disparo espontâneo das fibras A β pode muito bem ser a causa da neuralgia, bem como de alodínia e hiperalgesia secundárias. Esta questão permanece sem resposta, na atualidade.

Em resumo, múltiplas localizações são afetadas pelo ferimento nervoso. As anormalidades podem ocorrer em nociceptores feridos e não feridos, que inervam a região afetada. Esses efeitos incluem atividade espontânea, bem como alodínia e hiperalgesia. Entre os efeitos centrais, especificamente a sensibilização após o ferimento nervoso, podem ocorrer também, embora seus mecanismos não tenham sido considerados aqui.

Toxina Botulínica Tipo A

A *toxina botulínica tipo A* (BTXA) liga-se ao terminal do nervo pré-sináptico onde é incorporada na célula e, em seguida, interferindo com o encaixe da vesícula, leva à inibição da liberação de *acetilcolina* (ACh) e da contração muscular. Esse mecanismo torna a BTXA útil para o tratamento das doenças decorrentes da contração muscular excessiva, que são algumas vezes dolorosas. No entanto, a dissociação temporal entre o relaxamento muscular e a analgesia observada clinicamente sugeriu que o efeito analgésico da BTXA poderá ser independente do efeito de relaxamento muscular.

Em ratos, o uso da BTXA como agente analgésico foi pesquisado utilizando-se o modelo de ligação do nervo ciático para induzir a dor neuropática. Uma dose atóxica, injetada intraplantar e ipsilateralmente, no quinto ou no décimo segundo dia após a ligação do nervo ciático, foi capaz de reduzir significativamente a alodínia mecânica durante três semanas¹⁵⁵. Estes resultados apoiam fortemente a sugestão de que a BTXA tem efeito analgésico independente do seu efeito de relaxamento muscular.

Estudo duplo-cego controlado por placebo, para a utilização da BTXA no tratamento da dor neuropática foi efetuado em pacientes com dor pós-traumática/pós-operatória ou em neuralgia pós-herpética¹⁵⁶, ou outro grupo com neuropatia diabética dolorosa¹⁵⁷. Em todos os trabalhos, a BTXA reduziu significativamente a dor neuropática por período de até três meses.

Desmielinização

A dor neuropática – ou seja, neuralgia com sensibilização de hiperalgesia e de alodínia – são também associadas às neuropatias periféricas desmielinizantes em seres humanos, tais como na *doença de Charcot-Marie-Tooth* – amiotrofia fibular e na *síndrome de Guillain-Barré* – polirradiculoneurite aguda.

O ferimento traumático do nervo, tal como o que resulta da colocação de uma ligadura ao redor de um nervo também levará a desmielinização do nervo ferido. Conseqüentemente, é razoável se considerar que a desmielinização pode contribuir para o desenvolvimento da dor neuropática.

A possibilidade da desmielinização para o desenvolvimento de dor neuropática foi pesquisada usando o agente desmielinizante – *lisolecitina* (lisofosfatidilcolina) – aplicado aos nervos periféricos¹⁵⁸. Estes pesquisadores encontraram que a aplicação tópica de lisolecitina causa desmielinização focal, sem quaisquer indicações morfológicas ou imunológicas de perda axonal. Fisiologicamente, encontraram a ocorrência de baixa frequência e potenciais de ação espontâneos, sem alodínia ou hiperalgesia periférica significativas, mas com alodínia mecânica e hiperalgesia térmica centrais. Estes resultados sugerem que a desmielinização das fibras A aferentes induzem a neuralgia com alteração central.

Praticamente ao mesmo tempo em que a pesquisa com a lisolecitina, acima descrita, estava sendo realizada, outro grupo de pesquisadores estava investigando, independentemente o papel do *ácido lisofosfatídico* (LPA) na dor neuropática¹⁵⁹. Estes pesquisadores encontraram que a injeção intratecal de LPA induziu à alodínia comportamental e hiperalgesia por desmielinização na raiz dorsal semelhante aos resultados encontrado para animais após a ligadura nervo. Vale ainda lembrar que o espaço intratecal inclui a medula espinhal e o gânglio da raiz dorsal. Além disso, descobriram que os camundongos em que faltava um dos receptores do ácido lisofosfatídico – o LPA₁, não desenvolveram alodínia comportamental, hiperalgesia e desmielinização após o ferimento do nervo. Concluíram que a sinalização mediada pelo receptor LPA é crucial ao início da dor neuropática.

Para esclarecer a situação no que se refere à lisolecitina e ao LPA, o mesmo grupo de pesquisadores analisaram os efeitos da lisolecitina em camundongos nocautes para LPA₁¹⁶⁰. Descobriram que ao contrário dos camundongos normais, aqueles sem o receptor LPA₁ não apresentaram alodínia comportamental e hiperalgesia após a injeção intratecal de lisolecitina. Concluíram que a lisolecitina é convertida em LPA, que em seguida ativaria o receptor LPA₁ para iniciar a condição de dor neuropática. Esta pesquisa foi estendida pela injeção de LPA ao gânglio trigeminal de ratos¹⁶¹. A injeção de LPA em um gânglio trigeminal induziu a alodínia mecânica ipsilateral e contralateral do local da injeção, enquanto a hiperalgesia mecânica foi observada apenas ipsilateral do local da injeção.

O incentivo para estudar o papel do LPA na dor neuropática estava na conclusão anterior, encontrada pelo mesmo grupo de pesquisadores, onde a injeção intratecal de *toxina botulínica C3* (BTXC3), antes do ferimento neural, inibiu o desenvolvimento da hiperalgesia, em camundongos¹⁶².

A BTXC3 inibe a via *proteína quinase associada à Rho* (ROCK) por ribosilação do ADP da *família homólogo de pequena GTPase membro A* (RhoA), e o RhoA é ativada pela sinalização do LPA através da proteína G – G12/13 α . Além disso, mostraram que a indução da alodínia mecânica e hiperalgesia térmica pela injeção intratecal do LPA era inibida de maneira dose dependente da dose pela BTXC3 e também por Y-27632 – um inibidor reversível da ROCK. Um papel eventual para a via RhoA/Rho quinase em neurônios feridos foi indicado pela constatação de que mRNA da Rho neuronal e a proporção de neurônios do GRD de L5 que expressam RhoA aumenta após a *axotomia* distal¹⁶³.

Como mencionado acima, a BTXA também inibiu a neuralgia, além de ter atuado em seres humanos. A BTXA inibe a liberação de ACh de sinapses colinérgicas periféricas por clivagem proteolítica da proteína SNAP-25, que é essencial para a liberação do transmissor. No entanto, tem sido demonstrado que a BTXA pode também ser alvo de RhoB para degradação do proteasoma¹⁶⁴. RhoB, como RhoA, é ativado por sinalização do LPA através de GPCR.

Estas últimas conclusões apontam fortemente para a via de LPA → proteína G → ROCK como alvo terapêutico potencial para o tratamento de neuralgia.

Referências

1. Axelrod FB, Hilz MJ. **Inherited autonomic neuropathies**. Semin Neurol **2003**;23(4):381-90.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15088259>
2. Lawson SN. **Phenotype and function of somatic primary afferent nociceptive neurones with C-, Adelta- or Aalpha/beta-fibres**. Exp Physiol **2002**;87(2):239-44.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11856969>
3. Djouhri L, Lawson SN. **Abeta-fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals**. Brain Res Brain Res Rev **2004**;46(2):131-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15464202>
4. Bishop GH, Landau WM, Jones MH. **Evidence for a double peripheral pathway for pain**. Science **1958**;128(3326):712-4.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13580241>
5. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, et al. **The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway**. Nature **1997**;389(6653):816-24.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9349813>
6. Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. **Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor**. Science **2000**;288(5464):306-13.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10764638>
7. Park JJ, Lee J, Kim MA, et al. **Induction of total insensitivity to capsaicin and hypersensitivity to garlic extract in human by decreased expression of TRPV1**. Neurosci Lett **2007**;411(2):87-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17110039>
8. Trevisani M, Smart D, Gunthorpe MJ, et al. **Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1**. Nat Neurosci **2002**;5(6):546-51.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11992116>
9. Binshtok AM, Bean BP, Woolf CJ. **Inhibition of nociceptors by TRPV1-mediated entry of impermeant sodium channel blockers**. Nature **2007**;449(7162):607-10.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17914397>
10. Todaka H, Taniguchi J, Satoh J, et al. **Warm temperature-sensitive transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) plays an essential role in thermal hyperalgesia**. J Biol Chem **2004**;279(34):35133-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15187078>
11. Lee H, Iida T, Mizuno A, et al. **Altered thermal selection behavior in mice lacking transient receptor potential vanilloid 4**. J Neurosci **2005**;25(5):1304-10.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15689568>

12. Story GM, Peier AM, Reeve AJ, et al. **ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures.** *Cell* **2003**;112(6):819-29.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12654248>
13. Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, et al. **Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1.** *Nature* **2004**;427(6971):260-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14712238>
14. Nagata K, Duggan A, Kumar G, et al. **Nociceptor and hair cell transducer properties of TRPA1, a channel for pain and hearing.** *J Neurosci* **2005**;25(16):4052-61.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15843607>
15. Sawada Y, Hosokawa H, Hori A, et al. **Cold sensitivity of recombinant TRPA1 channels.** *Brain Res* **2007**;1160:39-46.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17588549>
16. Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, et al. **TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents.** *Cell* **2006**;124(6):1269-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16564016>
17. Kwan KY, Allchorne AJ, Vollrath MA, et al. **TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction.** *Neuron* **2006**;50(2):277-89.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16630838>
18. Abrahamsen B, Zhao J, Asante CO, et al. **The cell and molecular basis of mechanical, cold, and inflammatory pain.** *Science* **2008**; 321(5889):702-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18669863>
19. Karashima Y, Talavera K, Everaerts W, et al. **TRPA1 acts as a cold sensor *in vitro* and *in vivo*.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2009**;106(4):1273-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19144922>
20. Bautista DM, Siemens J, Glazer JM, et al. **The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold.** *Nature* **2007**;448(7150):204-8
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17538622>
21. Dhaka A, Murray AN, Mathur J, et al. **TRPM8 is required for cold sensation in mice.** *Neuron* **2007**;54(3):371-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17481391>
22. Colburn RW, Lubin ML, Stone DJ, et al. **Attenuated cold sensitivity in TRPM8 null mice.** *Neuron* **2007**;54(3):379-86.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17481392>
23. Schmelz M, Osiander G, Blunk J, et al. **Intracutaneous injections of platelets cause acute pain and protracted hyperalgesia.** *Neurosci Lett* **1997**;226(3):171-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9175594>

24. Maurer-Spurej E, Pittendreigh C, Solomons K. **The influence of selective serotonin reuptake inhibitors on human platelet serotonin.** *Thromb Haemost* **2004**;91(1):119-28.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14691577>
25. Tokunaga A, Saika M, Senba E. **5-HT_{2A} receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery.** *Pain* **1998**;76(3):349-55.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9718253>
26. Sasaki M, Obata H, Kawahara K, et al. **Peripheral 5-HT_{2A} receptor antagonism attenuates primary thermal hyperalgesia and secondary mechanical allodynia after thermal injury in rats.** *Pain* **2006**;122(1-2):130-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16527395>
27. Okamoto K, Imbe H, Morikawa Y, et al. **5-HT_{2A} receptor subtype in the peripheral branch of sensory fibers is involved in the potentiation of inflammatory pain in rats.** *Pain* **2002**;99(1-2):133-43.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12237191>
28. Wei H, Chen Y, Hong Y. **The contribution of peripheral 5-hydroxytryptamine 2A receptor to carrageenan-evoked hyperalgesia, inflammation and spinal Fos protein expression in the rat.** *Neuroscience* **2005**;132(4):1073-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15857711>
29. Todorovic SM, Scroggs RS, Anderson EG. **Cationic modulation of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in rat sensory neurons: the role of K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺.** *Brain Res* **1997**;765(2):291-300.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9313902>
30. Chemin J, Girard C, Duprat F, et al. **Mechanisms underlying excitatory effects of group I metabotropic glutamate receptors via inhibition of 2P domain K⁺ channels.** *EMBO J* **2003**;22(20):5403-11.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14532113>
31. Alloui A, Zimmermann K, Mamet J, et al. **TREK-1, a K⁺ channel involved in polymodal pain perception.** *EMBO J* **2006**;25(11):2368-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16675954>
32. Zeitz KP, Guy N, Malmberg AB, et al. **The 5-HT₃ subtype of serotonin receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors.** *J Neurosci* **2002**;22(3):1010-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11826129>
33. Manning DC, Raja SN, Meyer RA, et al. **Pain and hyperalgesia after intradermal injection of bradykinin in humans.** *Clin Pharmacol Ther* **1991**;50(6):721-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-1752117>
34. Kollarik M, Udem BJ. **Activation of bronchopulmonary vagal afferent nerves with bradykinin, acid and vanilloid receptor agonists in wild-type and TRPV1^{-/-} mice.** *J Physiol* **2004**;555(Pt1):115-23.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14634201>

35. Rong W, Hillsley K, Davis JB, et al. **Jejunal afferent nerve sensitivity in wild-type and TRPV1 knockout mice.** *J Physiol* **2004**;560(Pt 3):867-81.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15331673>
36. Chuang HH, Prescott ED, Kong H, et al. **Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition.** *Nature* **2001**;411(6840):957-62.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11418861>
37. Cesare P, McNaughton P. **A novel heat-activated current in nociceptive neurons and its sensitization by bradykinin.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **1996**;93(26):15435-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8986829>
38. Sugiura T, Tominaga M, Katsuya H, et al. **Bradykinin lowers the threshold temperature for heat activation of vanilloid receptor 1.** *J Neurophysiol* **2002**;88(1):544-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12091579>
39. Cesare P, Dekker LV, Sardini A, et al. **Specific involvement of PKC-epsilon in sensitization of the neuronal response to painful heat.** *Neuron* **1999**;23(3):617-24.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10433272>
40. Lukacs V, Thyagarajan B, Varnai P, et al. **Dual regulation of TRPV1 by phosphoinositides.** *J Neurosci* **2007**;27(26):7070-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17596456>
41. Shin J, Cho H, Hwang SW, et al. **Bradykinin-12-lipoxygenase-VR1 signaling pathway for inflammatory hyperalgesia.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**;99(15):10150-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12097645>
42. Hwang SW, Cho H, Kwak J, et al. **Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2000**;97(11):6155-60.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10823958>
43. Kassuya CA, Ferreira J, Claudino RF, et al. **Intraplantar PGE₂ causes nociceptive behaviour and mechanical allodynia: the role of prostanoid E receptors and protein kinases.** *Br J Pharmacol* **2007**; 150(6): 727-37.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17310141>
44. Moriyama T, Higashi T, Togashi K, et al. **Sensitization of TRPV1 by EP₁ and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins.** *Mol Pain* **2005**;1:3.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15813989>
45. Petho G, Derow A, Reeh PW. **Bradykinin-induced nociceptor sensitization to heat is mediated by cyclooxygenase products in isolated rat skin.** *Eur J Neurosci* **2001**;14(2):210-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11553274>

46. Southall MD, Vasko MR. **Prostaglandin receptor subtypes, EP₃C and EP₄, mediate the prostaglandin E₂-induced cAMP production and sensitization of sensory neurons.** J Biol Chem **2001**;276(19):16083-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11278900>
47. Rathee PK, Distler C, Obreja O, et al. **PKA/AKAP/VR-1 module: A common link of Gs-mediated signaling to thermal hyperalgesia.** J Neurosci **2002**;22(11):4740-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12040081>
48. Schnizler K, Shutov LP, Van Kanegan MJ, et al. **Protein kinase A anchoring via AKAP150 is essential for TRPV1 modulation by forskolin and prostaglandin E₂ in mouse sensory neurons.** J Neurosci **2008**;28(19):4904-17.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18463244>
49. Khasar SG, Lin YH, Martin A, et al. **A novel nociceptor signaling pathway revealed in protein kinase C epsilon mutant mice.** Neuron **1999**;24(1):253-60.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10677042>
50. Murata T, Ushikubi F, Matsuoka T, et al. **Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor.** Nature **1997**;388(6643):678-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9262402>
51. Ferreira J, da Silva GL, Calixto JB. **Contribution of vanilloid receptors to the overt nociception induced by B₂ kinin receptor activation in mice.** Br J Pharmacol **2004**;141(5):787-94.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14967737>
52. Bautista DM, Movahed P, Hinman A, et al. **Pungent products from garlic activate the sensory ion channel TRPA1.** Proc Natl Acad Sci U S A **2005**;102(34):12248-52.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16103371>
53. Wang S, Dai Y, Fukuoka T, et al. **Phospholipase C and protein kinase A mediate bradykinin sensitization of TRPA1: a molecular mechanism of inflammatory pain.** Brain **2008**;131(Pt5):1241-51.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18356188>
54. Zurborg S, Yurgionas B, Jira JA, et al. **Direct activation of the ion channel TRPA1 by Ca²⁺.** Nat Neurosci **2007**;10(3):277-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17259981>
55. Hamilton SG, Warburton J, Bhattacharjee A, et al. **ATP in human skin elicits a dose-related pain response which is potentiated under conditions of hyperalgesia.** Brain **2000**;123(Pt6):1238-46.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10825361>
56. Cockayne DA, Hamilton SG, Zhu QM, et al. **Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X₃-deficient mice.** Nature **2000**;407(6807):1011-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11069181>

57. Cockayne DA, Dunn PM, Zhong Y, et al. **P2X₂ knockout mice and P2X₂/P2X₃ double knockout mice reveal a role for the P2X₂ receptor subunit in mediating multiple sensory effects of ATP.** J Physiol **2005**;567(Pt 2):621-39.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15961431>
58. Souslova V, Cesare P, Ding Y, et al. **Warm-coding deficits and aberrant inflammatory pain in mice lacking P2X₃ receptors.** Nature **2000**;407(6807):1015-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11069182>
59. Jarvis MF, Burgard EC, McGaraughty S, et al. **A-317491, a novel potent and selective non-nucleotide antagonist of P2X₃ and P2X_{2/3} receptors, reduces chronic inflammatory and neuropathic pain in the rat.** Proc Natl Acad Sci U S A **2002**;99(26):17179-84.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12482951>
60. McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, et al. **TRPA1 mediates formalin-induced pain.** Proc Natl Acad Sci U S A **2007**;104(33):13525-30.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17686976>
61. Moriyama T, Iida T, Kobayashi K, et al. **Possible involvement of P2Y₂ metabotropic receptors in ATP-induced transient receptor potential vanilloid receptor 1-mediated thermal hypersensitivity.** J Neurosci **2003**;23(14):6058-62.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12853424>
62. Malin SA, Davis BM, Koerber HR, et al. **Thermal nociception and TRPV1 function are attenuated in mice lacking the nucleotide receptor P2Y₂.** Pain **2008**;138(3):484-96.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18343036>
63. Schmelz M, Petersen LJ. **Neurogenic inflammation in human and rodent skin.** News Physiol Sci **2001**;16:33-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11390944>
64. Richardson JD, Vasko MR. **Cellular mechanisms of neurogenic inflammation.** J Pharmacol Exp Ther **2002**;302(3):839-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12183638>
65. Mogil JS, Miermeister F, Seifert F, et al. **Variable sensitivity to noxious heat is mediated by differential expression of the CGRP gene.** Proc Natl Acad Sci U S A **2005**;102(36):12938-43.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16118273>
66. Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH, et al. **Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism.** Nat Med **2000**;6(2):151-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10655102>
67. Amadesi S, Nie J, Vergnolle N, et al. **Protease-activated receptor 2 sensitizes the capsaicin receptor transient receptor potential vanilloid receptor 1 to induce hyperalgesia.** J Neurosci **2004**;24(18):4300-12.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15128844>

68. Kawao N, Shimada C, Itoh H, et al. **Capsazepine inhibits thermal hyperalgesia but not nociception triggered by protease-activated receptor-2 in rats.** *Jpn J Pharmacol* **2002**;89(2):184-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12120762>
69. Amadesi S, Cottrell GS, Divino L, et al. **Protease-activated receptor 2 sensitizes TRPV1 by protein kinase C epsilon- and A-dependent mechanisms in rats and mice.** *J Physiol* **2006**;575(Pt2):555-71.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16793902>
70. Kayssi A, Amadesi S, Bautista F, et al. **Mechanisms of protease-activated receptor 2-evoked hyperexcitability of nociceptive neurons innervating the mouse colon.** *J Physiol* **2007**;580(Pt.3):977-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17289784>
71. Vergnolle N, Bunnett NW, Sharkey KA, et al. **Proteinase-activated receptor-2 and hyperalgesia: A novel pain pathway.** *Nat Med* **2001**;7(7):821-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11433347>
72. Kawabata A, Kawao N, Kuroda R, et al. **Peripheral PAR-2 triggers thermal hyperalgesia and nociceptive responses in rats.** *Neuroreport* **2001**;12(4):715-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11277570>
73. Watanabe H, Davis JB, Smart D, et al. **Activation of TRPV4 channels (hVRL-2/mTRP12) by phorbol derivatives.** *J Biol Chem* **2002**;277(16):13569-77.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11827975>
74. Grant AD, Cottrell GS, Amadesi S, et al. **Protease-activated receptor 2 sensitizes the transient receptor potential vanilloid 4 ion channel to cause mechanical hyperalgesia in mice.** *J Physiol* **2007**;578(Pt 3):715-33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17124270>
75. Asfaha S, Brussee V, Chapman K, et al. **Proteinase-activated receptor-1 agonists attenuate nociception in response to noxious stimuli.** *Br J Pharmacol* **2002**;135(5):1101-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11877315>
76. Asfaha S, Cenac N, Houle S, et al. **Protease-activated receptor-4: a novel mechanism of inflammatory pain modulation.** *Br J Pharmacol* **2007**;150(2):176-85.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17179954>
77. Issberner U, Reeh PW, Steen KH. **Pain due to tissue acidosis: a mechanism for inflammatory and ischemic myalgia?** *Neurosci Lett* **1996**;208(3):191-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8733302>
78. Treuhaft PS, MCCarty DJ. **Synovial fluid pH, lactate, oxygen and carbon dioxide partial pressure in various joint diseases.** *Arthritis Rheum* **1971**;14(4):475-84.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-5564921>

79. Mogil JS, Breese NM, Witty MF, et al. **Transgenic expression of a dominant-negative ASIC3 subunit leads to increased sensitivity to mechanical and inflammatory stimuli.** *J Neurosci* **2005**;25(43):9893-901.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16251436>
80. Baumann TK, Burchiel KJ, Ingram SL, et al. **Responses of adult human dorsal root ganglion neurons in culture to capsaicin and low pH.** *Pain* **1996**;65(1):31-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8826487>
81. Baumann TK, Chaudhary P, Martenson ME. **Background potassium channel block and TRPV1 activation contribute to proton depolarization of sensory neurons from humans with neuropathic pain.** *Eur J Neurosci* **2004**;19(5):1343-51.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15016092>
82. Ludwig MG, Vanek M, Guerini D, et al. **Proton-sensing G-protein-coupled receptors.** *Nature* **2003**;425(6953):93-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12955148>
83. Huang CW, Tzeng JN, Chen YJ, et al. **Nociceptors of dorsal root ganglion express proton-sensing G-protein-coupled receptors.** *Mol Cell Neurosci* **2007**;36(2):195-210.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17720533>
84. Cohen A, Sagron R, Somech E, et al. **Pain-associated signals, acidosis and lysophosphatidic acid, modulate the neuronal K(2P)2.1 channel.** *Mol Cell Neurosci* **2009**;40(3):382-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19130888>
85. Renback K, Inoue M, Ueda H. **Lysophosphatidic acid-induced, pertussis toxin-sensitive nociception through a substance P release from peripheral nerve endings in mice.** *Neurosci Lett* **1999**;270(1):59-61.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10454146>
86. Seung Lee W, Hong MP, Hoon Kim T, et al. **Effects of lysophosphatidic acid on sodium currents in rat dorsal root ganglion neurons.** *Brain Res* **2005**;1035(1):100-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15713282>
87. McMahon SB, Bennett DL, Priestley JV, et al. **The biological effects of endogenous nerve growth factor on adult sensory neurons revealed by a trkA-IgG fusion molecule.** *Nat Med* **1995**;1(8):774-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7585179>
88. Bergmann I, Reiter R, Toyka KV, et al. **Nerve growth factor evokes hyperalgesia in mice lacking the low-affinity neurotrophin receptor p75.** *Neurosci Lett* **1998**;255(2):87-90.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9835221>
89. Lewin GR, Ritter AM, Mendell LM. **Nerve growth factor-induced hyperalgesia in the neonatal and adult rat.** *J Neurosci* **1993**;13(5):2136-48.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8478693>

90. Shu X, Mendell LM. **Nerve growth factor acutely sensitizes the response of adult rat sensory neurons to capsaicin.** *Neurosci Lett* **1999**;274(3):159-62.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10548414>
91. Shu X, Mendell LM. **Acute sensitization by NGF of the response of small-diameter sensory neurons to capsaicin.** *J Neurophysiol* **2001**;86(6):2931-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11731549>
92. Akopian AN, Souslova V, England S, et al. **The tetrodotoxin-resistant sodium channel SNS has a specialized function in pain pathways.** *Nat Neurosci* **1999**;2(6):541-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10448219>
93. Brock JA, McLachlan EM, Belmonte C. **Tetrodotoxin-resistant impulses in single nociceptor nerve terminals in guinea-pig cornea.** *J Physiol* **1998**;512(Pt1):211-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9729630>
94. Matthews EA, Wood JN, Dickenson AH. **Na(v) 1.8-null mice show stimulus-dependent deficits in spinal neuronal activity.** *Mol Pain* **2006**;2:5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16478543>
95. Zimmermann K, Leffler A, Babes A., et al. **Sensory neuron sodium channel Na_v1.8 is essential for pain at low temperatures.** *Nature* **2007**;447(7146):855-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17568746>
96. Maingret F, Lauritzen I, Patel AJ, et al. **TREK-1 is a heat-activated background K(+) channel.** *EMBO J* **2000**;19(11):2483-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10835347>
97. Reid G, Flonta M. **Cold transduction by inhibition of a background potassium conductance in rat primary sensory neurones.** *Neurosci Lett* **2001**;297(3):171-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11137755>
98. Amaya F, Decosterd I, Samad TA, et al. **Diversity of expression of the sensory neuron-specific TTX-resistant voltage-gated sodium ion channels SNS and SNS2.** *Mol Cell Neurosci* **2000**;15(4):331-42.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10845770>
99. Priest BT, Murphy BA, Lindia JA, et al. **Contribution of the tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel Na_v1.9 to sensory transmission and nociceptive behavior.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**;102(26):9382-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15964986>
100. Amaya F, Wang H, Costigan M, et al. **The voltage-gated sodium channel Na(v)1.9 is an effector of peripheral inflammatory pain hypersensitivity.** *J Neurosci* **2006**;26(50):12852-60.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17167076>

101. Baker MD, Chandra SY, Ding Y, et al. **GTP-induced tetrodotoxin-resistant Na⁺ current regulates excitability in mouse and rat small diameter sensory neurones.** J Physiol **2003**;548(Pt2): 373-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12651922>
102. Ostman JA, Nassar MA, Wood JN, et al. **GTP up-regulated persistent Na⁺ current and enhanced nociceptor excitability require Na_v1.9.** J Physiol **2008**;586(4):1077-87.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18096591>
103. Cox JJ, Reimann F, Nicholas AK, et al. **An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain.** Nature **2006**;444(7121):894-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17167479>
104. Nassar MA; Stirling LC; Forlani G, et al. **Nociceptor-specific gene deletion reveals a major role for Na_v1.7 (PN1) in acute and inflammatory pain.** Proc Natl Acad Sci U S A **2004**;101(34):12706-11.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15314237>
105. Yang Y, Wang Y, Li S, et al. **Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia.** J Med Genet **2004**;41(3):171-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14985375>
106. Cummins TR, Dib-Hajj SD, Waxman SG. **Electrophysiological properties of mutant Na_v1.7 sodium channels in a painful inherited neuropathy.** J Neurosci **2004**;24(38):8232-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15385606>
107. Devor M. **Neuropathic pain: what do we do with all these theories?** Acta Anaesthesiol Scand **2001**;45(9):1121-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11683663>
108. Black JA, Cummins TR, Plumpton C, et al. **Upregulation of a silent sodium channel after peripheral, but not central, nerve injury in DRG neurons.** J Neurophysiol **1999**;82(5):2776-85.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10561444>
109. Nassar MA, Baker MD, Levato A, et al. **Nerve injury induces robust allodynia and ectopic discharges in Na_v1.3 null mutant mice.** Mol Pain **2006**;2:33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17052333>
110. Nicol GD, Vasko MR, Evans AR. **Prostaglandins suppress an outward potassium current in embryonic rat sensory neurons.** J Neurophysiol **1997**;77(1):167-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9120557>
111. Kang D, Choe C, Kim D. **Thermosensitivity of the two-pore domain K⁺ channels TREK-2 and TRAAK.** J Physiol **2005**;564(Pt1):103-16.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15677687>

112. Yamamoto Y, Hatakeyama T, Taniguchi K. **Immunohistochemical colocalization of TREK-1, TREK-2 and TRAAK with TRP channels in the trigeminal ganglion cells.** *Neurosci Lett* **2009**;454(2):129-33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19429069>
113. Honore E. **The neuronal background K_{2P} channels: focus on TREK1.** *Nat Rev Neurosci* **2007**;8(4):251-61.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17375039>
114. Noel J, Zimmermann K, Busserolles J, et al. **The mechano-activated K⁺ channels TRAAK and TREK-1 control both warm and cold perception.** *EMBO J* **2009**;28(9):1308-18.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19279663>
115. Loh HH, Liu HC, Cavalli A, et al. **mu-Opioid receptor knockout in mice: effects on ligand-induced analgesia and morphine lethality.** *Brain Res Mol Brain Res* **1998**;54(2):321-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9555078>
116. Levine JD, Taiwo YO. **Involvement of the mu-opiate receptor in peripheral analgesia.** *Neuroscience* **1989**;32(3):571-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2557556>
117. Wenk HN, Brederson JD, Honda CN. **Morphine directly inhibits nociceptors in inflamed skin.** *J Neurophysiol* **2006**;95(4):2083-97.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16339007>
118. Singh IS, Chatterjee TK, Ghosh JJ. **Modification of morphine antinociceptive response by blood glucose status: possible involvement of cellular energetics.** *Eur J Pharmacol* **1983**;90(4):437-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-6350025>
119. Ocana M, Del Pozo E, Barrios M, et al. **An ATP-dependent potassium channel blocker antagonizes morphine analgesia.** *Eur J Pharmacol* **1990**;186(2-3):377-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2127024>
120. Chi XX, Jiang X, Nicol GD. **ATP-sensitive potassium currents reduce the PGE₂-mediated enhancement of excitability in adult rat sensory neurons.** *Brain Res* **2007**;1145:28-40.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17320840>
121. Granados-Soto V, Rufino MO, Gomes Lopes LD, et al. **Evidence for the involvement of the nitric oxide-cGMP pathway in the antinociception of morphine in the formalin test.** *Eur J Pharmacol* **1997**;340(2-3):177-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9537812>
122. Sachs D, Cunha FQ, Ferreira SH. **Peripheral analgesic blockade of hypernociception: activation of arginine/NO/cGMP/protein kinase G/ATP-sensitive K⁺ channel pathway.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**;101(10):3680-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14990791>

123. Besse D, Lombard MC, Zajac JM, et al. **Pre- and postsynaptic distribution of mu, delta and kappa opioid receptors in the superficial layers of the cervical dorsal horn of the rat spinal cord.** Brain Res **1990**;521(1-2):15-22.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2169958>
124. Arvidsson U, Riedl M, Chakrabarti S, et al. **Distribution and targeting of a mu-opioid receptor (MOR1) in brain and spinal cord.** J Neurosci **1995**;15(5Pt1):3328-41.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7751913>
125. Go VL, Yaksh TL. **Release of substance P from the cat spinal cord.** J Physiol **1987**;391:141-67.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2451003>
126. Kohno T, Kumamoto E, Higashi H, et al. **Actions of opioids on excitatory and inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord.** J Physiol **1999**;518(Pt3):803-13.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10420016>
127. Bourinet E, Soong TW, Stea A, et al. **Determinants of the G protein-dependent opioid modulation of neuronal calcium channels.** Proc Natl Acad Sci U S A **1996**;93(4):1486-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8643659>
128. Rusin KI, Moises HC. **mu-Opioid receptor activation reduces multiple components of high-threshold calcium current in rat sensory neurons.** J Neurosci **1995**;15(6):4315-27.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7540671>
129. Dolphin AC. **The G.L. Brown Prize Lecture. Voltage-dependent calcium channels and their modulation by neurotransmitters and G proteins.** Exp Physiol **1995**;80(1):1-36.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7734129>
130. Mayer ML, Westbrook GL. **A voltage-clamp analysis of inward (anomalous) rectification in mouse spinal sensory ganglion neurones.** J Physiol **1983**;340:19-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-6887047>
131. Jiang YQ, Sun Q, Tu HY, et al. **Characteristics of HCN channels and their participation in neuropathic pain.** Neurochem Res **2008**;33(10):1979-89.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18461446>
132. Robinson RB, Siegelbaum SA. **Hyperpolarization-activated cation currents: from molecules to physiological function.** Annu Rev Physiol **2003**;65:453-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12471170>
133. Momin A, Cadiou H, Mason A, et al. **Role of the hyperpolarization-activated current I_h in somatosensory neurons.** J Physiol **2008**;586(Pt24):5911-29.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18936078>
134. Costigan M, Befort K, Karchewski L, et al. **Replicate high-density rat genome oligonucleotide microarrays reveal hundreds of regulated genes in the dorsal root ganglion after peripheral nerve injury.** BMC Neurosci **2002**;3:16.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12401135>

135. Xiao HS, Huang QH, Zhang FX, et al. **Identification of gene expression profile of dorsal root ganglion in the rat peripheral axotomy model of neuropathic pain.** Proc Natl Acad Sci U S A **2002**;99(12):8360-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12060780>
136. Abdulla FA, Smith PA. **Axotomy- and autotomy-induced changes in Ca²⁺ and K⁺ channel currents of rat dorsal root ganglion neurons.** J Neurophysiol **2001**;85(2):644-58.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11160500>
137. Shim B, Kim DW, Kim BH, et al. **Mechanical and heat sensitization of cutaneous nociceptors in rats with experimental peripheral neuropathy.** Neuroscience **2005**;132(1):193-201.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15780478>
138. Gee NS, Brown JP, Dissanayake VU, et al. **The novel anticonvulsant drug, gabapentin (Neurontin), binds to the alpha2delta subunit of a calcium channel.** J Biol Chem **1996**;271(10):5768-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8621444>
139. Luo ZD, Chaplan SR, Higuera ES, et al. **Upregulation of dorsal root ganglion (alpha)2(delta) calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats.** J Neurosci **2001**;21(6):1868-75.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11245671>
140. Field MJ, Cox PJ, Stott E, et al. **Identification of the alpha2-delta-1 subunit of voltage-dependent calcium channels as a molecular target for pain mediating the analgesic actions of pregabalin.** Proc Natl Acad Sci U S A **2006**;103(46):17537-42.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17088553>
141. Luo ZD, Calcutt NA, Higuera ES. **Injury type-specific calcium channel alpha 2 delta-1 subunit up-regulation in rat neuropathic pain models correlates with antiallodynic effects of gabapentin.** J Pharmacol Exp Ther **2002**;303(3):1199-205.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12438544>
142. Gardell LR; Wang R; Ehrenfels C, et al. **Multiple actions of systemic artemin in experimental neuropathy.** Nat Med **2003**;9(11):1383-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14528299>
143. Bennett DL, Boucher TJ, Michael GJ, et al. **Artemin has potent neurotrophic actions on injured C-fibres.** J Peripher Nerv Syst **2006**;11(4):330-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17117942>
144. Agarwal N, Pacher P, Tegeder I, et al. **Cannabinoids mediate analgesia largely via peripheral type 1 cannabinoid receptors in nociceptors.** Nat Neurosci **2007**;10(7):870-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17558404>
145. Bennett GJ, Xie YK. **A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man.** Pain **1988**;33(1):87-107.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2837713>

146. Shir Y, Seltzer Z. **A-fibers mediate mechanical hyperesthesia and allodynia and C-fibers mediate thermal hyperalgesia in a new model of causalgiform pain disorders in rats.** *Neurosci Lett* **1990**;115(1):62-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2216058>
147. Kajander KC, Bennett GJ. **Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A beta and A delta primary afferent neurons.** *J Neurophysiol* **1992**;68(3):734-44.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-1331353>
148. Tal M, Eliav E. **Abnormal discharge originates at the site of nerve injury in experimental constriction neuropathy (CCI) in the rat.** *Pain* **1996**;64(3):511-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8783316>
149. Chaplan SR, Guo HQ, Lee DH, et al. **Neuronal hyperpolarization-activated pacemaker channels drive neuropathic pain.** *J Neurosci* **2003**;23(4):1169-78.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12598605>
150. Jiang YQ, Xing GG, Wang SL, et al. **Axonal accumulation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channels contributes to mechanical allodynia after peripheral nerve injury in rat.** *Pain* **2008**;137(3):495-506.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18179873>
151. Klede M, Handwerker HO, Schmelz M. **Central origin of secondary mechanical hyperalgesia.** *J Neurophysiol* **2003**;90(1):353-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12843313>
152. Sheth RN, Dorsi MJ, Li Y, et al. **Mechanical hyperalgesia after an L5 ventral rhizotomy or an L5 ganglionectomy in the rat.** *Pain* **2002**;96(1-2):63-72.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11932062>
153. Choi Y, Yoon YW, Na HS, et al. **Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain.** *Pain* **1994**;59(3): 369-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7708411>
154. Djouhri L, Koutsikou S, Fang X, et al. **Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors.** *J Neurosci* **2006**;26(4):1281-92.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16436616>
155. Luvisetto S, Marinelli S, Cobianchi S, et al. **Anti-allodynic efficacy of botulinum neurotoxin A in a model of neuropathic pain.** *Neuroscience* **2007**;145(1):1-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17218063>
156. Ranoux D, Attal N, Morain F, et al. **Botulinum toxin type A induces direct analgesic effects in chronic neuropathic pain.** *Ann Neurol* **2008**;64(3):274-83.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18546285>

157. Yuan RY, Sheu JJ, Yu JM, et al. **Botulinum toxin for diabetic neuropathic pain: a randomized double-blind crossover trial.** *Neurology* **2009**;72(17):1473-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19246421>
158. Wallace VC, Cottrell DF, Brophy PJ, et al. **Focal lysolecithin-induced demyelination of peripheral afferents results in neuropathic pain behavior that is attenuated by cannabinoids.** *J Neurosci* **2003**;23(8):3221-33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12716929>
159. Inoue M, Rashid MH, Fujita R, et al. **Initiation of neuropathic pain requires lysophosphatidic acid receptor signaling.** *Nat Med* **2004**;10(7):712-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15195086>
160. Inoue M, Xie W, Matsushita Y, et al. **Lysophosphatidylcholine induces neuropathic pain through an action of autotaxin to generate lysophosphatidic acid.** *Neuroscience* **2008**;152(2):296-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18280050>
161. Ahn DK, Lee SY, Han SR, et al. **Intratrigeminal ganglionic injection of LPA causes neuropathic pain-like behavior and demyelination in rats.** *Pain* **2009**;146(1-2):114-20.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19665300>
162. Ye X, Inoue M, Ueda H. **Botulinum toxin C3 inhibits hyperalgesia in mice with partial sciatic nerve injury.** *Jpn J Pharmacol* **2000**;83(2):161-3.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10928331>
163. Cheng C, Webber CA, Wang J, et al. **Activated RhoA and peripheral axon regeneration.** *Exp Neurol* **2008**;212(2):358-69.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18554585>
164. Ishida H, Zhang X, Erickson K, et al. **Botulinum toxin type A targets RhoB to inhibit lysophosphatidic acid-stimulated actin reorganization and acetylcholine release in nerve growth factor-treated PC12 cells.** *J Pharmacol Exp Ther* **2004**;310(3):881-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15140914>

NOCICEPTORES

As células que sentem dor

Alan Fein

Compreender o processo da sensação de dor torna-se uma estratégia de terapêutica clínica, assim como para entendimento do mecanismo de ação dos analgésicos e para os novos medicamentos analgésicos atualmente em desenvolvimento.

A presente tradução, em formato eletrônico e de livre acesso, apresenta uma investigação experimental sobre os receptores sensoriais especializados – os nociceptores – que transmitem as sensações de dor ao sistema nervoso central. Também foi adequada à nomenclatura oficial internacional.

A tradução contém uma revisão que vai dos estímulos nocivos, ao processo inflamatório à dor crônica, ou seja, os nociceptores aferentes primários, a transdução sensorial, a descoberta dos receptores de potencial transitório, os mediadores químicos considerados importantes para a atividade do nociceptor, os canais de íons controlados por voltagem e a complexidade da dor crônica.

O texto se destina principalmente aos interessados em analgesia, como os alunos de iniciação científica e pós-graduação, bem como aos/as profissionais das áreas da saúde, biologia e farmacologia.

Dor On Line - DOL

<http://www.dol.inf.br>